

LATVIJAS UNIVERSITĀTE  
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE  
MIKROBIOLOĢIJAS UN BIOTEHNOLOĢIJAS KATEDRA

*PHLEBIOPSIS GIGANTEA* ATTĪSTĪBA UN ANTAGONISMS  
PRET *HETEROBASIDION* SPP. PARASTĀS EGLES UN PRIEDES

KOKSNĒ

Maģistra darbs

Autors: Elīna Anna Brauna, stud. apl. Nr. eb16078

Darba vadītāji: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

Dr. biol. Vizma Nikolajeva

Konsultants: Mg.biol. Kristīne Kenigvalde

Recenzents: Dr. biol. Olga Mutere

RĪGA 2018

## KOPSAVILKUMS

Pētījuma mērķis bija analizēt celmu apstrādes kvalitāti un *P. gigantea* attīstību egļu celmos, un novērtēt *P. gigantea* suspensijas koncentrācijas ietekmi uz sēnes attīstību skuju koku koksnē.

Apstrādes kvalitātei ar *P. gigantea* ir noteicoša loma egļu celmu aizsardzībā. Eksperimentā novērtēja celmu virsmas pārklājumu ar preparātu 'Rotstop' un *P. gigantea* attīstību atkarībā no apstrādē izmantoto caurumiņu diametra zāģa sliedē. Celmu apstrāde veikta izmantojot četras zāģa sliedes ar izurbtiem atšķirīga izmēra caurumiņiem, un standarta zāģa sliedi no ražotāja. Pēc gada no celmiem ievākti un analizēti paraugi. Urbumu diametrs būtiski neietekmēja *P. gigantea* aizņemto laukumu celmos. *P. gigantea* attīstība koksnē bija ļoti vāja. Ar *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars parauglaukumos palielinājās pieaugot celmu diametram.

Ja celmu apstrādē ar *P. gigantea* tiek nodrošināti optimāli apstākļi, galvenokārt pietiekams celma virsmas pārklājums, tad ir iespējams samazināt apstrādes izmaksas, samazinot izmantojamā preparāta koncentrāciju. Lai novērtētu, kā samazināta *P. gigantea* koncentrācija ietekmē preparāta efektivitāti un sēnes attīstību koksnē, tika veikts eksperiments, kurā ar rekomendētās koncentrācijas suspensiju ( $5000 \text{ sporas mL}^{-1}$ ) un samazinātas koncentrācijas sporu suspensijām ( $2500$  un  $1250 \text{ sporas mL}^{-1}$ ) apstrādāti egles un priedes koksnes blūķīši. Apstrādi veica ar Latvijas izcelsmes *P. gigantea* izolātiem PG 323 un PG 286. Egles koksnē divas reizes mazāka sporu koncentrācija būtiski nemainīja preparāta efektivitāti, taču izmantojot četras reizes zemāku koncentrāciju, efektivitātes samazinājums bija būtisks. Priedes koksnē preparātu efektivitāte būtiski nesamazinājās nevienā no apstrādes variantiem. Labāku efektivitāti egles koksnē uzrādīja PG 323 izolāts.

**Atslēgas vārdi:** *Phlebiopsis gigantea*, *Heterobasidion* spp., apstrādes kvalitāte, sporu suspensiju koncentrācija, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*.

## SUMMARY

The aim of this research was to analyse spruce stump surface coverage with 'Rotstop' preparation and to examine impact of different concentration of *P. gigantea* preparations on development of fungi in conifer wood.

Stump surface coverage is important to spruce stump treatment with *P. gigantea*. We investigated stump surface coverage with preparation and *P. gigantea* development depending on different diameter of holes in harvester guide bars. Stump treatment was made by four guide bars with different diameter holes drilled in it. Holes in the fifth guide bar were made by standard manufacturer. After a year samples were collected and analysed. There were no significant differences in area occupied by *P. gigantea* between treatments. *P. gigantea* development in spruce wood was low. Frequency of *P. gigantea* colonized stumps increased with increasing stump diameter.

Treatments with manufacturer's recommended *P. gigantea* spore suspension concentration (5000 spores in mL<sup>-1</sup>) and reduced concentration (2500 and 1250 spores in mL<sup>-1</sup>) was applied in spruce and pine billets to evaluate reduced concentration effect on *P. gigantea* development and efficiency against *Heterobasidion* spp. Treatments in this study were carried out using local isolates of *P. gigantea* PG 323 and PG 286. In spruce wood treatments with twice reduced spore concentration were no significantly different from recommended concentration. Treatment with 1250 spores in mL<sup>-1</sup> failed to control infection. In pine wood there was no significant decrease in efficiency in any of the treatments. In spruce wood isolate PG 323 was more effective .

**Keywords:** *Phlebiopsis gigantea*, *Heterobasidion* spp., treatment quality, spore concentration, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*.

## SATURS

IEVADS .....	
1. LITERATŪRAS APSKATS .....	7
1.1. Lielā pergamentsēne <i>Phlebiopsis gigantea</i> .....	7
1.1.1. <i>P. gigantea</i> izplatība .....	7
1.1.2. <i>P. gigantea</i> bioloģija un sēnes makroskopiskās un mikroskopiskās pazīmes .....	7
1.2. Sakņu piepe <i>Heterobasidion</i> spp. ....	9
1.2.1. <i>Heterobasidion</i> spp. sastopamība un ekonomiskie zaudējumi .....	9
1.2.2. <i>Heterobasidion</i> spp. bioloģija .....	11
1.2.3. <i>Heterobasidion</i> spp. ierobežošanas metodes .....	12
1.2.4. <i>Heterobasidion</i> spp. bioloģiskā ierobežošana .....	13
1.3. Bioloģiskais preparāts 'Rotstop' .....	14
1.3.1. Preparāta 'Rotstop' lietošana .....	14
1.3.2. Preparāta 'Rotstop' darbības mehānisms .....	15
1.3.3. Preparāta 'Rotstop' ietekme uz vidi .....	16
1.3.4. Koksnes īpašību ietekme uz <i>P. gigantea</i> un <i>Heterobasidion</i> spp. attīstību .....	17
1.4. Celmu apstrādes kvalitāte .....	17
1.4.1. Celmu virsmas apstrādes laukums .....	17
1.4.2. <i>P. gigantea</i> sporu suspensiju koncentrācija .....	18
2. MATERIĀLI UN METODES .....	19
2.1. <i>P. gigantea</i> attīstības novērtējums ar 'Rotstop' apstrādātos egļu celmos .....	19
2.2. Dažādas koncentrācijas <i>P. gigantea</i> suspensiju efektivitātes novērtējums pret <i>Heterobasidion</i> spp. bazīdijsporu infekciju .....	21
2.2.1. <i>P. gigantea</i> preparātu sagatavošana .....	21
2.2.2. Eksperimenta iekārtošana un darbu izpildes secība .....	21
2.3. Datu matemātiskā analīze .....	22
3. REZULTĀTI .....	24
3.1. Celmu virsmas pārklājums ar 'Rotstop' un <i>P. gigantea</i> attīstība .....	24
3.2. Dažādas koncentrācijas <i>P. gigantea</i> preparātu efektivitāte .....	27
3.2.1. <i>P. gigantea</i> izolātu un <i>Heterobasidion</i> spp. attīstība priedes un egles koksne .....	27
3.2.2. <i>P. gigantea</i> preparātu efektivitāte priežu un egļu celmos .....	29
4. DISKUSIJA .....	32
4.1. <i>P. gigantea</i> attīstība ar 'Rotstop' apstrādātos egļu celmos .....	32
4.2. Dažādas koncentrācijas <i>P. gigantea</i> preparātu efektivitāte .....	33
4.2.1. <i>P. gigantea</i> sporu suspensiju efektivitāte egles koksne .....	34
4.2.2. <i>P. gigantea</i> sporu suspensiju efektivitāte priedes koksne .....	35
4.2.3. Vietējo izolātu efektivitāte pret <i>Heterobasidion</i> spp. ....	35
SECINĀJUMI .....	38
PATEICĪBAS .....	39
LITERATŪRAS SARAKSTS .....	40

## IEVADS

Sakņu piepe *Heterobasidion* spp. ir izplatīts skuju koku patogēns, kas izraisa ievērojamus ekonomiskos zaudējumus visā Ziemeļu puslodē (Thor, 2005). Latvijā galvenokārt tiek skartas egļu audzes, kur zaudējumi vidēji sasniedz 1070 eiro uz hektāru (Gaitnieks, 2007). Sakņu piepes ierobežošanā galvenokārt izmanto saprotrofu sēni antagonistu – lielo pergamentsēni *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich. Preparāts ‘Rotstop’ ir Latvijā reģistrēts mikrobioloģiskais augu aizsardzības līdzeklis, kura sastāvā ir *P. gigantea* sporas.

Preparāta ‘Rotstop’ efektivitāti egles koksnē nosaka apstrādes kvalitāte (Brauners *et al.*, 2014). Mehāniskā celmu apstrāde ar preparātu nespēj nodrošināt tik pilnvērtīgu celmu virsmas pārklājumu kā manuālā apstrāde, tādēļ samazinās efektivitāte pret *Heterobasidion* spp. (Pratt, 2001). *P. gigantea* preparātu efektivitāti iespējams var uzlabot paaugstinot preparāta izsmidzināšanas spiedienu, samazinot harvestera zāģa sliedes caurumiņu diametru un skaitu, un mainot to izvietojumu (Pettersson, 2013). Nav pieejamu publikāciju par harvestera zāģa sliedes caurumiņu diametra ietekmi uz celmu apstrādes kvalitāti.

Preparātu efektivitāti ietekmē *P. gigantea* izolāta īpašības (augšanas ātrums koksnē un sporu veidošana), preparāta suspensijas sporu koncentrācija un dzīvotspējīgo sporu daudzums darba šķīdumā (Korhonen, 2003). *P. gigantea* ir primārā priedes koksnē kolonizētāja, un preparātu efektivitāte priedes koksnē bieži sasniedz 100 % (Webber, Thorpe, 2003). Celmu apstrāde ar samazinātas koncentrācijas sporu suspensiju ļautu ekonomiski izdevīgāk veikt mežizstrādi, ar noteikumu, ka preparāta efektivitāte būtiski nesamazinātos.

*Heterobasidion* spp. ir primārā egles koksnē kolonizētāja un *P. gigantea* attīstība egles koksnē ir sliktāka nekā priedes koksnē (Korhonen, 2003). Joprojām tiek meklēti *P. gigantea* izolāti, kuriem ir raksturīgs lielāks augšanas ātrums egles koksnē un augstāka antagonisma spēja pret *Heterobasidion* spp. (Kenigvalde *u.c.*, 2011). Latvijas *P. gigantea* izolāti, kas ir tik pat vai vairāk efektīvi par ‘Rotstop’ preparātu, varētu tikt izmantoti vietējā preparāta izveidei.

Maģistra darba mērķis: analizēt celmu apstrādes kvalitāti ar ‘Rotstop’ preparātu un *P. gigantea* attīstību egļu celmos, un novērtēt *P. gigantea* preparātu koncentrācijas ietekmi uz sēnes attīstību skuju koku koksnē.

Darba uzdevumi:

1. Izmēģināt egles celmu apstrādi ar dažāda diametra harvestera zāģa sliedes caurumiņiem un novērtēt celmu virsmas pārklājumu ar preparātu ‘Rotstop’.
2. Analizēt *P. gigantea* aizņemto celmu virsmas laukumu atkarībā no apstrādes varianta.

3. Analizēt *P. gigantea* attīstību un efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. egles un priedes koksnē atkarībā no izmantotās sporu suspensijas koncentrācijas.
4. Analizēt vietējās izcelsmes *P. gigantea* izolātu PG 323 un PG 286 attīstību un efektivitāti egles un priedes koksnē.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea*

### 1.1.1. *P. gigantea* izplatība

Lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich ir saprofitiska bazidiomicēte, kas pazīstama arī kā: *Phlebia gigantea* (Fr.) Donk, *Peniophora gigantea* (Fr.) Masee un *Phanerochaete* (Fr.:Fr.) Rattan. (Holdenrieder and Greig, 1998). *P. gigantea* ierosina balto trupi uz celmiem, izgāztiem un nozāģētiem kokiem, kritālās un ciršanas atliekās. Skuju koku mežos sēnes sporas ir gaisa mikrofloras sastāvā (Rishbeth, 1959). Sēne ir skuju koku koksnes noārdītāja, bieži sastopama uz *Pinus*, *Picea*, *Abies* un *Tsuga* ģints kokiem, taču novērota arī uz lapu koku atliekām (Василяускас, 1989). Dažkārt sēne var bojāt mežā atstātos kokmateriālus, iekrāsojot koksni oranži-brūnu (Gaitnieks, 2014).

*P. gigantea* ir bieži sastopama boreālajos mežos, un darbojas kā ātra, efektīva un dabiska noārdītāja un barības vielu pārstrādātāja (Prasher, Kumar, 2017). Sēne ir saprofits, kas iegūst oglekli jau no mirušām šūnām, taču ir pierādījumi, ka tā spēj kolonizēt neiesakņojušos dzīvus egles stādus. Sēne neattīstās augošos kokos, savukārt ir pētījumi par spēju veidot mikorizai līdzīgus veidojumus uz egļu koku saknēm (Sun *et al.*, 2009; Vasiliauskas *et al.*, 2007).

### 1.1.2. *P. gigantea* bioloģija un sēnes makroskopiskās un mikroskopiskās pazīmes

#### *P. gigantea* auglķermeņi:

*P. gigantea* veido klājeniskus viengadīgus auglķermeņus (1. attēls), kas attīstās cieši uz substrāta, parasti uz kritālām, ciršanas atliekām, vai izgāztu koku stumbru daļām, kas vērstas pret zemi (Kenigshalde *et al.*, 2011). Auglķermeņi veidojas viena līdz četrus gadu laikā pēc koksnes kolonizēšanas. Jauni auglķermeņi ir zilganpelēkā krāsā, ar laiku kļūst pelēkbalti vai dzeltenbrūni, izžūstot malas atlokās un atgādina pergamenta papīru. Auglķermeņu izmērs bieži sasniedz 70 cm garumu un 15 cm platumu, biezums ir ap 0,5 mm (Kenigshalde *et al.*, 2011; Gaitnieks, 2014).



1.attēls. *P. gigantea* augļķermenis (T.Gaitnieka foto).

Figure 1. Fruit body of *P. gigantea* (photo by T.Gaitnieks).

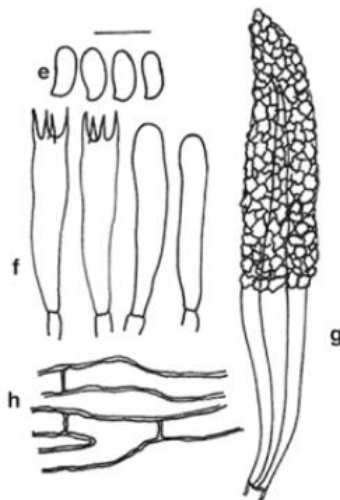
Sēne ir ģenētiski daudzveidīga, bet ģeogrāfiskā diferenciācija ir neliela. Vairāki ģenētiski atšķirīgi *P. gigantea* izolāti var veidot augļķermeņus ļoti tuvu blakus – to starpā veidojas demarkācijas zona (Vainio et al., 2001). Sporulācija nakts laikā ir lielāka nekā dienā. Sporulācijas aktivitāte ir sezonāla – vasaras periodā novērota lielāka koku inficētība, bet rudenī tā samazinās (Gžibovska, 2016). Sēnes augļķermeņi ir jutīgi pret izžūšanu (Holdenrieder & Greig, 1998). Sēnes augšana strauji samazinās ekstrēmās temperatūrās, zemāk par 5 °C, un vairāk par 35 °C (Zhao, 2013; Thor et al. 1997). Laboratorijā optimāla micēlija augšana novērota uz glikozes-peptona barotnes 28-30 °C temperatūrā un pH = 5 (Prasher, Kumar, 2017; Thor, 1997).

### ***P. gigantea* mikroskopiskās pazīmes:**

Augļķermeņus veido ģeneratīvās hifas, kas ir sazarotas, septētas, ar gludu virsmu un 2-5 μm diametrā. Hifu šūnas satur vairākus kodolus. Micēlijs ir sadalīts oīdiju virknēs, pārklāts ar sēnei raksturīgajiem kalcija oksalāta kristāliem. Micēlijā ir sprādzes un dubultās sprādzes. Bazīdiiju izmēri ir 26-30 x 4-5 μm, tās ir šauras, cilindriskas, ar paplašinātu galu un četrām sterigmām. Cistīdas ir sterilas, koniskas formas, masīvas, 52-78 x 10-14 μm lielas, ar biežām sienām, pārklātas ar kristāliem apikālajā daļā (2. attēls) (Prasher, 2015; Holdenrieder & Greig, 1998).

*P. gigantea* veido dzimumsporas – bazīdijsporas un bezdzimumsporas – oīdijas. Bazīdijsporas ir šauri eliptiskas vai īsas un ieliektas, gludas, plānām sienām, 6,5-8 x 3-3,5 μm. Bazīdijsporas var izplatīties ar lietu un vēju vairāku simtu kilometru attālumā. Oīdiju izmēri ir

5-10 x 2,5-6  $\mu\text{m}$ , tās ir īsas, cilindriskas, ar noapaļotiem galiem un veidojas fragmentējoties hifām. Oīdijas lielā daudzumā veidojas laboratorijas apstākļos uz mākslīgām barotnēm, taču to nozīme dabā vēl nav līdz galam noskaidrota. Oīdijas var pārnēsāt kukaiņi (Holdenrieder & Greig, 1998).



2. attēls. *P. gigantea* augļķermeņa sastāvdaļas: e – bazīdijsporas, f – bazīdija, g – cistīda, h – ģeneratīvās hifas (Prasher, 2015).

Figure 2. Microscopic structure of *P. gigantea* fruiting body: e – basidiospores, f – basidia, g – cystidiols, h – hyphae (Prasher, 2015).

### ***P. gigantea* makroskopiskās pazīmes:**

*P. gigantea* micēlijs ir baltā krāsā, ar gludu, matētu virsmu un gludu apmali. Koksņē *P. gigantea* kolonizētās zonas iekrāsojas sarkanbrūnas. Inficētās zonas ir radiāli iegarenas vai neregulāras. Pēc 12-14 inkubācijas dienām var novērot raksturīgās oīdiju virknes (Rishbeth, 1959).

## **1.2. Sakņu piepe *Heterobasidion* spp.**

### **1.2.1. *Heterobasidion* spp. sastopamība un ekonomiskie zaudējumi**

Sakņu piepe *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. sensu lato ir sugu komplekss, kas boreālajos skuju koku mežos izraisa sakņu trupi. *H. annosum* ir plaši izplatīta visā Ziemeļu puslodē, īpaši Eiropā, Ziemeļamerikā, Krievijā, Ķīnā un Japānā. Pasaulē ir zināmas piecas *Heterobasidion* ģints sugas – trīs no tām Eirāzijā (*H. annosum* sensu stricto (s.s.), *H. abietinum* Niemela & Korhonen un *H. parviporum* Niemela & Korhonen) un divas Ziemeļamerikā *H. irregulare* (Underw.) Garbel. & Otrosina un *H. occidentale* Otrosina & Garbel) (Garbelotto,

Gonthier, 2013). Latvijā sastopamās sugas ir *H. parviporum* un *H. annosum* sensu strictum (3. attēls) (Korhonen *et al.*, 1998). Parastās egles koksni pārsvarā kolonizē *H. parviporum*, savukārt parasto priedi vairāk inficē *H. annosum* s.s. (Arhipova *et al.*, 2011; Korhonen *et al.*, 1992).



3.attēls. *H. annosum*, *H. abietinum* un *H. parviporum* izplatība Eiropā (Pettersson, 2013).

Figure 3. Distribution of *H. annosum*, *H. abietinum* un *H. Parviporum* in Europe (Pettersson, 2013).

Sēne ir nozīmīgākais sakņu trapes ierosinātājs Eiropā, un lielākos zaudējumus tā rada tādām skuju koku sugām, kā *Pinus*, *Juniperus*, *Picea* un *Abies* (Mitchelson and Korhonen, 1998; Asiegbu, 2005). Eiropā katru gadu sakņu trupe nodara zaudējumus 500 miljonu eiro apmērā (Webber, Thorpe, 2001).

Latvijā egļu audzēs trupējušo egļu īpatsvars sastāda 15-25 %, atkarībā no egļu audzes vecuma (Kenigšvalde *et al.*, 2011). Sakņu trapes radītie tiešie ekonomiskie zaudējumi Latvijā egļu audzēs sastāda vidēji 1070 eiro/ha (750 LVL – pēc 2006. gada datiem) (Gaitnieks *et al.*, 2007; Arhipova *et al.*, 2011).

Siltā un mitrā laikā liels daudzums sēnes bazīdijsporu gaisā ir bieža un normāla parādība skuju koku mežos (Korhonen, Stenlid, 1998). Inficējot kokus, sēne bojā stumbra aplievu, kodolkoksni un saknes, izraisot kvalitatīvu kokmateriālu zudumus. Zaudējumi rodas ne tikai trupējušas koksnes dēļ – inficētajās audzēs raksturīga koku diametra pieauguma samazināšanās

(Hellgren, Stenlid, 1995). Sakņu trupes rezultātā palielinās vējgāzes un snieglauzes risks, kas rada netiešos zaudējumus.

### 1.2.2. *Heterobasidion* spp. bioloģija

*Heterobasidion* spp. ir bazīdijsēne – viens no vislabāk izpētītajiem meža patogēniem (Garbelotto, Gonthier, 2013). Sēne var attīstīties gan kā saprotrofs mirušā koksne, gan kā nekrotrofs organisms, kas kolonizē saimniekorganisma šūnas, lai barotos ar atmirušajiem audiem. Sēne vispirms inficē novājinātus vai bojātus audus (Korhonen, Stenlid, 1998).

Celmu primārā inficēšanās notiek *Heterobasidion* spp. bazīdijsporām nonākot uz svaiga celma virsmas vai koka bojājuma vietām. Sporas dīgst, micēlijs ieaug dziļāk koksne, inficējot sakņu sistēmu. Sekundārā inficēšanās notiek sēnes micēlijam veģetatīvi izplatoties caur sakņu kontaktiem uz veselīgiem blakus augošiem kokiem. Sēnes sporas var saglabāties uz koku mizas virsmas un piemērotos apstākļos, piemēram, koku zāģēšanas laikā, inficēt svaigi nozāģēto celmu (Korhonen, Stenlid, 1998; Garbelotto, Gonthier, 2013). Nokļūstot augsne vai ieskalojoties tajā no augsnes virsmas, sporas var ilgāku laiku saglabāt dzīvotspēju. Augsnes paraugos konstatētās dzīvotspējīgās sporas spēj inficēt bojātas saknes, kamēr augsne nav sasalusi (Kallio, 1970).

Attīstības sākumā dzīvā kokā nav iespējams noteikt *Heterobasidion* spp. klātbūtni, jo neparādās vizuāli simptomi. Infekciju konstatē, kad koks ir vēja izgāzts vai nozāģēts. Koksne parādās brūni trupējuma plankumi, kas kļūst mīksti, sairst, un stumbrā var veidoties dobums (Greig, 1998). Ārējie vizuālie simptomi ir sveķu izdalīšanās vai vainaga dzeltēšana (Asiegbu *et al.*, 2005). *Heterobasidion* spp. izplatoties sekundāri un inficējot apkārt augošos kokus, ar laiku veidojas infekcijas centri – trupes skartu koku vai celmu grupas (Korhonen, Holdenrieder, 2005).

*Heterobasidion* spp. veido neregulāras, krokotas formas daudzgadīgus augļķermeņus (4. attēls). Tie ir 3,5-7 cm biezi un var sasniegt 40 cm diametrā. Augļķermeņu virspuse ir tumši brūna vai sarkanbrūna, himenofors – balts, novecojot kļūst brūnāks. Augļķermeņi var būt klājeniski vai piepju formā (Asiegbu *et al.*, 2005). Augļķermeņi izdala bazīdijsporas, bet konīdijsporas veidojas augot sēnes micēlijam (Korhonen, Stenlid, 1998). Sakņu piepes attīstībai labvēlīgi apstākļi ir augsts augsnes pH, zems organisko vielu saturs un smilšainas augsnes. *Heterobasidion* spp. micēlija augšanai optimāla temperatūra ir 22-28 °C. Sporu dīgšanai piemērots ir plašs temperatūras diapazons – 12-38 °C. Sporu dīgšana apstājas ap 0-2 °C un 40-42 °C (Korhonen, Stenlid, 1998). *Heterobasidion* spp. sporulācija ir sezonāla –

Latvijā aktīva sporu izdalīšanās no augļķermeņiem ir no maija līdz oktobra beigām (Brauners *et al.*, 2014).



4. attēls. *Heterobasidion* spp. augļķermenis (T. Gaitnieka foto).

Figure 4. The fruitbody of *Heterobasidion* spp. (photo by T. Gaitnieks).

### 1.2.3. *Heterobasidion* spp. ierobežošanas metodes

Pastāv vairākas *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanas metodes – ķīmiskās, bioloģiskās un mežsaimnieciskās. To mērķis ir samazināt primārās infekcijas risku mežizstrādes laikā, pasargājot celmus no patogēna sporām, vai ierobežot sēnes sekundāro izplatību inficētās platībās.

Ir veikti pētījumi par *Heterobasidion* spp. ierobežošanas iespējām gan ar ķīmiskajiem fungicīdiem, gan ar bioloģiskajiem preparātiem. Urīnviela, borāti un bioloģiskie *P. gigantea* sporu preparāti ir uzrādījuši pietiekami augstu *Heterobasidion* spp. ierobežošanas efektivitāti un tiek praktiski pielietoti celmu aizsardzībai (Holdenrieder and Greig, 1998; Nicolotti, Gothier, 2005). Boru saturošu preparātu izmantošana Eiropā nav atļauta (Korhonen, Holdenrieder, 2005).

Izvēle starp bioloģiskajām un ķīmiskajām apstrādes metodēm ne vienmēr ir atkarīga tikai no preparāta efektivitātes. Svarīgi ir tādi aspekti kā zemākas apstrādes izmaksas, ietekme uz vidi un cilvēku, bioloģiskās noārdīšanās spēja un reģistrētu preparātu lietošana (Nicolotti, Gothier, 2005).

Celmu apstrāde ar urīnvielu ne tikai paaugstina virsmas pH līmeni, bet arī ir toksiska *Heterobasidion* spp. amonija un amonjaka dēļ. Šie urīnvielas savienojumi un tās atvasinājumi kavē *Heterobasidion* spp. attīstību un sporu dīgšanu. Minētajai metodei svarīgs ir augstas

koncentrācijas urīnvielas šķīdums, lai saglabātu celmu augsto pH vērtību visu celma potenciālo inficēšanās laiku. Urīnvielas un boru saturošo preparātu izmantošana negatīvi ietekmē celma dabiskās mikrofloras daudzveidību, apkārtējo veģētāciju un piesārņo augsni (Johansson *et al.*, 2002).

Profilaktiskie mežsaimniecības pasākumi var samazināt audzes inficēšanās risku. Piemēram, mežizstrāde gada vēsajā laikā, kad temperatūra ir zemāka par 5 °C (Oliva *et al.*, 2010). Pētījums Zviedrijas dienvidos liecina, ka mežizstrādes laikā vasarā 34 % celmu bija inficēti ar *Heterobasidion* spp., bet veicot cirtes ziemas mēnešos, infekcijas īpatsvars samazinājās līdz pat 2 % (Brandtberg *et al.*, 1996).

Ja audze jau ir inficēta ar *Heterobasidion* spp., tad celmu izvākšana, kailcirtes, koku sugu maiņa vai audzēšana mistraudzēs, veicina mežaudzes atveseļošanos (Garbelotto, Gonthier, 2013; Cleary *et al.*, 2013; Korhonen, Holdenrieder, 2005; Asiegbu *et al.*, 2005). Sekundārās infekcijas izplatīšanās tiek apgrūtināta palielinot attālumu starp blakus augošiem kokiem, tādējādi samazinot sakņu kontaktu skaitu (Piri, 2003).

#### **1.2.4. *Heterobasidion* spp. bioloģiskā ierobežošana**

Bioloģiskie preparāti ir alternatīva ķīmiskajiem pesticīdiem. Lielās *Heterobasidion* spp. izplatības dēļ, mežizstrādes laikā ir jāveic profilaktiska celmu aizsardzība. Ķīmiskie preparāti nodrošina tikai celmu virsmas aizsardzību – kavē *Heterobasidion* spp. sporu dīģšanu uz celma virsmas. Bioloģisko preparātu uzdevums ir nodrošināt ilglaicīgu celma aizsardzību pret primāro inficēšanos un kavēt sekundāro izplatīšanos.

*P. gigantea* ir vienīgā sēne, kuras sporu suspensijas tiek komerciāli ražotas celmu aizsardzībai pret *Heterobasidion* spp. (Holdenrieder and Greig, 1998). Ir veikti pētījumi arī ar citām sēņu sugām (*Trichoderma* spp., *Verticillium bulbillosum*, *Hypholoma fasciculare*, *Phanerochaete velutina*, *Vuilleminia comedens*, *Gliocladium deliquescens*), lai atrastu piemērotus *Heterobasidion* spp. antagonistus celmu aizsardzībai (Kenigvalde *et al.*, 2011; Holdenrieder and Greig 1998; Nicolotti and Gonthier, 2005; Kallio, Hallarsela, 1979; Berglund *et al.*, 2005). Izmantojot vairākas sēnes, piemēram, *P. gigantea* un *T. viride* sporu suspensiju, *P. gigantea* bija noteicošā antagonismā pret *H. annosum* s.l. sporu infekciju egles koksne (Kenigvalde *et al.*, 2011).

Salīdzinot ar citiem celmu aizsardzības līdzekļiem (dinātrija oktaborāta tetrahidrāts, borakss un urīnviela), *P. gigantea* visefektīvāk ierobežo patogēna attīstību. Savukārt bez celmu apstrādes ar preparātiem kolonizēto celmu īpatsvars var sasniegt 100 % (Nicolotti,

Gothier, 2005; Thor, Stenlid, 2005). Arī Latvijā *P. gigantea* saturošā bioloģiskā preparāta 'Rotstop' efektivitāte dabiskās *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanā egļu celmos bija 64 % – rēķinot no inficēto celmu skaita, un 89 % – aprēķinot pēc sēnes aizņemtā celma virsmas laukuma. Priežu celmos 'Rotstop' efektivitāte sasniedza attiecīgi 82 % un 95 % (Kenigsvalde *et al.*, 2015). *P. gigantea* ieaugot koksne samazina gan primāro inficēšanos, gan pasargā celma saknes no *Heterobasidion* spp. micēlija attīstības (Gaitnieks, 2014). *P. gigantea* spēj producēt lielu daudzumu bezdzimumsporu, tāpēc sēni var izmantot bioloģiskā preparāta ražošanā (Sun *et al.*, 2009).

### 1.3. Bioloģiskais preparāts 'Rotstop'

*P. gigantea* īpašības pirmo reizi aprakstīja *Rishbeth* (1950, 1951), pētot *Heterobasidion* spp. un sēņu antagonistu attīstību skuju koku celmos. *P. gigantea* sporas saturošus bioloģiskos preparātus meža aizsardzībai izmanto Anglijā, Zviedrijā, Šveicē, Krievijā, Bulgārijā, Kanādā, Somijā, Francijā, Vācijā, Itālijā, Norvēģijā, Polijā un Igaunijā (Kenigsvalde *et al.*, 2011). Šobrīd Eiropā ražo vairākus preparātus, kuru sastāvā ir *P. gigantea* sporas: 'PG Suspension' Anglijā, 'PgIBL' Polijā un 'Rotstop' Somijā (Pratt *et al.*, 2000). 'Rotstop' preparāts kopš 2007. gada ir reģistrēts Latvijā kā 3. klases mikrobioloģiskais augu aizsardzības līdzeklis (fungicīds) *H. annosum* un *H. parviporum* izraisītās skuju koku sakņu trapes ierobežošanai.

#### 1.3.1. Preparāta 'Rotstop' lietošana

'Rotstop' darbīgā viela ir *Phlebiopsis gigantea* sporas  $10^6$  k.v.v/g. Lietojamā deva ir 1 g/m<sup>2</sup> un darba šķidruma patēriņš - 1 L/m<sup>2</sup>. Preparāts pieejams kā suspensijas koncentrāts, iepakots 50 g fasējumā. Preparāta uzglabāšana ir viena nedēļa istabas temperatūrā, 12 mēneši +8 °C un 18 mēneši -18 °C. Preparāts nedrīkst uzsilt vairāk par +40 °C gan glabāšanas laikā, gan kā darba ar šķīdums. Darba šķīdums vai koncentrāts ir izmantojams 24 stundu laikā. Laicīgi neizmantotajā šķīdumā sporas sāk dīgt un iet bojā (Anonīms, 2014)

Preparāts paredzēts priežu un egļu celmu apstrādei kailcirtēs vai krājas kopšanas cirtēs, ne vēlāk kā 3 stundas pēc koku nozāģēšanas. 'Rotstop' tiek pielietots, kad diennakts vidējā temperatūra pārsniedz +5 °C. *P. gigantea* sporu suspensiju ir iespējams izmantot normālos mehāniskās celmu apstrādes apstākļos. Sporas nezaudē dzīvotspēju vairāk par 2200 kPa spiediena un temperatūras līdz 40 °C ietekmē (Thor *et al.*, 1997). Apstrādes kvalitātes kontrolei, darba šķīdumam tiek pievienota krāsvielas tablete. Zilais krāsojums ļauj novērtēt preparāta noklāto celma virsmas laukumu.

### 1.3.2. Preparāta 'Rotstop' darbības mehānisms

Nav pierādījumu, ka *P. gigantea* izdalītu toksīnus, enzīmus vai antibiotikas, uz ko parasti balstās sēņu antagonisms (Holdenrieder and Greig, 1998). Kā svarīgākie mijiedarbības mehānismi tiek uzskatīti spēja strauji kolonizēt substrātu, konkurētspējīga barības vielu uzņemšana un hifālā interference (Mgbeahuruike *et al.*, 2011).

Nozīmīgākais celmu inficēšanās veids ar sakņu piepi ir sporu nosēšanās uz svaigi nozāģēta celma. *P. gigantea* priekšrocība ir lielāks augšanas ātrums nekā *Heterobasidion* spp., tāpēc pirmajai nonākot un dīgstot uz celma virsmas, *P. gigantea* aizņem celma virsmas laukumu, novēršot vai ierobežojot *Heterobasidion* spp. sporu izraisīto inficēšanos no gaisa. Parasti antagonistu konkurētspēja ir atkarīga no dažādiem vides faktoriem, piemēram, mitruma, osmotiskā potenciāla, barības vielām un substrāta īpašībām (Korhonen, Stenlid, 1998). Mijiedarbība starp *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. galvenokārt ir atkarīga no temperatūras un mitruma, jo citādi abu sēņu bioloģija daudzos aspektos ir līdzīga. *P. gigantea* augšanas ātrums 25 °C temperatūrā ir lielāks nekā *Heterobasidion* spp., bet 15 °C temperatūrā abām sēnēm ir līdzīgs (Swanwick, 2007). Konkurencē par vietu uz substrāta ir svarīgi, lai *P. gigantea* pirmā kolonizētu celmu, pirms virsmu sasniedz *Heterobasidion* spp. sporas. Tāpēc apstrādi ar preparātu pielieto 2-3 stundu laikā pēc koku zāģēšanas (Korhonen *et al.*, 1994). Ja *Heterobasidion* spp. kolonizē celmu pirmā, tad *P. gigantea* nespēj ierobežot patogēna attīstību (Pettersson *et al.*, 2003). Lielāks *P. gigantea* augšanas ātrums koksni korelē ar izolātu efektivitāti *Heterobasidion* spp. ierobežošanā (Sun *et al.*, 2009).

*P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. sintezē vairākus koksni degradējošos enzīmus, piemēram, cellulāzi, peroksidāzi un lakkāzi. Enzīmu aktivitāte ir nozīmīga gan saprofitu, gan patogēnu darbībai – tie nodrošina barības vielu uzņemšanu no substrāta. Visvairāk lakkāzes izdala baltās trupes sēnes (Leonowicz *et al.* 1997). Lakkāze noārda lignīnu, sadala saimniekorganisma izdalītos toksīnus, un producē helātus, kas nodrošina koksni degradējošo enzīmu ceļu caur koksnes šūnu sienīņām. Lignīna un citu koksnes komponentu noārdīšana ir svarīga īpašība, novērtējot *P.gigantea* bioloģiskās kontroles kapacitāti. Konkurētspēja un antagoniskās attiecības ir atkarīgas no lakkāzes enzīma produkcijas un koksnes degradēšanas spējām (Mgbeahuruike *et al.*, 2011).

Hifālais antagonisms ir sēņu mijiedarbības lokāla parādība, tā pamatā ir hifālā interference un parazītisms (Woodward, Boddy, 2008). Saskaroties *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. hifām, patogēna hifas vakuolizējas, pietūkst un pārraujas, šūnapvalks

sadalās (Ikediugwu *et al.*, 1970). Uz agara barotnes *P. gigantea* pāraug *Heterobasidion* spp. micēliju (Kallio, 1971).

### 1.3.3. Preparāta 'Rotstop' ietekme uz vidi

Bioloģisko preparātu ietekme uz vidi ir ekoloģiski labvēlīgāka, salīdzinot ar ķīmiskajiem preparātiem. Tie viegli noārdās, un ir iespējams panākt ilglaicīgu aizsardzību. Daudzveidīga celma mikroflora ir svarīgs faktors dabiskai konkurencei (Müller, 2015). Apstrādājot celmus ar *P. gigantea*, tā kolonizē koksni un nomāc normālu celma mikrofloru. Efekts ir ilglaicīgs, jo *P. gigantea* celmos saglabājas vidēji 3-5 gadus (Rishbeth, 1963). Tomēr ir pierādīts, ka pēc aptuveni sešiem gadiem celmu mikrofloras daudzveidība atjaunojas, citas sēnes celmos aizvieto *P. gigantea* (Vasiliauskas *et al.*, 2005). *P. gigantea* ietekmē citas sastopamās organismu sugas, jo noārdītā koksne ir piemērots substrāts noteiktām sēņu sugām (Vainino *et al.*, 2005). Salīdzinot ar urīnvielām, 'Rotstop' parasti būtiski neietekmē celmu mikrofloras daudzveidību. Vasiliauskas *et al.* (2004) pētījumā koksne konstatētas 11 bazīdijsēņu sugas jau septiņas nedēļas pēc celmu apstrādes.

Citu valstu *P. gigantea* izolātu izmantošana var negatīvi ietekmēt vietējo izolātu populācijas. Daudzās valstīs tiek veikti pētījumi par celmu apstrādi ar vietējiem *P. gigantea* izolātiem (Drenkhan *et al.*, 2008). 'Rotstop' preparāta pielietošana samazina citu sēņu daudzveidību, savukārt pētījums Vācijā liecina, ka izolāts no ģeogrāfiski tuvākas vietas (Polijas) sēņu daudzveidību neietekmēja (Müller, 2015). Polijā regulāri tiek veikti izmēģinājumi ar vietējiem *P. gigantea* izolātiem, jo bioloģisko preparātu efektivitāte samazinās pēc dažu gadu lietošanas (Pratt *et al.*, 2000). Lielākoties pārbaudītie *P. gigantea* izolāti pēc savām īpašībām izrādās līdzīgi vai mazāk efektīvi par 'Rotstop' (Korhonen, 2003). Latvijā iegūtais *P. gigantea* izolāts G1 nodrošina tikpat efektīvu celmu aizsardzību kā 'Rotstop' preparāta sastāvā esošais izolāts. Latvijas *P. gigantea* izolātiem Le107E, Kn107E, Le407P un Le507P konstatēts būtiski lielāks augšanas ātrums laboratorijas apstākļos salīdzinājumā ar 'Rotstop' (Kenigshalde *et al.*, 2015; Kenigshalde, 2011).

Izmantojot ģenētiski vienvēidīgu augu aizsardzības līdzekli, piemēram, 'Rotstop' - viena genotipa izplatīšana var izraisīt dabisko populāciju samazināšanos un aizstāšanu. Analizējot ar 'Rotstop' apstrādātos celmus, ir secināts, ka vienīgais vai visbiežāk satopamais *P. gigantea* izolāts celmos ir tas pats, kas preparāta sastāvā (Vasiliauskas *et al.*, 2005). Risinājums ir izmantot bioloģiskos preparātus, kas satur vairākus sēņu izolātus (Kenigshalde *et al.*, 2011). Pētījumi liecina, ka izvēloties atbilstošus vietējos izolātus, vairāku izolātu izmantošana vienlaicīgi neuzrāda mazāku efektivitāti, taču arī būtisks efektivitātes pieaugums nav novērots

(Kenigsvalde *u.c.*, 2013; Korhonen, 2003). Vairāku *P. gigantea* izolātu izmantošana vienā preparātā var samazināt efektivitāti, jo sēnei ir raksturīga konkurence starp atšķirīgiem izolātiem (Roy *et al.*, 1997).

#### **1.3.4. Koksnes īpašību ietekme uz *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. attīstību**

*P. gigantea* priedes koksni kolonizē daudz efektīvāk, nekā egles koksni (Korhonen, 2003). *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. attīstība priežu un egļu celmos atšķiras gan pēc inficēto celmu skaita, gan pēc augšanas ātruma un aizņemtā virsmas laukuma. Latvijā veiktie pētījumi liecina par lielāku egļu (93 %) celmu inficētību ar *Heterobasidion* spp. nekā priežu celmu inficētību (6 %). Arī *Heterobasidion* spp. aizņemtais celma virsmas laukums eglē ir būtiski lielāks (10 %) nekā priedē (0.15 %) (Gžibovska, 2016). Priedes koksne satur vairāk oleolsveķu, kas kavē koksnes noārdīšanos, nekā egles koksne, tāpēc eglēm vairāk trupē kodolkoksne (Oliva *et al.*, 2010). Lai gan *P. gigantea* egles koksni kolonizē sliktāk par priedes koksni, 'Rotstop' darbība egles koksne ir efektīva, jo *P. gigantea* un *Heterobasidion* konkurē par tiem pašiem koksnes resursiem (Korhonen, 2003). Sēņu attīstību skujkoku koksne kavē fenoli, tannīni un citi aromātiskie savienojumi (Dix, Webster, 1995)

Sēņu attīstība koksne ir atkarīga no koksnes īpašībām un dažādiem citiem faktoriem. Maza diametra celmi ar *Heterobasidion* spp. inficējas retāk, taču dažkārt tie var būt spēcīgi inficēti (Vollbrecht *et al.* 1995). Maza diametra egļu celmi ir uzņēmīgāki pret *Heterobasidion* spp. infekciju, salīdzinot ar maza diametra priežu celmiem (Gaitnieks *et al.*, 2018). *P. gigantea* attīstās vienlīdz sekmīgi maza diametra (<10 cm) priežu celmos, kuri apstrādāti ar *P. gigantea* suspensiju, neatkarīgi no celma diametra (Ēberliņa, 2016). Vienāda diametra jaunākiem celmiem ir ausgtāks inficēšanās risks, nekā vecākiem celmiem (Gunulf *et al.*, 2013). Infekcijas izplatību koksne sekmē platākas gadskārtas (Gunulf, 2013).

### **1.4. Celmu apstrādes kvalitāte**

#### **1.4.1. Celmu virsmas apstrādes laukums**

Celmu apstrādes kvalitātei ir izšķiroša nozīme bioloģiskā preparāta 'Rotstop' efektivitātē. Celmu apstrādi ar preparātu var veikt gan manuāli, gan mehānizēti. Visbiežāk celmus apstrādā mehānizēti, zāģēšanas brīdī preparātu izsmidzinot uz celma virsmas caur harvesteru zāģa sliedi. Pētījumos ir noteikts minimālais celma virsmas apstrādes laukums – vismaz 85 %, lai nodrošinātu efektīvu aizsardzību pret *Heterobasidion* spp. (Rönnerberg *et al.*, 2006; Tubby *et al.*, 2008).

Zviedrijā tika veikts pētījums, kurā kvantitatīvi noteica *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* biomasas izmaiņas atkarībā no apstrādes kvalitātes. Rezultāti liecina, ka pilnīgs celma virsmas pārklājums ar ‘Rotstop’ samazina *Heterobasidion* spp. infekciju gandrīz 185 reizes, savukārt nepilnīgas apstrādes gadījumā (samazinot apstrādes laukumu par 20 %), *Heterobasidion* spp. biomasa pieaug divas reizes. Tika pierādīta korelācija starp sēņu koloniju lielumu (apstrādes virsmas laukumu) un iznākuma biomasu. Samazinoties *Heterobasidion* spp. koloniju lielumam par 20 %, sēnes biomasa samazinās 5 reizes. Tas pats novērots ar *P. gigantea* – par 20 % mazāks apstrādes laukums samazina biomasu 7 reizes (Oliva *et al.* 2017).

Analizējot lauka datus Latvijā, tika apstiprināts citu pētījumu nevērojums – *P. gigantea* intensīvāk kolonizē priedes koksni pat nepilnīgas celmu apstrādes gadījumā. Tas nozīmē, ka celmu apstrādes kvalitātei ir izšķiroša nozīme ‘Rotstop’ izmantošanā egļu audzēs (Brauners u.c. 2014). Egļu celmu apstrādē preparāta efektivitātei ir tieša korelācija ar virsmas laukuma pārklājumu. Priedes koksnē *P. gigantea* attīstās labāk, tāpēc efektivitātes procents ir augstāks par procentuālo pārklātās virsmas laukumu (Korhonen, 2003).

#### **1.4.2. *P. gigantea* sporu suspensiju koncentrācija**

Somijas zinātnieku pētījumi pierādīja *P. gigantea* celmu aizsardzības efektivitātes korelāciju ar sporu koncentrāciju izmantojamā darba šķīdumā (Korhonen *et al.*, 1998). Rekomendējamā ‘Rotstop’ sporu koncentrācija darba šķīdumā ir 5 mlj. L<sup>-1</sup> (=5000 sporas mL<sup>-1</sup>) (Korhonen, 2003). Tomēr, preparāta efektivitāte ir atkarīga ne tikai no *P. gigantea* sporu koncentrācijas, bet arī no *Heterobasidion* spp. sporu daudzuma. Tas konstatēts pētījumā Somijā ar dažādas koncentrācijas *Heterobasidion* spp. sporu suspensiju izmantošanu (Sun *et al.*, 2009).

Zviedrijā veikta pētījuma rezultāti liecina, ka manuāli apstrādājot celmus ar bioloģisko preparātu un nodrošinot 100 % celma virsmas pārklājumu, preparāta sporu koncentrācija (>5000 sporas mL<sup>-1</sup>) būtiski neietekmēja *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatību un attīstību (Sidorov *et al.*, 2006). Tomēr nemainīgi svarīgs ir nosacījums par celmu virsmas pilnīgu pārklāšanu ar preparātu, jo mehānizēta apstrāde pat ar augstāku sporu koncentrāciju (20000 sporas mL<sup>-1</sup>) nesniedz pietiekami labus rezultātus (Ronnberg *et al.*, 2006).

Latvijā konstatēts, ka ‘Rotstop’ efektivitāte gan priežu, gan egļu celmos var sasniegt pat 100 % (Kenigvalde *et al.*, 2015; Gaitnieks, 2014). Ja mežizstrāde tiek veikta sezonā, kad *Heterobasidion* spp. sporas izplatās minimālā daudzumā, ir iespējams, ka samazinot ‘Rotstop’ preparāta koncentrāciju, tā efektivitāte saglabāsies. Samazinātas preparāta koncentrācijas izmantošana ļautu ekonomiskāk veikt celmu apstrādi, nesamazinot apstrādes efektivitāti.

## 2. MATERIĀLI UN METODEDES

Maģistra darbs izstrādāts Latvijas Valsts mežzinātnes institūtā “Silava” Meža fitopatoloģijas un mikoloģijas nodaļā no 2016. gada novembra līdz 2018. gada maijam. Pētījumi veikti Latvijas Zinātnes padomes granta Nr.426/2012 “*Heterobasidion* spp. izraisītās sakņu trupes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums” un somu kompānijas “Verdera Oy” sadarbības projekta ietvaros, Valsts pētījumu programmas ResProd, Meža nozares kompetences centra projekta nr. 1.2.1.1/16/A/009 “Sakņu piepes izraisītās sporu infekcijas ierobežošana skuju koku audzēs” un AS “Latvijas valsts meži” finansētā projekta Nr. 5-5.5\_0004\_101\_16\_4 “Sakņu trupes izplatību ierobežojošo faktoru izpēte” ietvaros.

### 2.1. *P. gigantea* attīstības novērtējums ar ‘Rotstop’ apstrādātos egļu celmos

Eksperimentu ierīkoja 2016. gada 1. un 14. septembrī Vidusdaugavas reģiona Kokneses iecirkņa 503. kvartālu apgabalā, 302. kvartāla 11. nogabalā un 330. kvartāla 15. nogabalā egļu audzēs, attiecīgi šaurlapju kūdreņa un vēra meža tipā. Audžu vecums bija 44 un 48 gadi.

Eksperimentu veica divās krājas kopšanas cirtēs. Mežizstrāde tika veikta izmantojot harvesteru John Deere 1070. Katrā audzē nozāģēja 150 egles, celmus pēc iespējas koncentrējot vienuviet, apmēram 100x100 m platībā. Apstrādei izmantoto celmu diametrs bija 10 – 42 cm. Koku zāģēšanai un preparāta izsmidzināšanai izmantoja piecas harvestera zāģa sliedes ar dažāda diametra caurumiņiem – 0,5 mm, 0,7 mm, 0,9 mm, 1,1 mm un 1,1 mm (standarta). Variants “1,1 mm” atšķīrās no “1,1 mm (standarta)” ar caurumu iestrādes tehniku – “1,1 mm” variantā caurumiņus sliedē izurba darbnīcā. “1,1 mm (standarta)” variantā tika izmantota standarta harvestera sliede no ražotāja Somijā. Caurumiņi sliedē ir iestrādāti un ir noslēgti, pirms zāģēšanas darbu uzsākšanas harvestera operators izsit nepieciešamo caurumiņu daudzumu, atkarībā no koku diametra audzē. Laika apstākļi eksperimenta ierīkošanas dienā bija bez nokrišņiem.

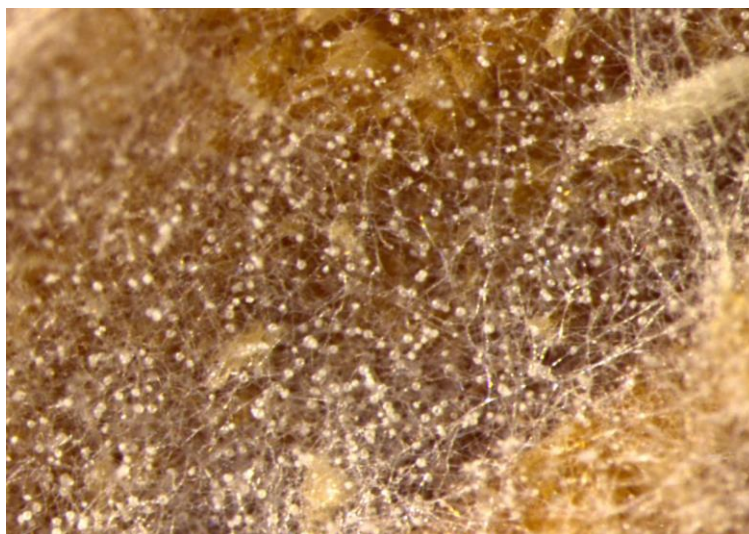
#### Darbu izpildes secība un apraksts:

Darbā secīgi izmantoja piecas harvestera sliedes. Apstrāžu varianti ar sliežu caurumiņiem: 1,1 mm (standarts), 0,5 mm, 0,7 mm, 0,9 mm un 1,1 mm. Katram apstrādes variantam audzē nozāģēja 30 kokus, apstrādājot celmus ar ‘Rotstop’ pēc ražotāja noteiktā protokola 1 g preparāta uz 1 L ūdens. Apstrādātos celmus nomarkēja ar attiecīgiem apzīmējumiem uz plastmasas lentītēm. Celmu apstrādes kvalitāti novērtēja pēc zilā krāsojuma

(ko šķīdumam piešķir krāsu tablete) un atzīmēja ar preparātu 'Rotstop' noklāto laukumu uz katra celma virsmas. Tad veica harvesteru sliedes nomaiņu uz nākamo.

Eksperimentu iekārtoja divu dienu laikā. Pēc 13 mēnešiem no marķētajiem celmiem ievāca paraugus laboratorisko analīžu veikšanai. No celma nozāgēja divas apmēram 3 cm biezas ripas. Virsējo ripu turpmākajā darbā neizmantoja. Ripas marķēja ar ūdensnoturīgu marķieri un nogādāja laboratorijā. Laboratorijā ripas nomizoja, nomazgāja, ievietoja atsevišķos polietilēna maisos, atstājot maisa galu vaļā, tādējādi nodrošinot gaisa cirkulāciju, un inkubēja 7 dienas istabas temperatūrā.

Ripas analizēja izmantojot stereomikroskopu Leica MZ 7.5. (20x palielinājums). Ripām piestiprināja plastikāta režģi (0,7 x 0,7 cm) un pārbaudīja katru rūtiņu uz ripas virsmas. *P. gigantea* noteica pēc raksturīgā oranži-brūnā krāsojuma koksne un micēlija morfoloģiskajām pazīmēm (Rönnberg, 2006). Micēlija kolonizētās zonas apvilka ar marķieri. *Heterobasidion* spp. identificēja pēc vizuālām pazīmēm – sēnei raksturīgajiem konīdijnesējiem (5. attēls) (Sun *et al.* 2009). Ja rūtiņā konstatēja vismaz vienu konīdijnesēju, to atzīmēja ar marķieri.



5. attēls. *Heterobasidion* spp. konīdijnesēji (Z. Gžibovskas foto).

Figure 5. Conidiophores of *Heterobasidion* spp. (photo by Z. Gzibovska).

Analizētajās ripās tika novērtēta tikai *Heterobasidion* spp. klātbūtne nevis aizņemtais laukums. Uz caurspīdīgas plastmasas plēves ar marķieri pārzīmēja *P. gigantea* aizņemto laukumu. Ar planimetru (PLANIX S10, Tamaya) noteica *P. gigantea* laukumu. *P. gigantea* aizņemto ripas laukumu procentos aprēķināja, dalot aizņemto laukumu cm<sup>2</sup> ar ripas laukumu cm<sup>2</sup> un reizinot ar 100. No ripām ar lielākajiem *P. gigantea* aizņemtajiem laukumiem tika paņemts koksnes paraugs, kura virsma uz liesmas sterilizēta, un tas ievietots Petri platē ar

iesala-agara barotni. Kad tika iegūta *P. gigantea* tīrkultūra, tad gabaliņu sēnes kultūras ievietoja jaunā Petri platē 2 – 3 cm attālumā no bioloģiskā preparāta ‘Rotstop’ sastāvā esošā izolāta, lai novērtētu, vai iegūtā tīrkultūra pieder ‘Rotstop’ genotipam, vai tā ir dabiskā *P. gigantea*, kura sastopama audzē. Pēc 3-4 nedēļām analizētie sēņu izolātu micēliji, vai nu saauga kopā, tādējādi norādot uz vienu genotipu, vai micēliju saskares vietā veidoja demarkācijas līniju, kas apstiprināja atšķirības starp izolātiem.

## **2.2. Dažādas koncentrācijas *P. gigantea* suspensiju efektivitātes novērtējums pret *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekciju**

### **2.2.1. *P. gigantea* preparātu sagatavošana**

Darbā izmantoti vietējas izcelsmes *P. gigantea* izolāti PG 323 un PG 286, kas iegūti no egles koksnes. Šie izolāti eksperimentam izvēlēti balstoties uz *P. gigantea* aizņemto laukumu uz celma un izolātu laboratorijas rādītājiem. Iepriekšējos eksperimentos salīdzināta izolātu efektivitāte pret *Heterobasidion* spp. infekciju ar preparāta ‘Rotstop’ efektivitāti. Priedes koksnē abi vietējās izcelsmes izolāti uzrādīja līdzīgu efektivitāti kā ‘Rotstop’ sastāvā esošais izolāts. Egles koksnē izolāts PG 323 būtiski neatšķīrās no ‘Rotstop’ rādītājiem, bet izolāta PG 286 efektivitāte bija būtiski zemāka (LZP grants, 2015).

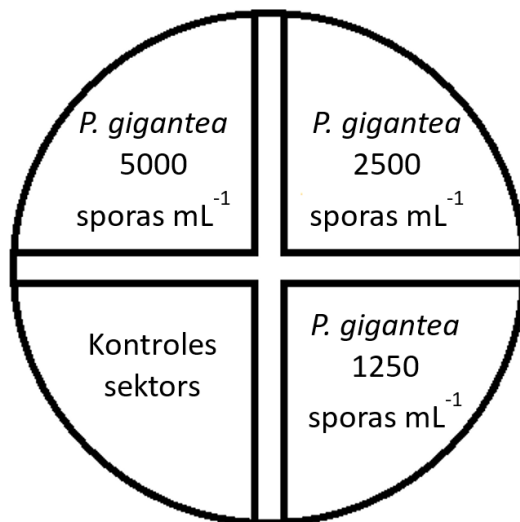
Izolātus audzēja divas nedēļas +20 °C Petri platēs ar agarizētu iesala ekstrakta agaru (ME). Izolātu oīdijsporas ar micēliju no katras plates trīs reizes nomazgāja ar krāna ūdeni, izmantojot stikla špāteli, un atšķaidīja līdz vienam litram. Preparāta sporu koncentrāciju pārbaudīja 0,5 mL šķīduma uzsējot jaunā Petri platē ar ME barotni, un saskaitot sporas, izmantojot mikroskopa palielinājumu 100 x. Lai iegūtu nepieciešamo sporu koncentrāciju preparātā, aprēķināja nepieciešamo ūdens daudzumu un atšķaidīja sporu šķīdumu ar ūdeni.

### **2.2.2. Eksperimenta iekārtošana un darbu izpildes secība**

Lauka eksperiments ierīkots 2016. gada 11. augustā LVMI Silava un LLU valsts zinātniskās izpētes mežu apsaimniekošanas aģentūras "Meža pētīšanas stacija" kokaudzētavas teritorijā. Eksperimentā izmantoja divus parastās priedes (*Pinus sylvestris* L.) un divus parastās egles (*Picea abies* (L.) H. Karst.) kokus, katrs 18 – 22 cm diametrā. Kokus sazāgēja vienu metru garos nogriežņos, lai eksperimenta iekārtošanas dienā tos sazāgētu 20 – 30 cm garos blukīšos.

Blukīšu augšējo virsmu sadalīja četros sektoros (6. attēls). Sektorus apsmidzināja ar trīs dažādu koncentrāciju *P. gigantea* sporu suspensijām, ceturto atstājot kā kontroli *Heterobasidion* spp. dabiskajai infekcijai. Starp sektoriem atstāja nenosmidzinātu apmēram 2 cm platu joslu. Kamēr tika veikta katra sektora apsmidzināšana, pārējo blukīša daļu pārsedza

ar papīra lapu. Izmantotās suspensiju koncentrācijas bija 1250 sporas mL<sup>-1</sup>, 2500 sporas mL<sup>-1</sup> un 5000 sporas mL<sup>-1</sup>. Eksperimentā izmantoja divus Latvijas izcelsmes *P. gigantea* izolātus PG286 un PG323. Katru izolātu pārbaudīja 7 atkārtojumos priedes blukīšos un 7 atkārtojumos egles blukīšos (kopā 28 blukīši).



6. attēls. Shēma celma virsmas apstrādei ar *P. gigantea* izolātu suspensijām.

Figure 6. Scheme of stump treatment with *P. gigantea* spore suspensions.

Ar *P. gigantea* apstrādātos blukīšus nogādāja Vidusdaugavas reģionā (139.kv.1.nog.) un atstāja 5 dienas ar *Heterobasidion* spp. inficētā egļu audzē. Blukīšus novietoja *Heterobasidion* spp. auglķermeņu tuvumā (2 – 4 metri), kur tie tika pakļauti dabiskai sporu infekcijai. Pēc tam blukīšus pārvietoja uz kokaudzētavas teritoriju un atstāja nojumē, daļējā noēnojumā uz agroplēves, lai izvairītos no tiešas saskares ar augsni. Blukīšu virsmu regulāri mitrināja laistot, lai nodrošinātu optimālus apstākļus sēņu attīstībai. Pēc 4 – 5 nedēļām no katra blukīša augšējās virsmas nozāģēja divas trīs centimetru biezas ripas 3 un 8 cm dziļumā.

Ripas nogādāja laboratorijā, kur sagatavoja un analizēja pēc 2.1. nodaļā minētās metodikas. *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu cm<sup>2</sup> aprēķināja, atzīmēto rūtiņu skaitu reizinot ar rūtiņas izmēru (0,49 cm<sup>2</sup>). *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* aizņemto ripas laukumu procentos aprēķināja, dalot aizņemto laukumu cm<sup>2</sup> ar ripas laukumu cm<sup>2</sup> un reizinot ar 100.

### 2.3. Datu matemātiskā analīze

Rezultāti apstrādāti izmantojot Microsoft Excel 2010 datu apstrādes programmu. Datiem rēķinātas vidējās vidējās vērtības, standartklūdas un korelācijas koeficienti. *P. gigantea* aizņemtā virsmas laukuma koksne salīdzināšanai pa variantiem izmantoja Mann – Whitney

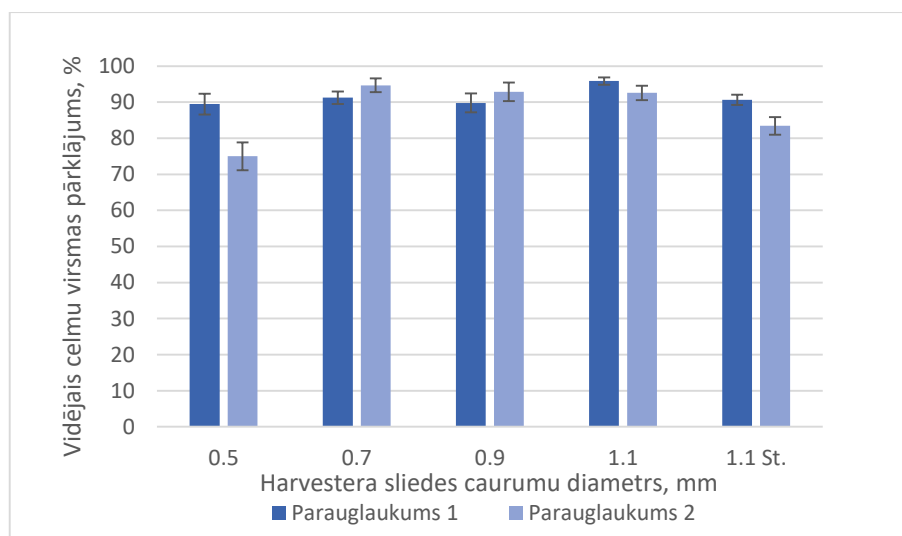
testu. Efektivitātes salīdzināšanai pa variantiem izmantoja t-testu. Lai noteiktu inficēto celmu īpatsvara būtiskuma līmeni variantos, izmantots Hī kvadrāta kritērijs. Paraugkopas salīdzināja pie būtiskuma līmeņa  $\alpha = 0,05$ . Lai noteiktu sakarību starp pārbaudāmajiem parametriem, izmantota Pīrsona un Spīrmena korelācijas izmantotas atkarībā no datu atbilstības normālajam sadalījumam. Būtiskuma līmenis korelācijām noteikts, korelācijas koeficientus salīdzinot ar kritisko vērtību pie  $\alpha = 0,05$  (Liepa, 1974).

### 3. REZULTĀTI

#### 3.1. Celmu virsmas pārklājums ar ‘Rotstop’ un *P. gigantea* attīstība

Eksperimentā pārbaudīts, kā dažāda diametra caurumi zāģa sliedē ietekmē celmu apstrādes kvalitāti. Pēc koku nozāģēšanas un apstrādes ar preparātu ‘Rotstop’, katram celmam tika novērtēta apstrādes kvalitāte, nosakot celma zāģējuma virsmas pārklājumu pēc zilā krāsojuma. Pirmajā parauglaukumā visos apstrādes variantos vidējais celmu virsmas pārklājuma laukums bija lielāks par 85 % (7. attēls) - minimālo rekomendējamo apstrādes laukumu. Otrajā parauglaukumā 0,5 un 1,1 standarta (1,1 St.) variantos vidējais apstrādes laukums bija mazāks par 85 % (attiecīgi:  $75\pm 3,88$  % un  $83,43\pm 2,43$  %). Vidēji abos parauglaukumos celmu zāģējuma virsmas pārklājums ar preparātu bija  $89,55\pm 14,06$  %.

Pirmajā parauglaukumā būtiski lielāks ( $p<0,05$ ) virsmas pārklājums konstatēts celmiem apstrādes variantā ar 1,1 mm caurumiņiem ( $95,87\pm 5,56$  %). Otrajā parauglaukumā apstrādes variantos 0,5 un 1,1 standarta celmu virsmas pārklājums bija būtiski mazāks ( $p<0,05$ ) nekā 0,7, 0,9 un 1,1 variantos.

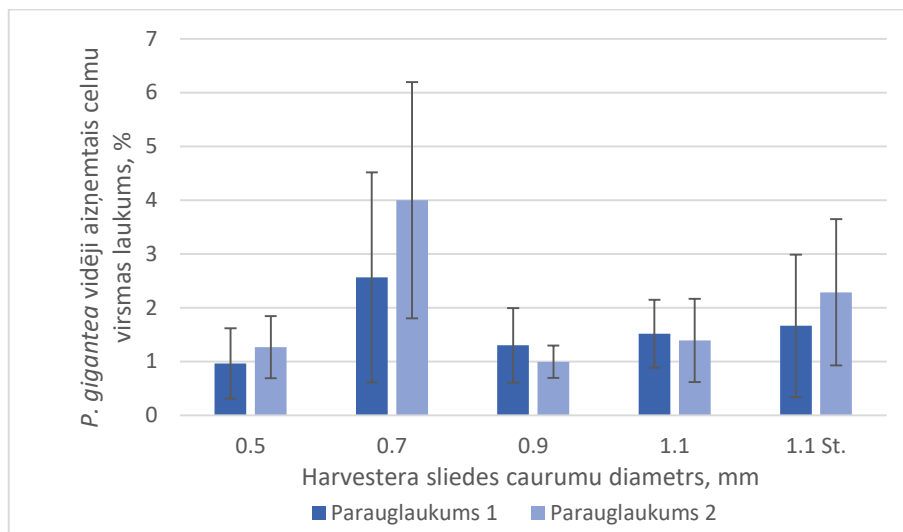


7. attēls. Celmu virsmas pārklājums ar ‘Rotstop’ preparātu atkarībā no apstrādes varianta.

Figure 7. Coverage of the stump surface with ‘Rotstop’ preparation depending on the treatment.

Analizējot zāģa sliedes caurumu diametra ietekmi uz apstrādes kvalitāti, otrajā parauglaukumā tika konstatēta statistiski būtiska pozitīva korelācija  $R=0,203$ , taču pirmajā parauglaukumā korelācija nebija būtiska  $R=0,117$  ( $R_{0,05;150}=0,16$  (Liepa, 1974)).

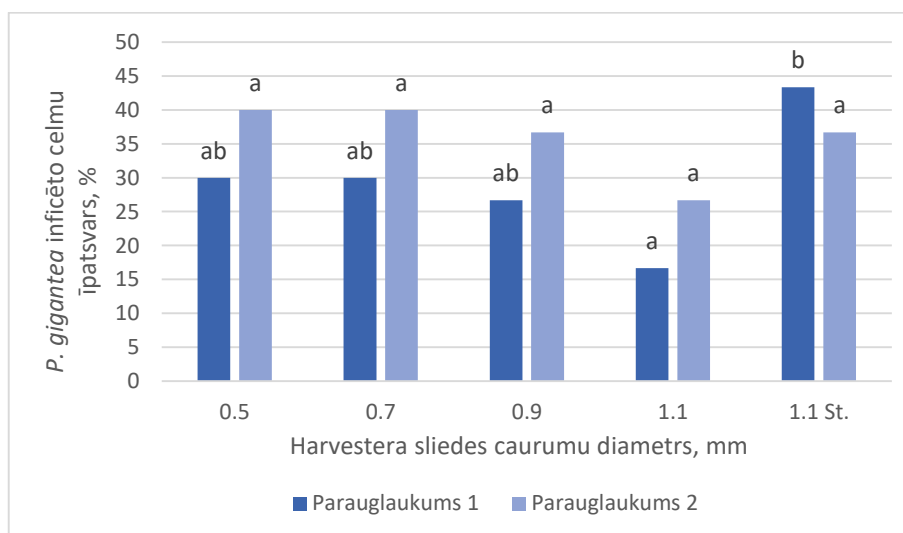
Eksperimentā pārbaudīta *P. gigantea* attīstība egļu celmos atkarībā no pielietotās zāģa sliedes 'Rotstop' preparāta izsmidzināšanai (8. attēls). *P. gigantea* vidēji aizņemtais celmu virsmas laukums pirmajā parauglaukumā bija  $0,46 \pm 2,14$  % un otrajā parauglaukumā  $0,74 \pm 2,76$  %. Starp apstrādes variantiem netika konstatētas būtiskas atšķirības ( $p=0,25$ ).



8. attēls. *P. gigantea* vidēji aizņemtais celma virsmas laukums atkarībā no apstrādes varianta.

Figure 8. Average *P. gigantea* occupied stump surface area depending on the treatment.

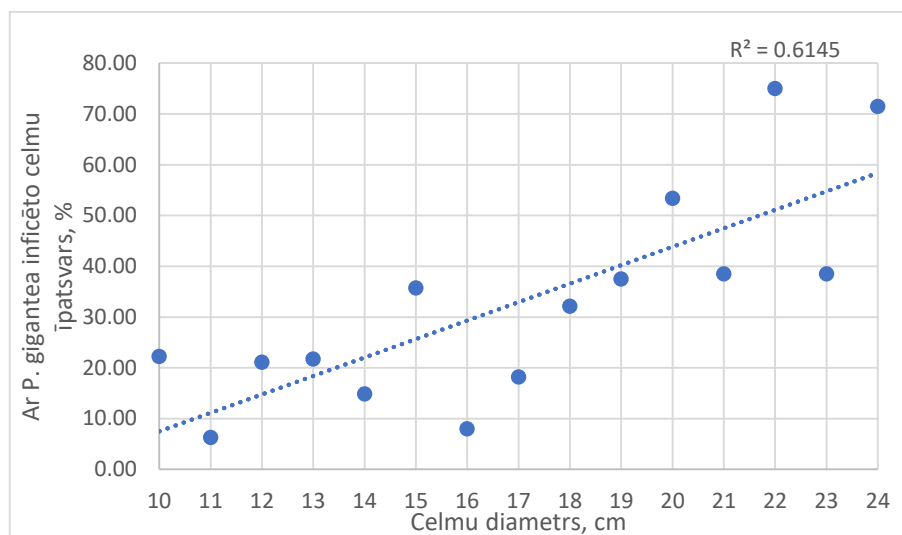
*P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars parauglaukumos bija vidēji 32,67 %. *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars būtiski atšķirās tikai pirmā parauglaukuma 1,1 un 1,1 standarta variantos ( $p=0,02$ ).



9. attēls. Ar *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars apstrādes variantos.

Figure 9. Frequency of *P. gigantea* colonized stumps depending on the treatment.

Celmu diametrs abos parauglaukumos starp variantiem būtiski neatšķīrās ( $p=0.52$ ). Lai noskaidrotu faktoru, kas ietekmēja vienāda diametra apstrādes variantu inficēšanos ar *P. gigantea*, tika veiktas korelācijas analīzes. Celmu inficēšanās ar *P. gigantea* pieauga, palielinoties celmu diametram. Korelācijas koeficients:  $R=0,784$  ( $R_{0,05;98}=0,199$  (Liepa, 1974)) (10. attēls).



10. attēls. *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars atkarībā no celmu diametra.

Figure 10. Frequency of *P. gigantea* colonized stumps in a relation to the spruce stump diameter.

*Heterobasidion* spp. inficēto celmu īpatsvars analizētajos apstrādes variantos variēja no 40 % līdz 93,33 %. Pirmajā parauglaukumā *Heterobasidion* spp. sastopamība celmos bija par 32 % augstāka nekā otrajā parauglaukumā. Inficēto celmu īpatsvars būtiski neatšķīrās pirmā parauglauma apstrādes variantos ( $p>0,05$ ). Otrajā parauglaukumā 1,1 mm apstrādes variantā inficēto celmu bija būtiski mazāk nekā 0,7 mm variantā (1. tabula).

Tabula 1. *Heterobasidion* spp. inficēto celmu īpatsvars. Varianti, kas apzīmēti ar dažādiem burtiem, būtiski atšķiras savā starpā.

Table 1. Frequency of *Heterobasidion* spp. infected trumps. Variants with different letters are significantly different.

Apstrādes variants	<i>Heterobasidion</i> spp. sastopamība, %			
	Parauglaukums 1		Parauglaukums 2	
0,5	90	a	43,33	ab
0,7	80	a	66,67	b
0,9	80	a	50	ab
1,1	76,67	a	40	a
1,1 St.	93,33	a	60	ab

Konstatēta statistiski būtiska pozitīva korelācija starp *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. inficētajiem celmiem, kur korelācijas koeficients ir  $R=0,173$  ( $R_{0,05;300}=0,113$  (Liepa, 1974)) ( $p=0,00263$ ).

Visu ievāktu *P. gigantea* paraugu genotipi no analizētajām egļu ripām sakrita ar 'Rotstop' sastāvā esošo *P. gigantea* genotipu – starp kultūru micēlijiem neveidojās demarkācijas zona.

### 3.2. Dažādas koncentrācijas *P. gigantea* preparātu efektivitāte

Dažādas koncentrācijas *P. gigantea* suspensiju efektivitāti un sēnes aizņemto laukumu egles un priedes blukšīšos novērtēja 3 un 8 cm dziļumā. *P. gigantea* sporu suspensiju koncentrācijas 1250 un 2500 sporas  $\text{mL}^{-1}$  apstrādes variantus salīdzināja ar ražotāju rekomendēto suspensijas sporu koncentrāciju 5000 sporas  $\text{mL}^{-1}$  pie būtiskuma līmeņa  $\alpha = 0,05$ .

#### 3.2.1. *P. gigantea* izolātu un *Heterobasidion* spp. attīstība priedes un egles koksnē

*P. gigantea* tika konstatēta visos ar preparātiem apstrādātajos sektoros, izņemot divus egles blukšīšus, kur PG 286 izolāts neieauga 8 cm dziļumā. *P. gigantea* inficēto paraugu īpatsvars būtiski neatšķīrās starp apstrādes variantiem ( $p>0,05$ ). Kontroles sektoros dabiskā *P. gigantea* infekcija netika konstatēta. *Heterobasidion* spp. inficēja visus analizētos egles blukšīšus un paraugos konstatēta abos pārbaudītajos dziļumos. Priedes koksnē *Heterobasidion* spp. konstatēta tikai ar izolātu PG 323 apstrādātajos sektoros 3 cm dziļumā. Nevienā no priedes blukšīšiem, arī ar *P. gigantea* neapstrādātajos sektoros, *Heterobasidion* spp. netika konstatēta 8 cm dziļumā (tabula 2).

Tabula 2. *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. inficēto priedes un egles bluķīšu īpatsvars 3 un 8 cm dziļumā.

Table 2. Frequency of *P. gigantea* and *Heterobasidion* spp. colonized spruce and pine stumps in 3 and 8 cm stump levels.

Koku suga	<i>P. gigantea</i> izolāts	Dziļums, cm	<i>P. gigantea</i> sastopamība, %			<i>Heterobasidion</i> spp. sastopamība, %			
			5000 sporas mL <sup>-1</sup>	2500 sporas mL <sup>-1</sup>	1250 sporas mL <sup>-1</sup>	5000 sporas mL <sup>-1</sup>	2500 sporas mL <sup>-1</sup>	1250 sporas mL <sup>-1</sup>	Kontrole
Egle	323	3	100	100	100	100	100	100	100
		8	100	100	100	100	100	100	100
	286	3	100	100	100	100	100	100	100
		8	85,71	85,71	100	100	100	100	100
Priede	323	3	100	100	100	14,29*	14,29*	14,29*	85,71
		8	100	100	100	0	0	0	0
	286	3	100	100	100	0**	0**	0**	71,43
		8	100	100	100	0	0	0	0

Varianti, kas atzīmēti ar \*, būtiski atšķirās no rekomendējamās sporu suspensijas koncentrācijas varianta (5000 sporu mL<sup>-1</sup>) \*p=0,03; \*\*p=0,002.

*P. gigantea* vidēji aizņemtais virsmas laukums egles koksne apstrādes variantos ar sporu koncentrāciju 5000, 2500 un 1250 sporas mL<sup>-1</sup> bija attiecīgi 24,41±17,4 %, 16,08±13,54 % un 9,6±10,56 %. Priedes koksne sēnes attīstība apstrādes variantos bija attiecīgi 70,28±9,31 %, 67,05±10,97 % un 55,29±10,25 %. Izolāta PG 323 vidēji aizņemtais laukums bija lielāks gan egles (23,5±16,5 %), gan priedes koksne (68,64±7,73 %) nekā PG 286 vidēji aizņemtais laukums (egle 9,9±10,09 % un priede 59,77±13,80 %). *P. gigantea* vidēji aizņemtais virsmas laukums nevienā no analizētajiem dziļumiem egles un priedes bluķīšos, kas apstrādāti ar sporu koncentrāciju 2500 sporas mL<sup>-1</sup>, būtiski neatšķirās no vidēji aizņemtā laukuma apstrādes variantā ar ražotāju rekomendēto sporu koncentrāciju 5000 sporas mL<sup>-1</sup> (p>0,05). Sēnes attīstība būtiski atšķirās izmantojot četras reizes mazāku koncentrāciju par rekomendēto visos apstrādātajos priedes bluķīšos abos analizētajos dziļumos un 3 cm dziļumā ar izolātu PG 286 apstrādātajos egles bluķīšos un 8 cm dziļumā ar izolātu PG 323 apstrādātajos egles bluķīšos (tabula 3).

Tabula 3. *P. gigantea* vidēji aizņemtais virsmas laukums egles un priedes blūķīšos.

Table 3. Average *P. gigantea* occupied area in spruce and pine wood.

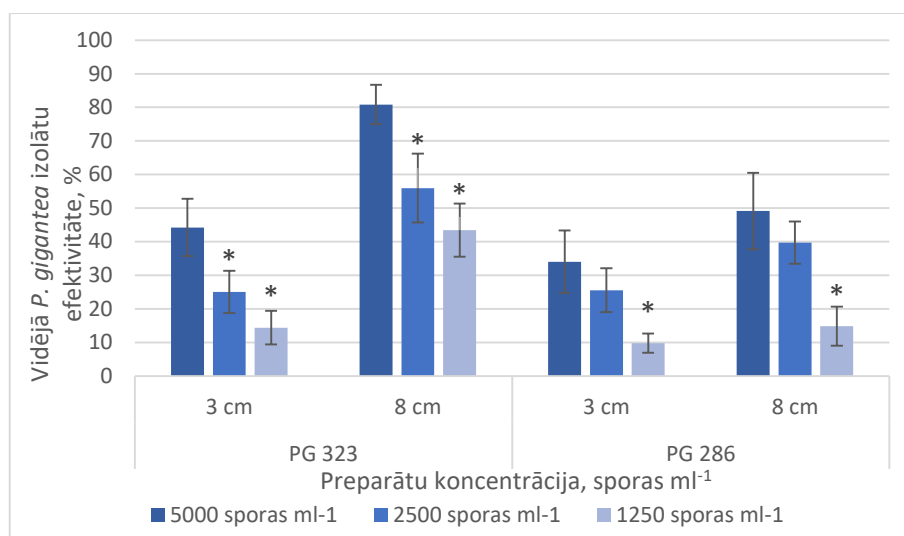
Koku suga	<i>P. gigantea</i> izolāts	Dziļums, cm	<i>P. gigantea</i> aizņemtais laukums, %		
			5000 sporas mL <sup>-1</sup>	2500 sporas mL <sup>-1</sup>	1250 sporas mL <sup>-1</sup>
Egle	PG 323	3	27,62	16,13	12,14
		8	41,7	24,9	18,47*
	PG 286	3	16,22	13,4	5,07*
		8	12,08	9,90	2,73
Priede	PG 323	3	72,92	69,72	58,86*
		8	74,55	73,61	62,2*
	PG 286	3	72,33	71,02	55,67*
		8	61,35	53,86	44,41*

Varianti, kas atzīmēti ar \*, būtiski atšķirās no rekomendējamās sporu suspensijas koncentrācijas varianta (5000 sporu mL<sup>-1</sup>).

### 3.2.2. *P. gigantea* preparātu efektivitāte priežu un egļu celmos

Efektivitāte ir rādītājs, kas parāda preparāta spēju ierobežot *Heterobasidion* spp. infekciju. Preparātu efektivitāte tiek aprēķināta ņemot vērā *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu apstrādātajos variantos un kontrolē. Vidējā preparātu efektivitāte egles koksne bija augstāka *P. gigantea* izolātam PG 323 (43,98±23,4 %) nekā izolātam PG 286 (28,83±15,01 %). *P. gigantea* labāk ierobežo *Heterobasidion* spp. priedes koksne, kur vidēji efektivitāte sasniedza 98,09±6,98 % nekā egles koksne, kur efektivitāte bija 36,4±26,99 %. Preparātu efektivitāte būtiski atšķirās apstrādes variantos (p=0,021).

Efektivitāte variantos ar sporu koncentrāciju 1250 sporas mL<sup>-1</sup> būtiski atšķirās no efektivitātes apstrādes variantos ar rekomendēto sporu koncentrāciju (kontroles) tikai egles koksne. Apstrādē ar izolātu PG 323 būtiskas atšķirības efektivitātē salīdzinot ar kontroli atzīmētas arī pie sporu koncentrācijas 2500 sporas mL<sup>-1</sup> (p<0,05) (11. attēls).

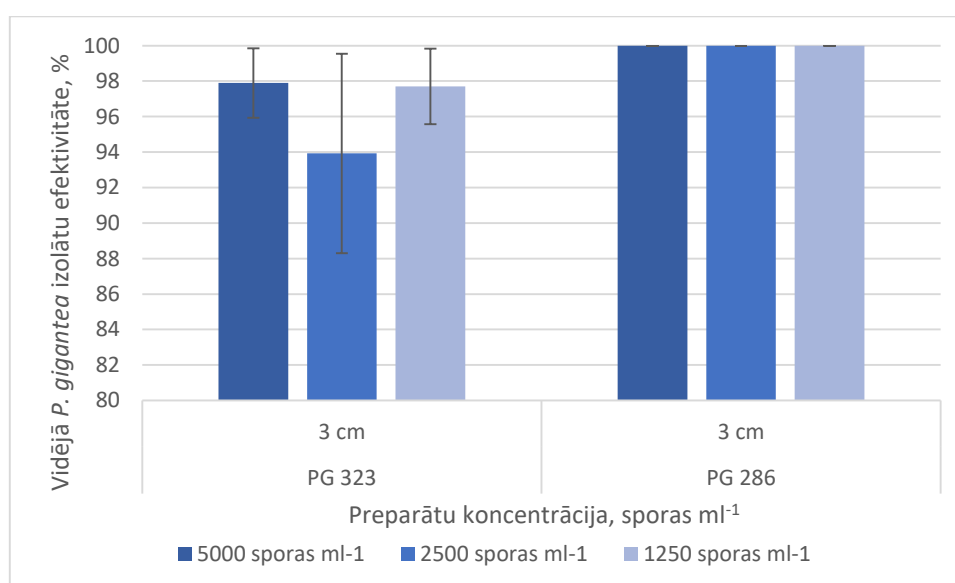


Variātos, kas atzīmēti ar \*, preparātu efektivitāte būtiski atšķiras no rekomendējamās sporu suspensijas koncentrācijas varianta (5000 sporu mL<sup>-1</sup>) ( $p < 0,05$ ).

11. attēls. Vidējā *P. gigantea* izolātu efektivitāte pret *Heterobasidion* spp. egles koksnē.

Figure 11. Average efficiency of *P. gigantea* isolates against *Heterobasidion* spp. in spruce wood.

Priedes koksnē 8 cm dziļumā *Heterobasidion* spp. infekcija kontroles sektoros nebija attīstījusies, tādēļ efektivitāti bija iespējams aprēķināt tikai 3 cm dziļumā. Priedes koksnē efektivitāte variēja no 93,93 % līdz 100 %. Visos ar izolātu PG 286 apstrādātajos priedes blūķišu sektoros efektivitāte sasniedza 100 %. Priedes koksnē netika konstatētas būtiskas atšķirības starp apstrādes variantiem ( $p > 0,05$ ) (12. attēls).



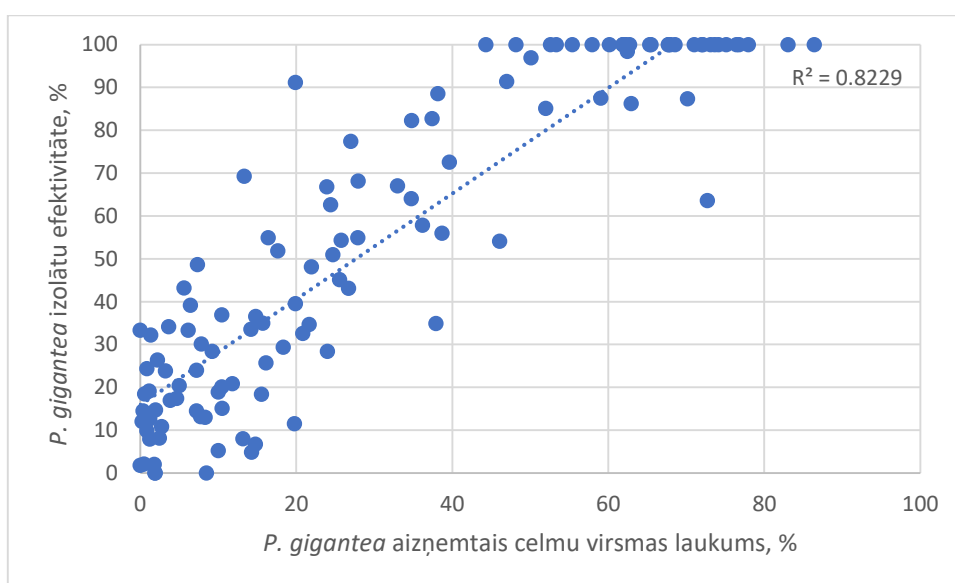
12. attēls. *P. gigantea* izolātu efektivitāte priedes koksnē

Figure 12. Efficiency of *P. gigantea* in pine wood

Statistiski cieša lineāri pozitīva korelācija pastāvēja starp *P. gigantea* aizņemto laukumu egles un priedes koksņē un apstrādē izmantotā preparāta koncentrāciju. Korelācijas koeficients eglei bija 0,398 ( $R_{0,05;84}=0,215$ ) un priedei 0,473 ( $R_{0,05;84}=0,215$ ).

Starp preparāta efektivitāti un sporu koncentrāciju suspensijā konstatēta statistiski būtiska lineāri pozitīva sakarība egles koksņē. Korelācijas koeficients: 0,468 ( $R_{0,05;84}=0,215$ ). Būtiska korelācija priedes koksņē netika konstatēta: 0,03 ( $R_{0,05;33}=0,34$ ).

Konstatēta cieša sakarība starp *P. gigantea* aizņemto laukumu un preparāta efektivitāti egles un priedes koksņē, statistiski būtiska lineāri pozitīva korelācija starp parametriem ar korelācijas koeficientu 0,91 ( $R_{0,05;117}=0,182$ ) (13. attēls).



13. attēls. Preparātu efektivitāte atkarībā no *P. gigantea* aizņemtā virsmas laukuma.

Figure 13. Relationship between treatment efficiency and *P. gigantea* occupied area.

## 4. DISKUSIJA

### 4.1. *P. gigantea* attīstība ar ‘Rotstop’ apstrādātos egļu celmos

Celmu apstrādes kvalitātei ir izšķiroša nozīme egļu celmu aizsardzībā. Ir pierādīts, ka nepilnīga celmu virsmas apstrāde ar preparātu būtiski samazina preparāta efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. (Berglund, 2005). Šobrīd izmantotajai mehāniskajai celmu apstrādei ir tehniski trūkumi, kas neļauj pilnvērtīgi veikt celmu aizsardzības pasākumus lielākās meža platībās (Pratt, 2001). J. Rönnerberg pētījumā (2006) egļu celmus apstrādāja manuāli (100% pārklājums, 5000 un 10000 sporu mL<sup>-1</sup>) un mehāniski (nepilnīgs celmu pārklājums, 20000 sporu mL<sup>-1</sup>). Rezultātā nepilnīga celmu apstrāde izrādījās salīdzinoši neefektīva, kas pierāda apstrādes kvalitātes nozīmīgumu celmu aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp. infekciju.

M. Petterssons (2013) savā darbā par celmu apstrādes kvalitāti izvirzīja pieņēmumu, ka paaugstinot apstrādes spiedienu, var uzlabot celmu pārklājumu ar preparātu. Samazinot caurumiņu diametru harvestera zāģa sliedē, izmainot caurumiņu savstarpējo attālumu un daudzumu būtu iespējams izmantīt spiedienu, ar kādu suspensija tiek izsmidzināta. Līdz šim ir pētīta nepilnīga celmu virsmas pārklājuma ar preparātu ietekme uz *P. gigantea* attīstību un efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. (Berglund, Rönnerberg, 2005). Ir veikti pētījumi par dažādu caurumiņu skaita harvestera zāģa sliedē ietekmi uz celmu pārklājumu ar preparātu (Kärhä et al., 2018). Taču nav pieejami pētījumi par to, kā dažāda diametra caurumi zāģa sliedē ietekmē celmu virsmas pārklājumu ar preparātu un tālāko *P. gigantea* attīstību koksne. Maģistra darba pētījumā tika novērtēta harvestera zāģa sliedes caurumu diametra ietekme uz celmu virsmas pārklājumu ar preparātu ‘Rotstop’, un analizēts *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. inficēto celmu īpatsvars un *P. gigantea* attīstība apstrādātajos celmos.

Mehāniskajā apstrādē tiek izmantotas zāģa sliedes ar caurumu diametru aptuveni 1-2 mm atkarībā no ražotāja (Pratt, 2001; Kärhä et al., 2018). Šajā darbā par standarta variantu izvēlējās AS “Latvijas valsts meži” parasti izmantoto zāģa sliedi ar 1,1 mm caurumu diametru. Novērojumi eksperimenta iekārtošanas laikā liecina, ka caurumu diametrs zāģa sliedē paaugstināja spiedienu, ar kādu preparāts tika izsmidzināts. Vizuāli salīdzinot zāģa sliedes darbībā, tika novērots, ka caur mazāka diametra caurumiem preparāts tika izsmidzināts sīkākākiem pilieniem un vienmērīgākā aerosola veidā nekā caur standarta 1,1 mm caurumiem. Tomēr otrajā parauglaukumā celmu apstrādes laikā, harvestera sliedes caurumi 0,5 mm diametrā sāka aizsērēt. Arī būtiskās atšķirības starp vienāda diametra 1,1 mm un 1,1 mm (standarta) apstrāžu variantiem liecina, ka celmu pārklājums varētu būt atkarīgs no citiem faktoriem, piemēram, zāģējuma virsmas vai celmu diametra un atšķirties individuāliem

celmiem, kā tas iepriekš konstatēts citos pētījumos (Berglund, Rönnerberg, 2004). Pirmajā parauglaukumā konstatēta pozitīva statistiski būtiska korelācija starp caurumiņu diametru un pārklājumu, kas izskaidro vien 4 % gadījumu. Rezultāti nav viennozīmīgi un neļauj rekomendēt mainīt šobrīd izmantoto zāģa sliedi ar 1,1 mm caurumiem.

*P. gigantea* attīstība būtiski neatšķīrās starp dažādiem apstrādes variantiem. Neskatoties uz augsto celmu virsmas pārklājumu ar 'Rotstop' preparātu (kas konstatēts tūlīt pēc celmu apstrādes), *P. gigantea* attīstība celmos bija ļoti vāja. Rezultāti sakrīt ar Zviedrijas pētījuma datiem, kur pēc 'Rotstop' apstrādes *P. gigantea* aizņemtais laukums variēja no 0,29-2,43 % (Rönnerberg *et al.*, 2006).

Ar *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars atšķīrās variantos ar vienādu zāģa sliedes caurumu diametru. Celmu inficētība ar *P. gigantea* ir atkarīga no daudziem faktoriem, tajā skaitā no celmu diametra. Pētījumos pierādīta pozitīva korelācija starp celmu diametru un inficēšanos ar *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. (Ēberliņa, 2016; Gunulf, 2013). Datu analīze apstiprināja sakarību starp celmu inficētību ar *P. gigantea* un celmu diametru. Tā kā visi analizētie celmi bija viena vecuma, tad celmus ar lielāku diametru raksturoja platākas gadskārtas. Celmi ar šaurām gadskārtām ir mazāk uzņēmīgi pret sēņu infekciju (Morrison, Johnson, 1999).

*Heterobasidion* spp. inficētajiem celmiem konstatēta korelācija ar *P. gigantea* inficētajiem celmiem. Tas apliecina to pašu faktoru ietekmi, piemēram celmu diametru, uz abām sēņu sugām (Korhonen, 2003). Tā kā *P. gigantea* aizņemtais laukums uz celma zāģējuma virsmas bija mazs, tad arī *Heterobasidion* spp. bija iespējams attīstīties, tādējādi abām sugām bija pietiekami daudz barības vielu un pieejamā substrāta (Mgbeahuruike *et al.*, 2011).

Visos pārbaudītajos paraugos *P. gigantea* genotips sakrita ar preparāta 'Rotstop' sastāvā esošo sēnes genotipu. Tas nozīmē, ka dabiskā *P. gigantea* infekcija mežaudzē bija neliela. Celmu apstrāde tika veikta septembrī, kad *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. sporulācijas aktivitāte samazinās (Brauners u.c. 2014).

#### **4.2. Dažādas koncentrācijas *P. gigantea* preparātu efektivitāte**

Šajā pētījumā tika salīdzināta dažādu *P. gigantea* sporu suspensiju koncentrāciju ietekme uz *P. gigantea* attīstību un efektivitāti *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanā priedes un egles koksne. Paraugu analīzes dziļums izvēlēts balstoties uz Rönnerberg *et al.* (2006) pētījumā izmantoto metodiku. Preparāta 'Rotstop' ražotāja rekomendētā sporu suspensijas koncentrācija celmu apstrādei ir 5000 sporu mL<sup>-1</sup>. Šī koncentrācija arī izmantota kā atskaites

koncentrācija, lai varētu salīdzināt datus, kas iegūti izmantojot suspensijas ar citu sporu koncentrāciju.

#### 4.2.1. *P. gigantea* sporu suspensiju efektivitāte egles koksnē

Eksperimentā izmantotajai preparātu koncentrācijai (1250, 2500 vai 5000 sporas mL<sup>-1</sup>) nebija būtiska ietekme uz blūķīšu inficētību ar *P. gigantea* egles koksnē. Blūķīšu sektoros, kurus apstrādāja ar preparātiem, *P. gigantea* attīstījās 85,71-100 % gadījumū. Zviedrijā veiktā līdzīgā pētījumā ar dažādām preparāta 'Rotstop' koncentrācijām *P. gigantea* inficēja mazāku egles blūķīšu skaitu – 63-71 % (Rönnerberg *et al.*, 2006).

Egles koksnē abi izmantotie *P. gigantea* izolāti PG 286 un PG 323 uzrādīja labus rezultātus koksnes inficēšanā un kolonizēšanā. Tikai divos paraugos izolāts PG 286 nerasniedza 8 cm dziļumu, kas būtiski neatšķīrās no citiem apstrādes variantiem. *P. gigantea* aizņemtais virsmas laukums egles koksnē bija lielāks (12,08-41,7 %) nekā līdzīgos pētījumos ar preparāta 'Rotstop' 5000 sporu mL<sup>-1</sup> koncentrācijas apstrādi (0,29-2,43 %) (Rönnerberg *et al.*, 2006). Bet citā pētījumā Latvijā analizētie vietējie izolāti ar tādu pašu sporu koncentrāciju aizņēma 22,09-44,15 % no egles koksnes virsmas laukuma (Saulīte, 2014). Tas liecina par vietējo izolātu izmantošanas perspektīvām. Berglund *et al.* (2005) uzsver, ka Zviedrijā preparāta 'Rotstop' sastāvā esošā Somijas izcelsmes *P. gigantea* izolāta efektivitāte ir zemāka nekā Somijā.

Egles koksnē *Heterobasidion* spp. konstatēts visos analizētajos paraugos 3 un 8 cm dziļumā. *Heterobasidion* spp. ir primārā egles koksnes kolonizētāja, un tās augšanas ātrums egles koksnē ir lielāks nekā priedes koksnē (Greig, 1998). Lai gan apstrāde ar preparātiem nepasargāja egļu celmus no inficēšanās, tomēr gan rekomendētās (5000 sporas mL<sup>-1</sup>), gan samazinātas sporu koncentrācijas (1250 un 2500 sporas mL<sup>-1</sup>) preparātu izmantošana, ierobežoja *Heterobasidion* spp. attīstību koksnē. Rezultāti atbilst iepriekš publicētām atziņām, ka preparātu lietošana samazina egles celmu inficētību, salīdzinot ar neapstrādātiem celmiem (Kallio, 1971; Korhonen *et al.*, 1994).

Abu izmantoto *P. gigantea* izolātu preparātu efektivitāte bija atšķirīga. Izolāts PG 323 uzrādīja labāku *Heterobasidion* spp. ierobežošanas spēju, taču divreiz mazāka koncentrācija būtiski samazināja efektivitāti. PG 286 izolāta 5000 sporu mL<sup>-1</sup> koncentrācijas efektivitāte bija zemāka, taču būtiski atšķīrās tikai četras reizes mazāka sporu daudzuma efektivitāte. Korhonen *et al.* (1994) ir konstatējis korelāciju starp *P. gigantea* preparāta efektivitāti un sporu daudzumu suspensijā. Arī mūsu pētījumā egles koksnē šī sakarība apstiprinājās, tāpēc egles celmu apstrādei nav rekomendēts izmantot samazinātas koncentrācijas preparātus.

#### 4.2.2. *P. gigantea* sporu suspensiju efektivitāte priedes koksne

*P. gigantea* attīstījās 100 % ar preparātiem apstrādātos blukīšu sektorus. *P. gigantea* ir augsta priedes koksnes inficēšanas spēja, jo sēne ir primārā priedes koksnes kolonizētāja (Rishbeth, 1951; Korhonen, 2003). Arī priedes koksne *P. gigantea* attīstībai ir konstatēta būtiska korelācija ar sporu suspensiju koncentrāciju, tomēr izmantojot 2500 sporu mL<sup>-1</sup> suspensiju, sēnes aizņemtais laukums būtiski neatšķīrās no apstrādes varianta ar rekomendēto sporu koncentrāciju. Apstrādes rezultātā ar koncentrāciju 1250 sporu mL<sup>-1</sup>, *P. gigantea* attīstība bija būtiski mazāka, bet preparātu efektivitāti tas neietekmēja. Šajā eksperimentā rezultāti apliecina augsto *P. gigantea* spēju kolonizēt priedes koksni un efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. infekciju (Pratt *et al.*, 2000).

Priedes koksne *Heterobasidion* spp. attīstās sliktāk nekā eglē. To pierāda sēnes sastopamība kontroles sektoros tikai 3 cm dziļumā, un tie paraugi, kuros sēne nerasniedza 8 cm dziļumu. Iegūtie rezultāti sakrīt ar citu pētījumu novērojumiem, ka priedes koksne ir dabiski (iespējams sveķu dēļ) vairāk pasargāta no *Heterobasidion* spp. inficēšanās, nekā egles koksne (Drenkhan *et al.*, 2008). Tomēr arī priedes koksnei ir nepieciešama apstrāde ar preparātiem, jo *P. gigantea* samazināja blukīšu inficētību vidēji par 71,43 %. Vairāki pētījumi apliecina, ka koksni nevajadzētu atstāt bez apstrādes ar preparātiem, jo pat nepilnīga apstrāde samazina *Heterobasidion* spp. attīstību koksne (Korhonen *et al.*, 1994; Rönning *et al.*, 2006)

Latvijā apstrādājot celmus ar preparātu 'Rotstop' vai vietējās izcelsmes *P. gigantea* izolātu preparātiem efektivitāte bieži sasniedz 100 % (Kenigvalde *et al.*, 2016). Priedes koksne efektivitātei netika konstatētas būtiskas atšķirības nevienā no apstrādes variantiem. Ja ilgtermiņā apstiprinātu pētījuma rezultātus, Latvijas apstākļos varētu izmantot samazinātas koncentrācijas *P. gigantea* preparātus priežu celmu apstrādē un saglabāt augstu efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. infekciju.

#### 4.2.3. Vietējo izolātu efektivitāte pret *Heterobasidion* spp.

Vairākos pētījumos Zviedrijā somu preparāts 'Rotstop' uzrādīja zemāku efektivitāti nekā Somijā, kas liecināja par nepieciešamību Zviedrijā uzākt preparātu izveidi, kuru sastāvā būtu vietējie *P. gigantea* izolāti (Berglund *et al.*, 2005).

Vietējo izolātu efektivitātes pārbaude celmu aizsardzībā ir nozīmīgs kritērijs jauna preparāta izveidei. Mūsu eksperimentam tika izvēlēti divi *P. gigantea* izolāti, kuri iegūti no egles koksnes. Abiem *P. gigantea* izolātiem iepriekšējos eksperimentos pārbaudīts augšanas ātrums koksne un sporu producēšanas kapacitāte.

Izolāta PG 323 vidēji aizņemtais laukums bija lielāks gan egles, gan priedes koksņē (attiecīgi  $23,5 \pm 16,5$  % un  $68,64 \pm 7,73$  %) nekā PG 286 vidēji aizņemtais laukums (attiecīgi  $9,9 \pm 10,09$  % un  $59,77 \pm 13,80$  %). Iegūtie rezultāti iepriekš veiktos eksperimentos šiem pašiem izolātiem 2015. gadā antagonisma pārbaudē pret *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekciju parādīja, ka izolāts PG 323 aizņēma būtiski lielāku laukumu egles un priedes koksņē (attiecīgi  $46,75 \pm 7,01$  % un  $66,06 \pm 3,89$  %), salīdzinot ar PG 286 (attiecīgi  $9,81 \pm 2,56$  % un  $3,89 \pm 1,13$  %) (LZP grants, 2015). Izolātam PG 286 konstatēta ievērojami augstāka sporu veidošanas kapacitāte, nekā PG 323 (attiecīgi 125,5 milj. un 86,3 milj. sporas Petri platē). Sun *et al.* (2009) pētījumā konstatēta negatīva korelācija starp izolāta sporu veidošanas daudzumu un augšanas ātrumu. Svarīga pazīme *P. gigantea* izolātu efektivitātei ir augšanas ātrums, ne tikai radiāli, bet arī dziļumā (Holdenrieder, Greig, 1998). Izolāta PG 323 vidēji aizņemtais laukums 8 cm dziļumā priedes koksņē bija lielāks nekā 3 cm dziļumā.

Egles koksņē izolāts PG 323 uzrādīja augstāku efektivitāti aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp. infekciju, lielāku inficēšanas spēju un aizņemto laukumu nekā izolāts PG 286. Iepriekš veiktajos citos eksperimentos 2015. gadā reģistrēta šāda izolātu vidējā efektivitāte: 87,85% izolātam PG 323 un 21,57% izolātam PG 286 (LZP grants, 2015). Maģistra darba ievaros veiktā pētījumā abu izolātu divreiz mazāka sporu suspensijas koncentrācija par rekomendēto ne egles, ne priedes koksņē efektivitāti būtiski nesamazināja.

Dabiskā *P. gigantea* infekcija kontroles sektoros netika konstatēta. Nav izslēgta dabiskā *P. gigantea* attīstība ar preparātiem apstrādātajos sektoros, tomēr Rönnerberg *et al.* (2006) atzīmē, ka dabiskajām sporām nokļūstot uz apstrādātajiem koksnes laukumiem nevajadzētu būtiski ietekmēt eksperimenta rezultātus.

Šajā eksperimentā blūķīši tika novietoti tiešā *Heterobasidion* spp. auglķermeņu tuvumā. Auglķermeņi bija pietiekams sporu avots, lai veiksmīgi novērtētu *P. gigantea* suspensiju efektivitāti. Šādos eksperimentos ar efektivitātes noteikšanu svarīga ir pietiekama *Heterobasidion* spp. infekcija (Gaitnieks, 2014; Rönnerberg *et al.*, 2006). Citos apstākļos, ja *Heterobasidion* spp. sporu daudzums gaisā būtu mazāks, preparātu efektivitāte iespējams paaugstinātos.

Šajā darbā koksnes apstrāde tika veikta manuāli, taču parasti celmu apstrādi galvenokārt veic mehānizēti (Thor, 2001). Preparātu efektivitāte var samazināties, ja mehānizētas apstrādes rezultātā celmu virsmas pārklājums būs nepilnīgs (Berglund, Rönnerberg, 2004; Rönnerberg *et al.*, 2006).

Pētījumos Somijā par *P. gigantea* sporu suspensiju koncentrāciju noskaidrots, ka lai sasniegtu līdzvērtīgu egles celmu aizsardzību kā priedes, ir nepieciešama 5-10 reizes augstāka sporu koncentrācija (Kallio, Hallaksela, 1979). Šajā pētījuma netika veikta augstākas koncentrācijas suspensiju pārbaude.

Izvēlētā PG 323 izolāta efektivitāte egles koksnē parādīja, ka arī vietējās izcelsmes *P. gigantea* izolāti varētu tikt sekmīgi izmantoti celmu apstrādē. Turpmākajā darbā, lai noskaidrotu optimālāko sporu koncentrāciju celmu apstrādei, būtu nepieciešams veikt eksperimentus ar augstākas koncentrācijas preparātiem.

## SECINĀJUMI

1. *P. gigantea* sastopamība celmos bija atkarīga no celmu diametra, bet celmu virsmas pārklājumu ar preparātu 'Rotstop' ietekmēja zāģa sliedes caurumu diametrs.
2. 'Rotstop' sastāvā esošās *P. gigantea* attīstība celmos bija ļoti vāja – vidēji 2 % no celmu virsmas.
3. Iegūtie rezultāti neļauj rekomendēt mainīt sliedes caurumu diametru apstrādes kvalitātes uzlabošanai.
4. Egles koksnē samazinot sporu suspensijas koncentrāciju, samazinājās *P. gigantea* preparātu efektivitāte.
5. Priedes koksnē preparātu efektivitāte bija 94-100 % un to neietekmēja *P. gigantea* sporu koncentrācija.
6. Vietējās izcelsmes *P. gigantea* izolāts PG 323 arī egles koksnē uzrādīja augstu efektivitāti pret *Heterobasidion* spp. infekciju – 44 %.

## PATEICĪBAS

Izsaku pateicību darba vadītājiem Dr. silv. Tālim Gaitniekam un Dr. biol. Vizmai Nikolajevai par iespēju izstrādāt maģistra darbu, zināšanām un padomiem.

Īpaši pateicos Mg. biol. Kristīnei Kenigshaldei par dalīšanos ar zināšanām, atbalstu, palīdzību un padomiem visos maģistra darba posmos.

Pateicos Bc. biol. Agritai Kenigshaldei, Mg. biol., Mg. silv. Astrai Zaļumai, Mg. biol. Laumai Brūnai un Bc. biol. Lienei Dārtai Lukstiņai par praktisku palīdzību darba izpildē.

Pateicos AS "Latvijas valsts meži" mežizstrādes tehnoloģiju ekspertam Mārim Neiciniekam un kvalitātes kontroles menedžerim Kasparam Inkinam par harvestera zāģa sliežu sagatavošanu un palīdzību eksperimenta ierīkošanā mežā.

Par finansiālo atbalstu pateicos Latvijas Zinātnes padomes granta Nr.426/2012 "*Heterobasidion* spp. izraisītās sakņu trapes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums" un somu kompānijas "Verdera Oy" sadarbības projektiem, Valsts pētījumu programmas ResProd, Meža nozares kompetences centra projekta nr. 1.2.1.1/16/A/009 "Sakņu piepes izraisītās sporu infekcijas ierobežošana skuju koku audzēs" un AS "Latvijas valsts meži" finansētajam projektam Nr. 5-5.5\_0004\_101\_16\_4 "Sakņu trapes izplatību ierobežojošo faktoru izpēte".

## LITERATŪRAS SARAKSTS

Adomas, A., Eklund, M., Johansson, M., Asiegbu, F. O. (2006). Identification and analysis of differentially expressed cDNAs during nonself-competitive interaction between *Phlebiopsis gigantea* and *Heterobasidion parviporum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 57(1), 26-39.

Anonīms (2014). Valsts augu aizsardzības dienests.

[http://www.vaad.gov.lv/files/tblAAL\\_pamatdati/373/Markejums/RotstopCLP.pdf](http://www.vaad.gov.lv/files/tblAAL_pamatdati/373/Markejums/RotstopCLP.pdf)

Arhipova, N., Gaitnieks, T., Donis, J., Stenlid, J., Vasaitis, R. (2011). Butt rot incidence, causal fungi, and related yield loss in *Picea abies* stands of Latvia. *Canadian journal of forest research*, 41(12), 2337-2345.

Asiegbu, F.O., Adomas, A., Stenlid, J. (2005). Conifer root and butt rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. s.l.. *Molecular Plant Pathology*, vol. 6(4), pp. 395- 409.

Berglund, M. (2005). Infection and growth of *Heterobasidion* spp. in *Picea abies*. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, vol. 2005, No. 36.

Berglund, M., and J. Rönnerberg. (2004) "Effectiveness of treatment of Norway spruce stumps with *Phlebiopsis gigantea* at different rates of coverage for the control of *Heterobasidion*." *Forest Pathology* 34.4: 233-243.

Berglund, M., Rönnerberg, J., Holmer, L., Stenlid, J. (2005). Comparison of five strains of *Phlebiopsis gigantea* and two *Trichoderma* formulations for treatment against natural *Heterobasidion* spore infections on Norway spruce stumps. *Scandinavian Journal of Forest Research*, vol. 20(1), pp. 12-17.

Brandtberg, P. O., Johansson, M., Seeger, P. (1996). Effects of season and urea treatment on infection of stumps of *Picea abies* by *Heterobasidion annosum* in stands on former arable land. *Scandinavian journal of forest research*, 11(1-4), 261-268.

Brauners, I., Brūna, L., Gaitnieks, T. (2014). Testing the 'Rotstop' biological preparation for controlling *Heterobasidion* root rot in Latvia. *Research for rural Development*, 2, 97.

Cleary, M.R., Arhipova, N., Morrison, D.J., Thomson, I.M., Sturrock, R.N., Vasaitis, R., Gaitnieks, T., Stenlid, J. (2013). Stump removal to control root disease in Canada and Scandinavia: A synthesis of results from long-term trials. *Forest Ecology and Management*, vol. 290, pp. 5-14.

Dix N. J., Webster J. (1995). *Fungal ecology*. London, UK: Chapman & Hall.

Drenkhan, T., Hanso, S. I. L. J. A., Hanso, M. Ä. R. T. (2008). Effect of the stump treatment with *Phlebiopsis gigantea* against *Heterobasidion* root rot in Estonia. *Baltic Forestry*, 14(1), 16-25.

- Ēberliņa, A. (2016). *Phlebiopsis gigantea* attīstība maza diametra skuju koku celmos. Maģistra darbs. Rīga, Latvijas Universitāte, 45 lpp.
- Gaitnieks T., Brauners I., Kenigshalde K., Zaļuma A., Brūna L., Jansons J., Burņeviča N., Lazdiņš A., Vasaitis R. (2018). Infection of pre-commercially cut stumps of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* by *Heterobasidion* spp. – a comparative study. *Silva Fennica* vol. 52.
- Gaitnieks, T. (2014). *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül. nozīme *Heterobasidion annosum* s.l. izraisītās sakņu trupes izplatības ierobežošanā // Jansons, J. (red.) Četri mežzinātņu motīvi. Salaspils: LVMI Silava, DU AA Saule, 107.–133. Lpp
- Gaitnieks, T., Arhipova, N., Donis, J., Stenlid, J., Vasaitis, R. (2007). Butt rot incidence and related losses in Latvian *Picea abies* (L.) Karst. stands. In Proceedings of the 12th International Conference on Root and Butt Rots of Forests Trees, Berkley, California–Medford, Oregon (pp. 12-19).
- Garbelotto, M., Gonthier, P. (2013). Biology, epidemiology, and control of *Heterobasidion* species worldwide. *Annual review of phytopathology*, 51, 39-59.
- Greig B. J. W. (1998). Field Recognition and Diagnosis of *Heterobasidion annosum*. In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 35 – 41
- Gunulf, A., (2013). Establishment of Infections in Young Norway Spruce Dominated Stands Implications for Silviculture. Swedish University of Agricultural Sciences. p. 50.
- Gunulf, A., Wang, L., Englund, J.E. Rönnberg, J., 2013. Secondary spread of *Heterobasidion parviporum* from small Norway spruce stumps to adjacent trees. *Forest Ecology and Management*, 287, pp.1–8.
- Gžibovska Z. (2016). Skuju koku celmu sezonālā inficētība ar lielo pergamentsēni *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül. un sakņu piepi *Heterobasidion* spp. Maģistra darbs. Jelgava, Latvijas Lauksaimniecības universitāte, 68 lpp.
- Hellgren, M. B., Stenlid, J. (1995). Long-term reduction in the diameter growth of butt rot affected Norway spruce, *Picea abies*. *Forest ecology and management*, 74(1), 239-243.
- Holdenrieder, O., Greig, B. (1998). Biological control of *Heterobasidion annosum*. In *Heterobasidion annosum* (pp. 235-258). CAB International, 1998.
- Ikeduogwu, F. E. O., Dennis, C., & Webster, J. (1970). Hyphal interference by *Peniophora gigantea* against *Heterobasidion annosum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 54(2), 307IN12-309.

Johansson, S. M., Pratt, J. E., & Asiegbu, F. O. (2002). Treatment of Norway spruce and Scots pine stumps with urea against the root and butt rot fungus *Heterobasidion annosum*—possible modes of action. *Forest ecology and management*, 157(1), 87-100.

Kallio, T. (1970). Aerial distribution of the root-rot fungus *Fomes annosus* (Fr.) Cooke in Finland.

Kallio, T. (1971). Protection of spruce stumps against *Fomes annosus* (Fr.) Cooke by some wood-inhabiting fungi.

Kallio, T., & Hallarsela, A. M. (1979). Biological control of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. (*Fomes annosus*) in Finland. *Forest Pathology*, 9(5), 298-308.

Kärhä, K., Koivusalo, V., Palander, T., & Ronkanen, M. (2018). Treatment of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* Stumps with Urea and *Phlebiopsis gigantea* for Control of *Heterobasidion*. *Forests*, 9(3), 139.

Kenigšvalde K. (2011). *Phlebiopsis gigantea* un *Trichoderma* spp. suspensijas efektivitāte pret *Heterobasidion annosum* s.l. sporu infekciju koksnē. Maģistra darbs. Rīga, Latvijas Universitāte, 78 lpp.

Kenigšvalde, K., Arhipova, N., Klavina, D., Zaluma, A., Gruduls, K., Actins, A., & Gaitnieks, T. (2013). Biological control of coniferous stumps against root and butt rot using Latvian *Phlebiopsis gigantea* strains.

Kenigšvalde, K., Brauners, I., Korhonen, K., Zaļuma, A., Mihailova, A. & Gaitnieks, T. (2015). Evaluation of the biological control agent Rotstop in controlling the infection of spruce and pine stumps by *Heterobasidion* in Latvia. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 1–8.

Kenigšvalde, K., Donis, J., Korhonen, K., & Gaitnieks, T. (2011). *Phlebiopsis gigantea* skujkoku celmu bioloģiskajā aizsardzībā pret *Heterobasidion annosum* sl izraisīto sakņu trupi-literatūras apskats. Biological control of *Heterobasidion* root rot of coniferous stumps by *Phlebiopsis gigantea*-literature review]. *Mežzinātne*, 23(56), 25-40.

Korhonen, K. (1978). Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Metsäntutkimuslaitoksen julkaisu* 94(6), 1–25.

Korhonen, K. (2003). Simulated stump treatment experiments for monitoring the efficacy of *Phlebiopsis gigantea* against *Heterobasidion* infection. In *Root and butt rots of forest trees*. 10th International Conference on Root and Butt Rots. Natural Resources Canada, Canadian Forest Service. Sainte-Foy, Quebec, Canada./Ed. Laflamme, G., Berube, JA & Bussières, G.. CA.

Korhonen, K. Holdenrieder, O. (2005). Neue Erkenntnisse über den Wurzelschwamm (*Heterobasidion annosum* s.l.). *Forst und Holz* 5, 206–211.

Korhonen, K., Capretti, P., Karjalainen, R., Stenlid, J. (1998). Distribution of *Heterobasidion* intersterility groups in Europe. – In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hütermann, A. (eds.) *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. CAB International, Wallingford, UK, 93–104.

Korhonen, K., Liponen, K., Bendz, M., Johansson, M., Ryen, I., Venn, K., Seiskari, P., Niemi, M. (1994). Control of *Heterobasidion annosum* by stump treatment with ‘Rotstop’, a new commercial formulation of *Phlebiopsis gigantea*. – In: Johansson, M., Stenlid, J. (eds.). Root and butt rots: proceedings of the IUFRO Working Party S2.06.01, Wik, Sweden and Haikko, Finland, August 9–16, 1993. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 675–685

Korhonen, K., Stenlid, J. (1998). Biology of *Heterobasidion annosum*. – In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hütermann, A. (eds.) *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. CAB International, Wallingford, UK, 43–70.

Leonowicz A., Gianfreda L., Rogalski J., Jaszek M., Luterek J., Wojtas-Wasilewska M., Malarczyk E., Dawidowicz A., Fink-Boots M., Ginalska G., Staszczak M., Cho N.S. (1997). Appearance of laccase in wood-rotting fungi and its inducibility. - J. Kor. Wood Sci. Technol., 25: 29-36.

Liepa I. (1974). „Biometrija”, Rīga: Zvaigzne, 336 lpp.

LZP grants Nr.426/2012 (2015). Zinātniskais pārskats “*Heterobasidion* spp. izraisītās sakņu trupes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums”.

Mgbeahuruike, A. C., Sun, H., Fransson, P., Kasanen, R., Daniel, G., Karlsson, M., & Asiegbu, F. O. (2011). Screening of *Phlebiopsis gigantea* isolates for traits associated with biocontrol of the conifer pathogen *Heterobasidion annosum*. *Biological Control*, 57(2), 118-129.

Mitchelson, K., Korhonen, K. (1998). Diagnosis and differentiation of intersterility groups. – In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hütermann, A. (eds.) *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. CAB International, Wallingford, UK, 71–92.

Morrison, D. J., & Johnson, A. L. S. (1999). Incidence of *Heterobasidion annosum* in precommercial thinning stumps in coastal British Columbia. *Forest Pathology*, 29(1), 1-16.

Müller, R. (2015). Evaluating the persistence of *Phlebiopsis gigantea* in Norway spruce stumps after root rot protection treatment in a subalpine forest in Tyrol. Master thesis.

Nicolotti, G., & Gonthier, P. (2005). Stump treatment against *Heterobasidion* with *Phlebiopsis gigantea* and some chemicals in *Picea abies* stands in the western Alps. *Forest Pathology*, 35(5), 365-374.

Oliva, J., Messal, M., Wendt, L., & Elfstrand, M. (2017). Quantitative interactions between the biocontrol fungus *Phlebiopsis gigantea*, the forest pathogen *Heterobasidion annosum* and the fungal community inhabiting Norway spruce stumps. *Forest Ecology and Management*, 402, 253-264.

Oliva, J., Thor, M., Stenlid, J. (2010). Long term effects of mechanized stump treatment against *Heterobasidion annosum* s.l. root rot in *Picea abies*. *Canadian Journal of Forest Research*, vol. 40, pp. 1020-1033

Pettersson M. and Rönnerberg J. 2001. Growth of inoculated *Heterobasidion annosum* in roots of *Picea abies* – effects of thinning and stump treatment with *Phlebiopsis gigantea*. In: Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 155 – 159.

Pettersson, M. 2013. Stump treatment with the root rot antagonist *Phlebiopsis gigantea*: - sensitivity of *P. gigantea* spores to high pressure stress; - reduced water consumption for stump treatment. Second cycle, A2E. Alnarp: SLU, Southern Swedish Forest Research Centre

Pettersson, M., Rönnerberg, J., Vollbrecht, G., & Gemmel, P. (2003). Effect of thinning and *Phlebiopsis gigantea* stump treatment on the growth of *Heterobasidion parviporum* inoculated in *Picea abies*. *Scandinavian journal of forest research*, 18(4), 362-367.

Piri, T. (2003). Silvicultural control of *Heterobasidion* root rot in Norway spruce forests in southern Finland: regeneration and vitality fertilization of infected stands.

Prasher, I. B. (2015). Wood-rotting non-gilled Agaricomycetes of Himalayas. Springer.

Prasher, I. B., & Kumar, R. (2017). Nutritional characteristics and physiological studies on the growth and development of *Phlebiopsis gigantea*. *Current Botany*, 8.

Pratt, J. (2001). Stump treatment against *Fomes*. *Forest Research: Annual Report and Accounts*, 2002, 76-85.

Pratt, J. E., Niemi, M., & Sierota, Z. H. (2000). Comparison of three products based on *Phlebiopsis gigantea* for the control of *Heterobasidion annosum* in Europe. *Biocontrol science and technology*, 10(4), 467-477.

Rishbeth J. (1959). Dispersal of *Fomes annosus* Fr. and *Peniophora gigantea* (Fr.) Masee. *Transactions of the British Mycological Society* 42, 243-260.

Rishbeth, J. (1950). Observations on the Biology of *Fomes annosus*, with Particular Reference to East Anglian Pine Plantations: I. The Outbreaks of Disease and Ecological Status of the Fungus. *Annals of botany*, 14(55), 365-383.

Rishbeth, J. (1951). Observations on the biology of *Fomes annosus*, with particular reference to East Anglian pine plantations: III. Natural and experimental infection of pines, and some factors affecting severity of the disease. *Annals of botany*, 15(2), 221-246.

- Rishbeth, J. (1963). Stump protection against *Fomes annosus*. *Annals of applied Biology*, 52(1), 63–77.
- Roy, G., Cormier, M., Dessureault, M., & Hamelin, R. C. (1997). Comparison of RAPD technique and somatic incompatibility tests for the identification of *Phlebiopsis gigantea* strains. *Canadian journal of botany*, 75(12), 2097-2104.
- Rönnerberg, J., Sidorov, E., Petrylaite, E. (2006). Efficacy of different concentrations of Rostop® F and Rostop® S and imperfect coverage of Rotstop® S against *Heterobasidion* s.l. spore infections on *Norway spruce* stumps. *Forest Pathology*, 36, 422-433.
- Saulīte, D. (2014). Skujkoku celmu aizsardzība pret *Heterobasidion annosum* sl, izmantojot Latvijas izcelsmes *Phlebiopsis gigantea* un *Trichoderma* spp. sēņu izolātus. Maģistra darbs. Rīga, Latvijas universitāte, 83 lpp.
- Sidorov, E. (2006). Efficacy of different concentrations of Rotstop® and RotstopS and imperfect cover of RotstopS against *Heterobasidion* spp. infections on *Norway spruce* stumps.
- Sun, H., Korhonen, K., Hantula, J. & Kasanen, R. (2009). Variation in properties of *Phlebiopsis gigantea* related to biocontrol against infection by *Heterobasidion* spp. in Norway spruce stumps. *Forest Pathology*, 39(2), 133–144.
- Sun, H., Korhonen, K., Hantula, J., Asiegbu, F. O., & Kasanen, R. (2009). Use of a breeding approach for improving biocontrol efficacy of *Phlebiopsis gigantea* strains against *Heterobasidion* infection of Norway spruce stumps. *FEMS microbiology ecology*, 69(2), 266-273.
- Swanwick, S. (2007). Ecophysiology and production of the biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea*.
- Thor, M. (2005). *Heterobasidion* root rot in Norway spruce. Vol. 2005, No. 5.
- Thor, M., Arlinger, J. D. & Stenlid, J. (2006). *Heterobasidion annosum* root rot in *Picea abies*: Modelling economic outcomes of stump treatment in Scandinavian coniferous forests. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 21:5, 414-423.
- Thor, M., & Stenlid, J. (2005). *Heterobasidion annosum* infection of *Picea abies* following manual or mechanized stump treatment. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 20(2), 154-164.
- Thor, M., Bendz-Hellgren, M., & Stenlid, J. (1997). Sensitivity of root rot antagonist *Phlebiopsis gigantea* spores to high temperature or pressure. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 12(4), 356-361.
- Tubby KV, Scott D & Webber JF (2008). Relationship between stump treatment coverage using the biological control product PG Suspension, and control of *Heterobasidion annosum* on Corsican pine, *Pinus nigra* ssp. *laricio*. *Forest Pathol* 38: 37–46.

Vainio, E. J., Hallaksela, A. M., Lipponen, K., & Hantula, J. (2005). Direct analysis of ribosomal DNA in denaturing gradients: application on the effects of *Phlebiopsis gigantea* treatment on fungal communities of conifer stumps. *Mycological research*, 109(1), 103-114.

Vainio, E. J., Lipponen, K., & Hantula, J. (2001). Persistence of a biocontrol strain of *Phlebiopsis gigantea* in conifer stumps and its effects on within-species genetic diversity. *Forest Pathology*, 31(5), 285-295.

Vasiliauskas, R., Larsson, E., Larsson, K. H., & Stenlid, J. (2005). Persistence and long-term impact of Rotstop biological control agent on mycodiversity in *Picea abies* stumps. *Biological Control*, 32(2), 295-304.

Vasiliauskas, R., Lygis, V., Thor, M., & Stenlid, J. (2004). Impact of biological (Rotstop) and chemical (urea) treatments on fungal community structure in freshly cut *Picea abies* stumps. *Biological control*, 31(3), 405-413.

Vasiliauskas, R., Menkis, A., Finlay, R. D., & Stenlid, J. (2007). Wood-decay fungi in fine living roots of conifer seedlings. *New Phytologist*, 174(2), 441-446.

Vollbrecht, G., Gemmel, P. & Pettersson, N., 1995. The effect of precommercial thinning on the incidence of *Heterobasidion annosum* in planted *Picea abies*. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 10, pp.37–41.

Webber J. and Thorpe K. (2001). Potential for biological control of *Heterobasidion annosum* in the UK using Rotstop. In: Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 221 – 225.

Woodward, S., & Boddy, L. (2008, December). Interactions between saprotrophic fungi. In *British Mycological Society Symposia Series* (Vol. 28, pp. 125-141). Academic Press.

Zhao, A. (2013). Effects of temperature and *Heterobasidion* species on the biological control efficacy of *Phlebiopsis gigantea*. Uppsala: SLU, Dept. of Forest Mycology and Plant Pathology.

Василяускас, А. П. (1989). Корневая губка и устойчивость экосистем хвойных лесов. Вильнюс: Мокслас. 174 с.

Maģistra darbs „*Phlebiopsis gigantea* attīstība un antagonisms pret *Heterobasidion* spp. parastās egles un priedes koksne” izstrādāts LVMI „Silava” Meža fitopatoloģijas un mikoloģijas nodaļā un LU Bioloģijas fakultātē

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Elīna Anna Brauna

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītāji: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

Dr. biol. Vizma Nikolajeva

Recenzents: Dr. biol. Olga Mutere

Darbs iesniegts Bioloģijas fakultātē

Metodiķe:

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē

01.06.2018. prot. Nr.:

Vērtējums: