

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
AUGU FIZIOLOĢIJAS KATEDRA

CELMU AUGSTUMA IETEKMES NOVĒRTĒJUMS UZ
SAKŅU PIEPES *HETEROBASIDION* SPP. UN
LIELĀS PERGAMENTSĒNES *PHLEBIOPSIS GIGANTEA*
ATTĪSTĪBU MAZA DIAMETRA PRIEŽU KOKSNĒ

Maģistra darbs

Autore: Liene Dārta Lukstiņa

Stud. apl. Nr. Il 17095

Darba vadītājs: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

Rīga 2020

KOPSAVILKUMS

Heterobasidion annosum (Fr.) Bref s.l. sakņu trupe Eiropas Savienībā katru gadu izraisa ievērojamus ekonomiskos zaudējumus – aptuveni 790 miljonus eiro. Lai ierobežotu trapes izplatību Latvijā skuju koku celmi diametrā virs 10 cm tiek apstrādāti ar bioloģiskiem preparātiem, kas satur lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* sporas. Līdzšinējos pētījumos konstatēts, ka dabiskā *P. gigantea* nevar efektīvi ierobežot *Heterobasidion* spp. izplatību.

Lai noteiktu *Heterobasidion* spp. un dabiskās *P. gigantea* attīstību maza diametra, dažādu augstumu priežu celmos, trīs parauglaukumos analizēti 300 celmi diametrā no 4 līdz 10 cm: puse no tiem 15 cm augsti un puse 50 cm augsti; 120 celmi apstrādāti ar *Heterobasidion* spp. sporu suspensiju un 180 celmi atstāti neapstrādāti, dabiskai *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* infekcijai. Lai analizētu micēlija attīstību, no visiem celmiem ievāca paraugus, tos sazāģējot līdz sakņu kaklam divus līdz četrus cm biezās ripās.

Pētījumā konstatēts, ka dabiskās *P. gigantea* infekcija bija būtiski vairāk izplatīta nekā *Heterobasidion* spp. – tikai 3% celmu (gan apstrādāto gan neapstrādāto) pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda bija konstatējams dzīvotspējīgs *Heterobasidion* spp. micēlijs, bet dabiskā *P. gigantea* bija attīstījusies 39% celmu. Līdz ar to secināts, ka dabiskā *P. gigantea* ir nozīmīgs faktors *Heterobasidion* spp. ierobežošanā maza diametra priežu celmos.

Celmu augstums būtiski neietekmēja dabiskās *P. gigantea* attīstību, taču būtiska ietekme bija inkubācijas periodam. Salīdzinājumā ar rezultātiem, ko ieguva pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda, pēc 28 mēnešiem *P. gigantea* aizņemtais laukums celmos bija būtiski mazāks.

P. gigantea konstatēta 72 celmos, kuru augstums bija 50 cm un 47 celmos, kuru augstums 15 cm – 62,5 % analizēto 50 cm augsto celmu un 76,0% 15 cm augsto celmu *P. gigantea* micēlijs izplatījies līdz sakņu kaklam. No visiem celmiem, kuros konstatēta *P. gigantea* (n=115), 62,5 % 50 cm augsto celmu un 76,0% 15 cm augsto celmu micēlijs izplatījies līdz sakņu kaklam. Tālākos pētījumos nepieciešams analizēt PG micēlija attīstību dziļāk saknēs, lai noskaidrotu dabiskās *P. gigantea* nozīmi *Heterobasidion* spp. sekundārās izplatības ierobežošanā.

Atslēgas vārdi: *Phlebiopsis gigantea*, *Heterobasidion* spp., priežu celmu augstums.

SUMMARY

Heterobasidion annosum (Fr.) Bref s.l. root rot causes serious economical losses in European Union, about 790 million euros per year. To limit the spread of root rot in Latvia coniferous stumps over 10 cm in diameter are being protected from *Heterobasidion* spp. infection using biological control agent containing *P. gigantea* spores. Previous studies have shown that natural *P. gigantea* infection is not sufficient to effectively control *Heterobasidion* spp. prevalence in pine stumps.

To determine *Heterobasidion* spp. and natural *P. gigantea* development in small diameter, different height pine stumps, in three plots 300 pine stumps were analysed, half of them 15 cm high and half – 50 cm high. 120 stumps in two sample plots were treated with *Heterobasidion* spp. spore suspension and 180 stumps were left untreated for natural *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea* infections. To analyse mycelial growth all stumps were cut into 2 to 4 cm thick discs (down till root collar).

We determined that in this study *P.gigantea* natural infection was significantly more prevalent than *Heterobasidion* spp. natural infection – in only 3% of both treated and untreated stumps after 22 month long incubation period viable *Heterobasidion* spp. mycelium could be found, but *P. gigantea* had spread trough 39% stumps. Therefore natural *P. gigantea* is a significant factor to control *Heterobasidion* spp. infection in small diameter pine stumps.

Stump height did not significantly influence the development of natural *P. gigantea* in small diameter pine stumps, but the incubation period did. Compared to results obtained after 22 months, after 28 months the average area colonised by *P. gigantea* was significantly lower.

From all stumps infected by *P. gigantea* (n=115) in 62,5 % of analysed 50 cm high stumps and in 76,0% of 15 cm high stumps mycelium had spread untill the root collar of the stump. In further reasearch stumps containing viable *P. gigantea* mycelium could be excavated and their root system analysed to determine the importance of natural *P. gigantea* in limiting *Heterobasidion* spp. secondary spread.

Keywords: *Phlebiopsis gigantea*, *Heterobasidion* spp., pine stump height.

SATURS

Kopsavilkums.....	2
Summary	3
Saturs.....	4
Ievads	6
1. Literatūras apskats.....	8
1.1. Sakņu piepes <i>Heterobasidion spp.</i> bioloģija.....	8
1.1.1. <i>Heterobasidion annosum</i> dzīves cikls un izplatīšanās process meža ekosistēmā	9
1.1.1.1. Izplatīšanās ar sporām	10
1.1.1.2. Veģetatīvā izplatīšanās ar micēliju.....	11
1.1.2. <i>Heterobasidion annosum</i> sugu komplekss.....	11
1.1.3. <i>Heterobasidion annosum</i> izraisītie mežsaimnieciskie zaudējumi.....	12
1.1.4. <i>Heterobasidion annosum</i> izplatības ierobežošana	12
1.2. Lielās pergamentsēnes <i>Phlebiopsis gigantea</i> bioloģija	14
1.3. <i>P. gigantea</i> un <i>H. annosum</i> antagonisms.....	16
1.4. Parastās priedes <i>Pinus sylvestris</i> bioloģija.....	17
1.4.1. <i>Heterobasidion spp.</i> attīstība maza diametra priežu celmos.....	19
2. Materiāli un metodes	20
2.1. Metodika <i>Heterobasidion annosum</i> sporu suspensiju sagatavošanai	20
2.2. Eksperimenta ierīkošana	21
2.3. Paraugu ievākšana un analīze	22
2.4. <i>H. annosum</i> reizolācija un identificēšana	26
2.5. Datu matemātiskās apstrādes un analīzes programmas	27
3. Rezultāti	28
3.1. <i>Heterobasidion spp.</i> attīstība mazu diametru priežu celmos	28

3.2.	Dabiskās <i>Phlebiopsis gigantea</i> attīstība	29
3.2.1.	Inficēto celmu daudzums dabiskas <i>P. gigantea</i> izplatības rezultātā	29
3.2.2.	<i>Phlebiopsis gigantea</i> horizontālā attīstība celmā	31
3.2.3.	<i>Phlebiopsis gigantea</i> vertikālā attīstība celmā	32
4.	diskusija.....	36
4.1.	<i>Heterobasidion</i> spp. attīstība mazu diametru priežu celmos	36
4.2.	Dabiskās <i>P. gigantea</i> micēlija attīstība maza diametra priežu celmos	37
5.	Secinājumi.....	40
	Pateicības.....	41
	Literatūras saraksts.....	42

IEVADS

Sakņu piepes *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref *s.l.* izplatību veicina intensīva mežistrāde (Asiegbu *et al.* 2005; Garbelotto and Gonthier 2013). Šī sakņu piepes aktīvā izplatība rada ievērojamus mežsaimnieciskos zaudējumus, kas novērtēti kā aptuveni 790 miljoni eiro gadā Eiropas Savienībā (Bendz-Hellgren *et al.* 1999; Thor 2005).

Sakņu trupes izplatību iespējams ierobežot, apstrādājot svaigi zāgētu celmu virsmas ar lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* sporas saturošiem preparātiem, kā arī izmantojot ķīmiskus līdzekļus un mežsaimnieciskās metodes (Holdenrieder & Greig, 1998). *P. gigantea* ir spēcīgs *Heterobasidion* spp. antagonists (Holdenrieder and Greig 1998; Mgbeahuruike *et al.* 2011), taču šobrīd AS “Latvijas valsts meži” apsaimniekotajās platībās bioloģiskais preparāts netiek izmantots sastāva kopšanas cirtēs un netiek apstrādāti arī celmi cirtē, kas mazāki par 10 cm diametrā (Kenigsvalde u.c. 2011; Anonīms 2013).

Parastā priede *Pinus sylvestris* ir mazāk uzņēmīga pret *Heterobasidion* spp. infekciju salīdzinājumā ar parasto egli *Picea abies* (Gaitnieks *et al.* 2018). *P. gigantea* micēlijs priedes koksnē attīstās labāk nekā egles koksnē (Korhonen 2003; Sun *et al.* 2009). Tomēr dabiskā *P. gigantea* nevar efektīvi ierobežot sakņu piepes izplatību (Annesi *et al.* 2005; Rönnberg *et al.* 2006; Drenkhan *et al.* 2008).

Heterobasidion spp. attīstību celmos būtiski ietekmē tajos esošais mikroklimats (mitruma saturs koksnē, temperatūra u.c.) (Bendz-Hellgren *et al.* 1998), tādēļ dažāda augstuma celmos mainās arī mitruma apstākļi, būtiski ietekmējot patogēna attīstību. Augstāku celmu pastiprināta izzūšana ietekmē arī micēlija tālāko attīstību dziļāk saknēs. Pieaugot celma augstumam, palielinās pieejamā koksnes substrāta daudzums un attālums no celma virsmas līdz tā sakņu sistēmai, kas var ietekmēt sēņu micēlija dzīvotspēju ilgtermiņā, jo to micēlijam nepieciešams ilgāks laiks, lai sasniegtu sakņu sistēmu (Gunulf *et al.* 2012). Līdz šim celmu augstuma ietekme uz *Heterobasidion* spp. attīstību analizēta tikai atsevišķos pētījumos (Rishbeth 1951a; Gunulf *et al.* 2012).

Maģistra darba mērķis: novērtēt sakņu piepes un antagonistiskās lielās pergamentsēnes micēlija attīstību maza diametra priežu celmos – noskaidrot celma augstuma ietekmi uz sēņu micēlija attīstību.

Lai sasniegtu darba mērķi, maģistra darbam izvirzīja darba uzdevumus:

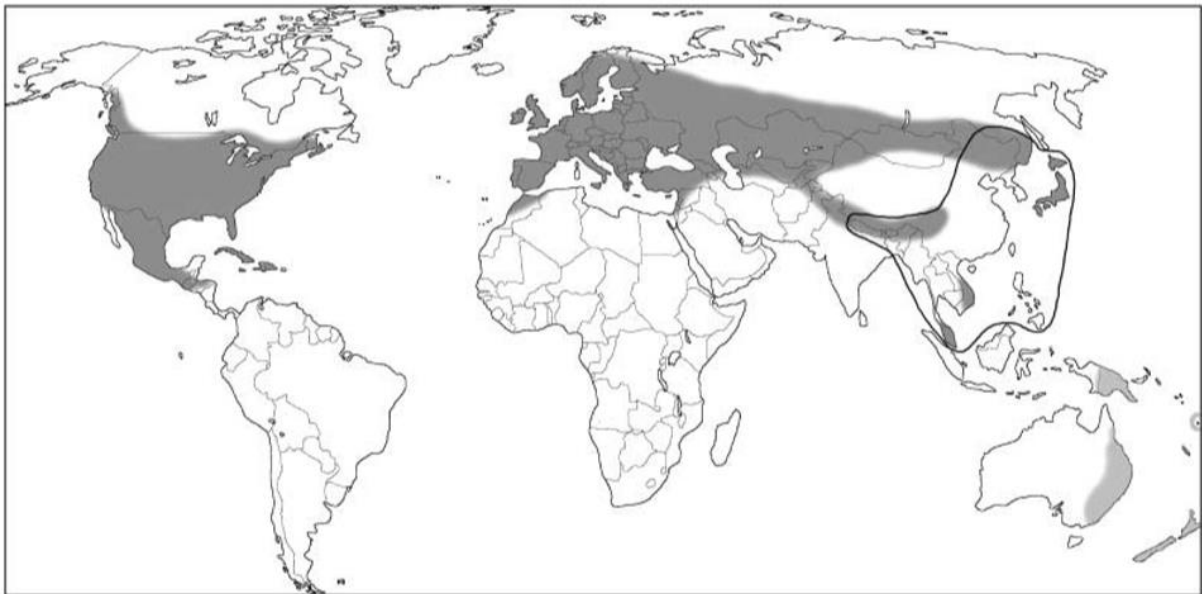
1. Analizēt *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu un konīdijsporu infekcijas attīstību maza diametra priežu celmos;

2. Novērtēt dabiskās *P. gigantea* sastopamību maza diametra priežu celmos;
3. Analizēt inkubācijas perioda ietekmi uz *P. gigantea* micēlija attīstību priežu celmos;
4. Analizēt celma augstuma ietekmi uz *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* micēlija attīstību.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Sakņu piepes *Heterobasidion spp.* bioloģija

Sakņu piepe *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. *sensu lato* ir bazīdijsēne, kas bieži izraisa sakņu trupi skuju koku audzēs Ziemeļu puslodes mērenajā joslā (1.1. att.). *Heterobasidion* ģints pieder poliporu *Bondarzewiaceae* dzimtai, bērzlapju *Russulales* rindai, himēnijijsēņu *Basidiomycetes* klasei un bazīdijsēņu *Basidiomycota* nodalījumam (Niemelä and Korhonen 1998; Garbelotto and Gonthier 2013).



1.1. attēls. *Heterobasidion annosum sensu lato* izplatības areāls pasaulē (tumši iekrāsotie laukumi) (Asiegbu *et al.* 2005).

Figure 1.1. Global distribution of *Heterobasidion annosum sensu lato* (dark shaded areas) (Asiegbu *et al.* 2005).

Heterobasidion spp. inficē gan dzīvus kokus kā nekrotrofs, gan uzņem barības vielas no nedzīvas koksnes kā saprotrofs. Tā visbiežāk inficē skuju kokus no priežu *Pinus*, egļu *Picea* un balteglu *Abies* ģintīm, taču pasaulē konstatētas vairāk nekā 150 dažādas saimniekaugu sugas. *Heterobasidion spp.* mēdz inficēt arī lapu koku sugas, taču tas notiek tikai lapu koku mistraudzēs ar skuju kokiem, kurus jau inficējusi sakņu piepe (Korhonen and Stenlid 1998).

Heterobasidion spp. veido daudzgadīgus augļķermeņus uz koku saknēm, sakņu kakla tuvumā, uz stumbra izgāztiem kokiem, kā arī uz celmiem. Augļķermeņi ir neregulāras formas, bieži tajos izaugušas sūnas, skuju un zaru fragmenti, to virspuse ir gaiši sarkanbrūna līdz tumši brūna ar baltu, reizēm krokotu malu (1.2. att.). Aktīvi sporulējoša *Heterobasidion spp.* augļķermeņa himenofors ir porains, balts, ziloņkaula krāsā līdz kremkrāsā. Vēlāk himenofora

krāsa mainās uz dzeltenīgu līdz sarkanbrūnu. Poras himenoforā ir apaļas līdz ovālas, no 0,3 līdz 0,6 mm diametrā (Korhonen and Stenlid 1998).



1.2. attēls. *Heterobasidion* spp. augļķermeņi (T. Gaitnieka foto).

Figure 1.2. Fruit bodys of *Heterobasidion* spp. (photo by T. Gaitnieks).

Augļķermeņi veidojas līdz 3,5 cm biezi (retāk pat līdz 7 cm biezi) un līdz 40 cm gari (Korhonen and Stenlid 1998), taču atsevišķos gadījumos var sasniegt pat 97 cm garumu (Gaitnieks, nepublicēti dati). Augļķermeņos veidojas bazīdijsporas, kas ir dzimumiskais *Heterobasidion* spp. vairošanās veids. Bazīdijsporas ir ieapaļas līdz olveida ar dzeloņveida izaugumiem uz to virsmas, izmēros 4,2 - 5,5 x 3,4 - 4,0 μm un satur divus kodolus (Kallio 1970; Korhonen and Stenlid 1998).

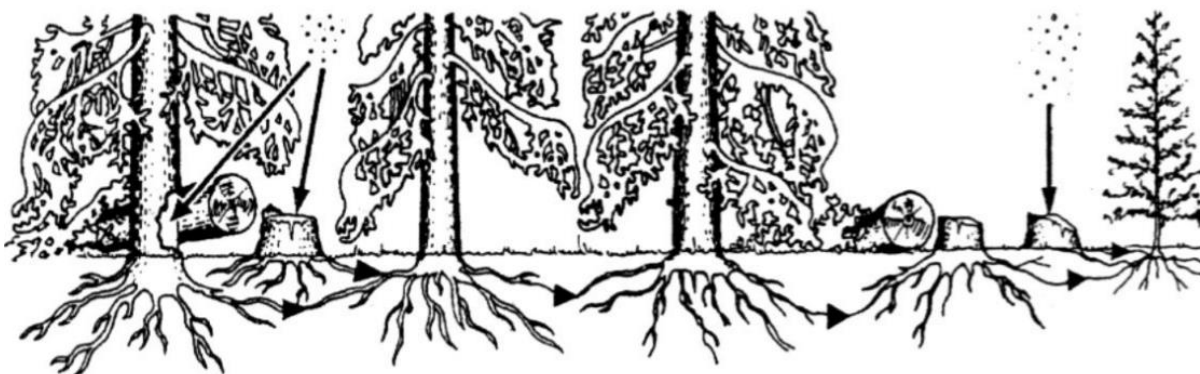
Apstākļos, kad pieejams pietiekams barības vielu un mitruma daudzums (piemēram uz celmu virsmas vai zem koka mizas), gan homokariotisks, gan heterokariotisks *Heterobasidion* spp. micēlijs var vairoties bezdzimumiski ar konīdijsporām. Tās veidojas vāļšveida konīdijnesēju galos, ir izmēros 3,8 – 6,5 x 2,8 – 5,0 μm ar gludu virsmu un visbiežāk satur vienu līdz četrus kodolus (Kallio 1970; Korhonen and Stenlid 1998).

Bazīdijsporām ir lielāka izplatīšanās spēja, jo augļķermenis bazīdijsporas aktīvi izdala un tālāk tās izplatās ar vēju, savukārt konīdijsporas izplatās tikai mehāniski, ar vēja vai kukaiņu starpniecību (Korhonen and Stenlid 1998).

1.1.1. *Heterobasidion annosum* dzīves cikls un izplatīšanās process meža ekosistēmā

Heterobasidion spp. izplatīšanos mežaudzē iedala primārajā un sekundārajā: augļķermeņi aktīvi izdala bazīdijsporas temperatūrā virs 5°C, nodrošinot primāro izplatību,

bet sekundārā izplatība notiek ar micēliju, sakņu kontaktu ceļā (Korhonen and Stenlid 1998) (1.3. att.).



1.3. attēls. *Heterobasidion annosum* izplatīšanas veidi mežaudzē (Stenlid, 1986).

Figure 1.3. *Heterobasidion annosum* routes of spread in a forest stand (Stenlid, 1986).

1.1.1.1. Izplatīšanās ar sporām

Heterobasidion spp. augļķermeņa izdalītās sporas ar vēju var izplatīties pat vairāku simtu kilometru attālumā (Kallio 1970). Hodges (1969) secināja, ka primārā izplatība ar bazīdijsporām ir galvenais veids, kā *Heterobasidion* spp. veido jaunus infekcijas centrus meža ekosistēmā. Vēja pārnestās sporas dīgst, nonākot uz svaiga celma virsmas vai ievainojumu vietām koka stumbrā vai saknēs (Redfern and Stenlid 1998). Sporas, kas nonāk uz koka mizas vai zariem nedīgst, bet var saglabāt dzīvotspēju mēnešiem ilgi. Šādas sporas, kas ieķērušās koka mizā, var inficēt koku, kad notiek zāģēšana, pat, ja tā tiek veikta laikā, kad nenotiek aktīva sporulācija (Korhonen and Stenlid 1998). Sporas, ko ar lietus ūdeņiem ieskalo dziļāk augsnē, sausos apstākļos nedīgstot var saglabāt dzīvotspēju līdz pat gadam. Pietiekošos mitruma apstākļos sporas var sākt dīgt un nelielā apmērā degradēt smalko sakņu mizu, taču tas nav pietiekoši, lai izraisītu infekciju, ja sakne nav bijusi bojāta (Korhonen and Stenlid 1998).

Sporas, kas nonākušas uz piemērotas virsmas, svaiga ievainojuma mizā vai svaiga celma virsmas, dīgst un veido primāro, homokariotisko micēliju, kas var ilgi saglabāties celmā, vai cita veida atmirušā koksne, taču reti inficē dzīvu koksni (Korhonen and Stenlid 1998). Sekundāro micēliju veido homokariotisku un heterokariotisku micēliju kopums, kas veidojas saplūstot ģenētiski neradnieciskiem homokariotiskiem primārajiem micēlijiem (Garbelotto and Gonthier 2013). Somatiskā nesaderība ir process, kad saskaroties diviem, ģenētiski atšķirīgiem heterokariotiskiem micēlijiem, starp tiem izveidojas demarkācijas zona (Korhonen and Stenlid 1998).

Ja uz celma virsmas ir pietiekošs mitruma daudzums un sēnes attīstību nenomāc konkurējošās sēnes, *Heterobasidion* spp. micēlijs kolonizē celma koksni. Optimāla attīstības temperatūra micēlijam ir no 22°C līdz 28°C (Korhonen and Stenlid 1998). Kad inficēts celms, *Heterobasidion* spp. micēlijs tiecas kolonizēt koksni tuvu mizai (taču sēnes izplatība koksnē atšķiras dažādām koku sugām), lai efektīvi nodrošinātu sekundāro izplatīšanos (Stenlid and Redfern 1998).

1.1.1.2. Veģetatīvā izplatīšanās ar micēliju

Pēc primārās izplatīšanās un celma kolonizācijas, *Heterobasidion* spp. micēlijs dzīvotspēju var saglabāt pat 15 - 62 gadus, šajā laikā veicot sekundāro izplatīšanos audzē (Piri 1996; Korhonen and Stenlid 1998). *Heterobasidion* spp. sekundāri izplatās no infekcijas centra uz blakus augošajiem dzīvajiem kokiem sakņu kontaktu ceļā – inficēta koka vai celma saknēm saskaroties ar vesela koka sakņu sistēmu. Heterokariotiskais sekundārais micēlijs, kas izveidojies koksnē, kolonizē sakņu sistēmu un brīdī, kad vesela koka sakne saaug ar kādu no inficētajām saknēm, sāk veselā koka inficēšanu.

Kaut gan dzīva koka saknēs micēlija augšanas ātrums ir mazāks nekā celma saknēs, tas var sasniegt 30 cm gadā (Korhonen and Stenlid 1998; Benz-Hellgren et al. 1999; Petteresson et al., 2003). Dzīvā koksnē vertikālais *Heterobasidion annosum* augšanas ātrums var sasniegt 18 – 40 cm gadā (Stenlid and Redfern 1998). Konstatēts, ka skuju kokos *Heterobasidion* spp. trupes kolonna var sasniegt pat 12 metru augstumu dzīvā kokā (Stenlid and Redfern 1998).

1.1.2. *Heterobasidion annosum* sugu komplekss

Heterobasidion annosum sensu lato ir sugu komplekss, kas līdz 20. gs. 70. gadiem tika uzskatīts par vienu *Heterobasidion* ģinti sugu, līdz brīdim, kad, eksperimentu rezultātā, tika izdalītas vairākas intersterilas grupas (Korhonen and Stenlid 1998). “Intersterilitātes grupa” ir termins, ko izmanto, ja divas vai vairāk bioloģiskas sugas, kuras ir sarežģīti atšķirt vienu no otras, neizmantojot īpašas metodes, ietver viena taksonomiskā suga (Mitchelson and Korhonen 1998). *H. annosum* sugu kompleksā izdalītas trīs taksonomiskās sugas: *H. parviporum* Niemelä & Korhonen, *H. annosum* (Fr.) Bref. *sensu stricto* un *H. abietinum* Niemelä & Korhonen (Niemelä and Korhonen 1998; Garbelotto and Gonthier 2013).

Kaut gan intersterilitātes grupas ir savstarpēji sarežģīti atšķirt, tām konstatējamās atšķirības pēc izplatības areāla un primārajiem saimniekaugiem. *H. parviporum* visbiežāk inficē parasto egli *Picea abies* (L.) Karst., taču konstatēta arī parastās priedes un Sibīrijas

baltegles *Abies sibirica* Ledeb. audzēs. *H. annosum sensu stricto* visbiežāk inficē parasto priedi *Pinus sylvestris*, taču atsevišķos gadījumos, tā var inficēt arī egļu, kadiķu un bērzu ģints kokus (Korhonen and Piri 1993; Korhonen et al. 1998). Centrālajā un Dienvidēiropā izplatīta *H. abietinum*, kas pārsvarā inficē balteglu *Abies* ģints kokus, īpaši Eiropas baltegli *Abies alba* Mill. Atšķirības konstatētas arī intersterilitātes grupu augļķermeņu morfoloģijā, specifiski to himenofora poru izmēros, augļķermeņa maliņas virsmas struktūrā, kā arī konīdijsporu un bazīdijsporu izmēros (Korhonen et al. 1998; Mitchelson and Korhonen 1998).

1.1.3. *Heterobasidion annosum* izraisītie mežsaimnieciskie zaudējumi

Heterobasidion spp. dabisko izplatību mežaudzēs ievērojami pastiprina intensīva mežizstrāde, īpaši gada siltajā periodā, jo mežizstrāde nodrošina *Heterobasidion* spp. sporu dīgšanai piemērotu substrātu – svaigi zāgētu celmu (Asiegbu et al. 2005; Garbelotto and Gonthier 2013). Šī sakņu piepes aktīvā izplatība rada ievērojamus mežsaimnieciskos zaudējumus, kas novērtēti kā aptuveni 790 miljoni eiro gadā Eiropas Savienībā, tajā skaitā 90 miljoni eiro gadā Skandināvijas valstīs un Somijā (Bendz-Hellgren et al. 1999; Thor 2005). Konstatēts, ka Latvijā, galvenās cirtes aprites laikā egļu audzēs *Heterobasidion* spp. sakņu trupes izraisītie zaudējumi sastāda 800 līdz pat 4790 eiro uz vienu hektāru, aprēķinos neiekļaujot sakņu trupes izraisīto paaugstināto vējgāžu risku (Gaitnieks et al. 2007).

1.1.4. *Heterobasidion annosum* izplatības ierobežošana

Lai mežizstrādes laikā ierobežotu *Heterobasidion* spp. izplatību, iespējams izmantot ķīmiskas, mežsaimnieciskas un bioloģiskas metodes. Tā kā *Heterobasidion* spp. izplatībai ļoti piemērots substrāts ir svaigi zāgēti celmi, ir ļoti svarīgi ierobežot to inficēšanos ar sakņu piepi (Holdenrieder & Greig, 1998).

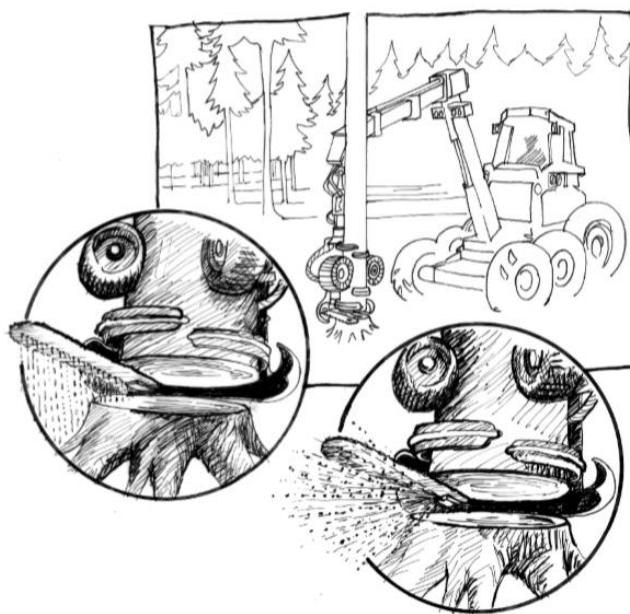
Galvenie ķīmiskie preparāti, ko var izmantot *Heterobasidion* spp. ierobežošanai ir urīnviela un borātus saturoši preparāti (Nicolotti and Gonthier 2005). Urīnviela ierobežo sakņu piepes izplatību, uz celma virsmas paaugstinot vides pH līmeni, kas rada *Heterobasidion* spp. sporu dīgšanai nepiemērotu vidi (Johansson et al. 2002). Ķīmisko līdzekļu izmantošanu limitē to ietekme uz veģetāciju un apstrādāto celmu mikrofloras daudzveidību, salīdzinājumā ar bioloģiskajiem celmu aizsardzības līdzekļiem (Asiegbu et al. 2005).

Mežsaimnieciski sakņu piepes izplatību iespējams ierobežot veicot celmu izstrādi, lai samazinātu inficētās koksnes daudzumu, veidojot mistraudzes, lai samazinātu iespējamus

sakņu kontaktus starp sakņu piepes neskiem un inficētiem skuju kokiem un to celmiem, kā arī atjaunojot platības ar koku sugām, kas ir rezistentākas pret sakņu piepes infekciju. Infekcijas izplatības samazināšanai iespējams arī plānot mežizstrādi laikā, kad maksimālā gaisa temperatūra ir zem +5°C, jo tad samazinās *Heterobasidion* spp. augļķermeņu sporulācija.

Kaut gan pieejamas vairākas mežsaimnieciskās metodes *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošanai, tās ir salīdzinoši dārgas (Brandtberg *et al.* 1996; Korhonen and Stenlid 1998; Garbelotto and Gonthier 2013).

Salīdzinājumā ar ķīmiskajiem un mežsaimnieciskajiem sakņu piepes ierobežošanas veidiem, kā lētāka un videi draudzīgāka metode, izmantojama celmu apstrāde ar bioloģiskajiem preparātiem (Nicolotti and Gonthier 2005). Celmu virsma tiek apstrādāta ar bioloģiskajiem preparātiem zāģēšanas procesa laikā, tādējādi samazinot iespēju *Heterobasidion* spp. sporām kolonizēt celma virsmu (1.4. att.).



1.4. attēls. Veidi kā celmu zāģēšanas laikā mehāniski apstrādā ar suspensiju (Tove Vollbrecht ilustrācija).

Figure 1.4. Types of mechanised stump treatment with suspension during cutting (illustration by Tove Vollbrecht).

Bioloģisko līdzekļu izmantošanas priekšrocība ir arī tā, ka konkurējošā sēne attīstās apstrādātajos celmos un, veidojot augļķermeņus, izplata sporas tālāk, palielinot audzes ilgtermiņa aizsardzību pret *Heterobasidion* spp. izraisītās sakņu trapes izplatību (Holdenrieder and Greig 1998).

Bioloģisko preparātu efektivitāti ietekmē gaisa temperatūra un mitruma apstākļi celma apstrādes laikā, celma apstrādes kvalitāte, kā arī preparāta sastāvā esošo sporu īpašības un vitalitāte. Mehāniska celmu apstrāde ar preparātu nenodrošina pilnīgu celma virsmas noklāšanu, bet pat gadījumos, kad 100% virsmas noklāti ar suspensiju, līdz 30% celmu var attīstīties *Heterobasidion* spp. (Berglund & Rönnberg 2004).

Vairāku sugu sēnes pētītas kā iespējamie *Heterobasidion* spp. antagonisti, piemēram, *Trichoderma* spp., *Hypholoma* spp., *Bjerkandera adusta*, *Resinicium bicolor*, bet praksē visplašāk pielietotā ir lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül. (Holdenrieder and Greig 1998).

Rūpnieciski tiek ražoti vairāki bioloģiskie preparāti *Heterobasidion* spp. ierobežošanai, kas satur *P. gigantea* sporu suspensiju, no tiem visplašāk tiek izmantots Somijā ražotais "Rotstop" (Pratt *et al.* 2000). AS "Latvijas valsts meži" apsaimniekotajās teritorijās kopš 2008. gada krājas kopšanas cirtēs tiek pielietots "Rotstop", taču bioloģiskais preparāts netiek izmantots sastāva kopšanas cirtēs. Ar "Rotstop" netiek apstrādāti arī celmi galvenajā cirtē, kas mazāki par 10 cm diametrā (Kenigshalde u.c. 2011; Anonīms 2013).

1.2. Lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* bioloģija

Lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül. ir plaši izplatīta boreālās un mērenās joslas skujkoku mežos. Tā ir bazīdijsēne, kas pieder pergamentsēņu *Phlebiopsis* ģintij, *Phanerochaetaceae* dzimtai, poliporu *Polyporales* rindai un himēnijsēņu *Agaricomycetes* klasei. *P. gigantea* iepriekš zināma arī kā *Peniophora gigantea* (Fr.) Masee, *Phanerochaete gigantea* (Fr.: Fr.) Rattan un *Phlebia gigantea* (Fr.) Donk. (Holdenrieder and Greig 1998).

P. gigantea ir saprotrofa sēne, kas primāri kolonizē celmus, kritušus kokus un citas skujkoku koksnes atliekas, tajās izraisot balto trupi. *P. gigantea* neattīstās dzīvos kokos (Holdenrieder and Greig 1998).

Pat viena gada laikā pēc koksnes kolonizācijas, *P. gigantea* uz tās virsmas var veidot augļķermeņus (1.5. att.). Augļķermeņi ir vaskveidīgi, visbiežāk zilgan-pelēki (vecāki augļķermeņi ir krēmkrāsas vai pelēcīgi balti), neregulāras formas. Tie veidojas cieši pie substrāta, līdz 0,5 cm biezi (Rishbeth 1959; Holdenrieder and Greig 1998). Gados, kad klimatiskie apstākļi īpaši piemēroti *P. gigantea* attīstībai, augļķermenis var veidoties līdz pat 1 cm biezs, ietverot blakus koksnes substrātam augošās sūnas. Ar laiku augļķermenis zaudē vaskaino struktūru, izzūst un tā malas atdalās no substrāta, atlokoties uz augšu (Rishbeth 1959; Holdenrieder and Greig 1998).



1.5. attēls. *P. gigantea* augļķermeņi (T. Gaitnieka foto).

Figure 1.5. The fruit bodies of *P. gigantea* (photo by T. Gaitnieks).

P. gigantea dzimumvairošanās notiek ar augļķermeņos veidotajām bazīdijsporām. Bazīdiju lielums: 12 – 30 x 4 – 5 μm. Bazīdijsporas ir elipsoīdas, 6 – 8 x 2,75 – 4 μm lielas, ar gludu virsmu. *P. gigantea* fragmentējot hifas veido oīdijas (*P. gigantea* bezdzimumvairošanās), tās visbiežāk ir iegareni cilindriskas: 5-10 x 2,5-6 μm (Käärik and Rennerfelt 1957).

P. gigantea izplatību lielos attālumos nodrošina bazīdijsporas, kas izdalās no augļķermeņa galvenokārt naktī un ar vēju var tikt pārnestas pat vairāk nekā 200 km attālumā (Holdenrieder and Greig 1998). Visaktīvākā sporulācija notiek aprīlī un maijā, kad vidējā gaisa temperatūra sasniedz 5 - 15°C, tā samazinās pie ekstrēmām temperatūrām, kā arī, ja augļķermeņi izkalst. Konstatēts, ka sporulācija strauji samazinās no septembra vidus (Kallio and Hallarsela 1979; Holdenrieder and Greig 1998). Bazīdijsporu dīgšanai piemērotas svaigu skuju koku celmu virsmas un uz viena celma iespējama vairāku ģenētiski atšķirīgu *P. gigantea* attīstība (Annesi *et al.* 2005). Kolonizētā celmā *P. gigantea* micēlijs dzīvotspēju var saglabāt vairāk nekā trīs gadus (Rishbeth 1963).

Oīdiju nozīme *P. gigantea* izplatībā nav pilnībā noskaidrota, taču tās ir spējīgas kolonizēt koksni, nonākot kontaktā ar piemērotu substrātu (Holdenrieder and Greig 1998).

Lielā pergamentsēne vislabāk attīstās *Pinus* ģints kokos, piemēram *P. sylvestris*, *P. pinea*, *P. nigra*, *P. halapensis*, kā arī *Picea abies*, *Abies alba*, *Larix decidua* un *Juniperus* ģints kokos (Eriksson *et al.* 1981). Salīdzinot *P. gigantea* attīstību egles un priedes koksne, konstatēts, ka priedes aplievas koksne tā attīstās daudz efektīvāk (Korhonen 2003). Vairākos pētījumos, salīdzinot *P. gigantea* attīstību priežu un egļu celmos, kuri apstrādāti ar *P. gigantea* sporu suspensiju, vai notikusi celmu dabiskā inficēšanās ar *P. gigantea*

bazīdijsporām, konstatēts, ka priežu ģints koksni lielā pergamentsēne kolonizē efektīvāk (Drenkhan *et al.* 2008; Sun *et al.* 2009). Dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs egļu celmos konstatēts sešus gadus pēc celmu apstrādes ar preparātu “Rotstop”, bet priežu celmos dzīvotspējīgs micēlijs vairs nebija sastopams (Vainio *et al.* 2001).

1.3. *P. gigantea* un *H. annosum* antagonisms

Skuju koku celmu kolonizēšanā *P. gigantea* ir spēcīgs konkurents un antagonists *Heterobasidion* spp., taču antagonisma precīzs mehānisms nav noskaidrots. Nav konstatēts, ka *P. gigantea* izdalītu *Heterobasidion* spp. micēlijam toksiskus savienojumus, taču zināms, ka *P. gigantea* spēj izkonkurēt *Heterobasidion* spp. micēliju, kolonizējot koksni un uzņemot tajā esošās barības vielas, konkurences laikā izdalot pastiprināti daudz enzīmu. Pētījumā *in vitro* salīdzinot 64 *P. gigantea* izolātu antagonismu pret *Heterobasidion* spp., augšanas ātrumu, lakāzes produkciju un koksnes noārdīšanas intensitāti, konstatēts, ka antagonisms atkarīgs arī no sēņu spējas iegūt barības vielas no celma koksnes (Mgbeahuruike *et al.* 2011).

Iespējams antagonisma skaidrojums ir arī mehāniska *Heterobasidion* spp. micēlija izplatības ierobežošana koksnē, *P. gigantea* veidojot sabiezinātus hifu sakopojumus (Holdenrieder and Greig 1998). Audzējot abu sēņu micēlijus *in vitro*, konstatēts, ka abi micēliji pāraug viens otru bez inhibīcijas zonas, taču notiek hifu interference – *Heterobasidion* spp. hifu struktūra izmainās un to šūnapvalki sadalās vietās, kur tās saskaras ar *P. gigantea* micēliju (Asiegbu *et al.* 2005; Adomas *et al.* 2006).

P. gigantea spēja izkonkurēt *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību celmā skaidrojama arī ar tās micēlija augšanas ātrumu, jo konstatēts, ka lielās pergamentsēnes micēlijs trīs mēnešu laikā var ieaugt celmā 20 cm dziļumā (Korhonen *et al.* 1994). Egļu celmos *P. gigantea* micēlijs attīstās ievērojami ātrāk salīdzinot ar *Heterobasidion* spp. (Kallio 1971).

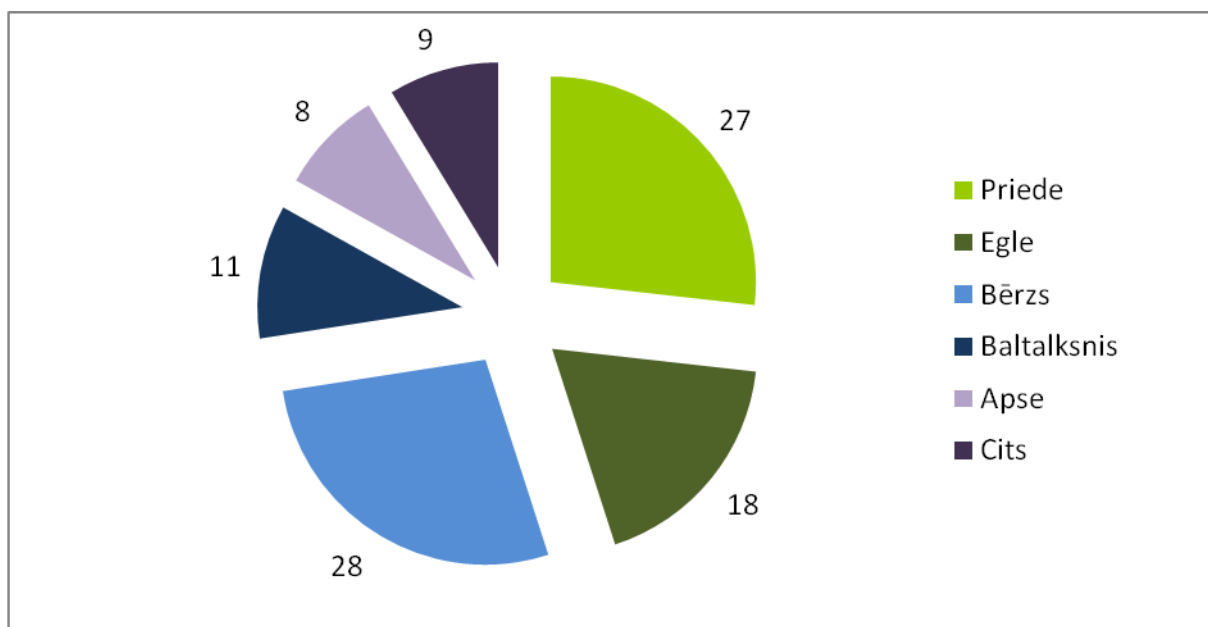
Roy *et al.* (2003) konstatēja, ka kontroles celmos attīstījusies dabiskā *P. gigantea*, taču tas nav pietiekoši ierobežojis *Heterobasidion* spp. attīstību. Arī vairākos citos pētījumos konstatēts, ka dabiskās sporu izplatīšanās ceļā biežāk priežu celmos, salīdzinājumā ar egļu celmiem, attīstās *P. gigantea* micēlijs, taču tas nav spējīgs kolonizēt celmus pietiekoši ātri un efektīvi, lai ierobežotu sakņu piepes izplatību (Rönnberg *et al.* 2006; Drenkhan *et al.* 2008). Arī Annesi *et al.* (2005) konstatējuši, ka dabiskā *P. gigantea* sporu izplatība nav pietiekoša, lai ierobežotu *Heterobasidion* spp. izplatību priežu celmos, jo nepieciešams, lai uz celma virsmas nonāk liels daudzums *P. gigantea* sporu. Savukārt Rishbeth (1963) atzīmēja dabisko *P. gigantea* sporu sastopamību audzē kā iespējamu *Heterobasidion* spp. ierobežotāju kombinācijā ar citām ierobežošanas metodēm. Meredith (1960) pētījumā konstatēts, ka

P. gigantea dabiskā sporu izplatīšanās ir nozīmīga *Heterobasidion* spp. ierobežošanā priežu celmos.

1.4. Parastās priedes *Pinus sylvestris* bioloģija

Vairāk nekā 50% Latvijas teritorijas aizņem mežs (Jansons, Donis 2016). Latvijas atrašanās uz boreālo un nemorālo biogeogrāfisko reģionu robežjoslas veicina gan skuju un lapu koku tīraudžu, gan mistraudžu veidošanos (Baumanis 2014). Lielākajā daļā mežaudžu tipu visās edafiskajās rindās Latvijas teritorijā valdošā koku suga ir parastā priede *Pinus sylvestris* (Zālītis 2009) (1.6. att.).

Parastā priede ir mūžzaļš, pirmā lieluma, priežu *Pinaceae* dzimtas koks. Priežu dzimta pieder priežu *Pinales* rindai, skujkoku *Pinopsida* klasei un kailsēkļu *Pinophyta* nodalījumam.



1.6. attēls. Latvijā valdošās koku sugas (Jansons 2017).

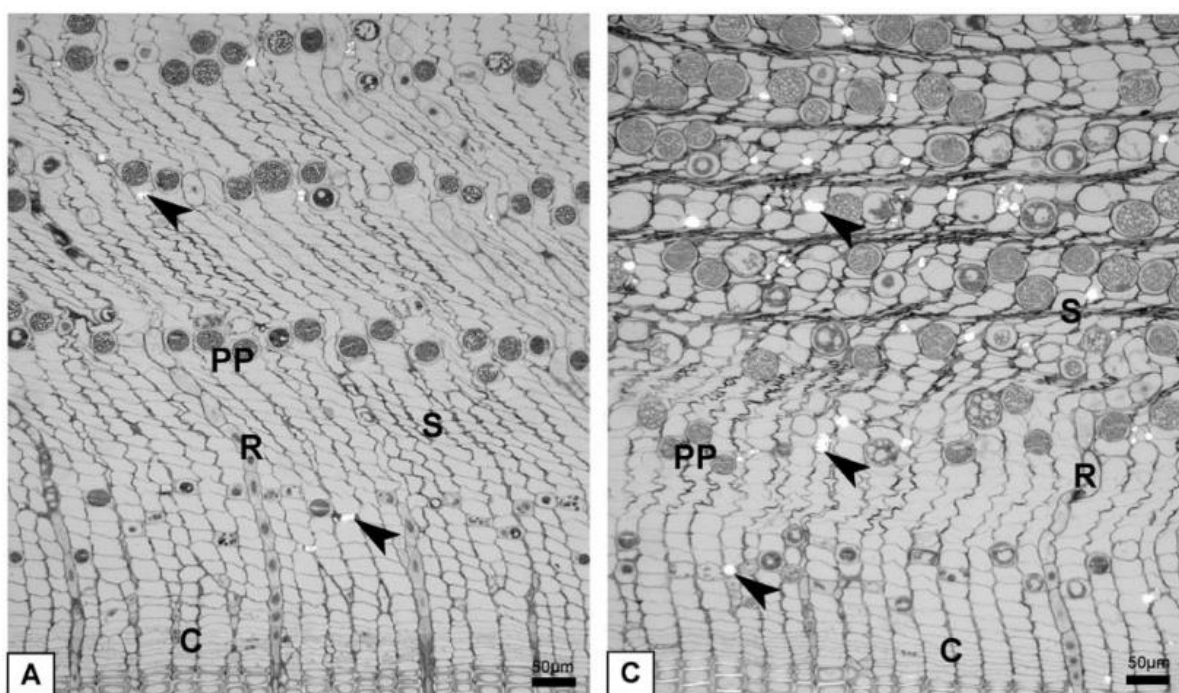
Figure 1.6. Dominant tree species in Latvia (Jansons 2017).

Priedi raksturo taisns stumbrs un mežaudzēs tās atzarojas – apakšējie zari nokalst. Auglīgās augnēs, kā arī atsevišķi augošas priedes neatzarojas un veido plašus vainagus (Baumanis 2014). Priedes sakņu sistēmu raksturo plaši attīstītas sānsaknes. Smilšu augsnēs attīstās arī spēcīga mietsakne, kas parasti nenotiek kūdras augsnēs augošām priedēm (Zviedre, Mangalis 2003; Baumanis 2014).

Priedes koksne veidojas gaiša, piecus līdz desmit cm plata aplievas koksne un sarkanbrūna kodolkoksne. Priedei ir labi attīstīta sveķu aiļu sistēma (Christiansen *et al.* 1987; Baumanis 2014). Sveķu veidošana ir svarīgs mehānisms koka aizsardzībai pret patogēnu infekciju un to izplatību koksne, jo spēj aizvērt brūces, intensīvi izdaloties uz celma virsmas

apturēt patogēnu sporu dīģšanu, mehāniski ieslodzīt dažādu veidu kaitēkļus, kā arī sveķiem piemīt patogēniem toksiskas un inhibējošas īpašības (Christiansen *et al.* 1987; Johnson and Croteau 1987). Kā atbildes reakcija uz patogēna infekciju, sveķu izdalīšanās notiek pa koksne konstanti esošajām sveķu ailēm, kā arī pa aksiālajiem sveķu kanāliem, kas veidojas ksilēmā infekcijas norises laikā (Christiansen *et al.* 1987; Lombardero *et al.* 2000).

Svarīga daļa no priežu aizsardzības mehānisma pret patogēniem ir fenolu veidošana. Lielākajā daļā priežu ģints koku sekundārajā floēmā ir polifenoliskās parenhīmas šūnas, kurās konstanti tiek veidoti polifenoli un uzglabāti to vakuolās (Franceschi *et al.* 1998, Kreckling *et al.* 2000). Konstatēts, ka polifenoliskās parenhīmas šūnas palielinās kā atbildes reakcija uz patogēna nokļūšanu organismā (Franceschi *et al.* 1998)(1.7. att.).



1.7. attēls. Parastās priežu floēmas šķērsriezumu gaismas fotomikrogrāfi, kuros redzamas polifenoliskās parenhīmas šūnas (atzīmētas ar PP). A – neinficēti priežu audi; C – priežu audi, kas inficēti ar *Heterobasidion annosum*, kuros redzamas palielinātas polifenoliskās parenhīmas šūnas (Nagy *et al.* 2005).

Figure 1.7. Light photomicrographs of Scots pine cross sections of phloem showing polyphenolic parenchyma cells (marked with PP). A - uninoculated pine tissue; C – pine tissue inoculated with *Heterobasidion annosum*, that shows swollen polyphenolic parenchyma cells (Nagy *et al.* 2005).

Tas, ka brūču veidošanās un patogēnu infekcijas rezultātā palielinās polifenoliskās parenhīmas šūnas, liecina, ka tās izdala fenolus apkārtējos audos (Franceschi *et al.* 1998).

1.4.1. *Heterobasidion* spp. attīstība maza diametra priežu celmos

Šobrīd maza diametra celmi (zem 10 cm caurmērā) AS “Latvijas valsts meži” apsaimniekotajās mežu teritorijās netiek apstrādāti ar bioloģisko preparātu “Rotstop” (Anonīms 2013).

Vairākos pētījumos konstatēts, ka celmu inficētība ar *Heterobasidion* spp. pieaug, palielinoties celma diametram – mazu diametru celmi tiek inficēti retāk (Filip 1979; Vollbrecht *et al.* 1995, Schmitt *et al.* 2000). Bendz – Hellgren un Stenlid (1998) konstatēja, ka *Heterobasidion* spp. mazāk inficē celmus tieši jaunaudžu kopšanas cirtēs.

Heterobasidion spp. infekciju maza diametra celmos negatīvi ietekmē celmu morfoloģija, kā arī to fizioloģiskās īpašības. Samazinoties celma diametram, samazinās arī tā virsmas laukums, līdz ar to iespēja uz tā nonākt *Heterobasidion* spp. sporām (Vollbrecht *et al.* 1995). Temperatūras svārstības maza diametra celmos notiek straujāk un plašākā diapazonā, kas arī var ietekmēt *Heterobasidion* spp. attīstību (Bendz – Hellgren and Stenlid 1998).

Maza diametra celmu inficēšanos ar sakņu piepi ierobežo arī tas, ka jauniem kokiem vēl nav izveidojusies kodolkoksne. Aplievas koksne ir salīdzinoši augsts mitruma saturs, kas kavē *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību (Vollbrecht *et al.* 1995). Aplievas un kodolkoksne atšķiras arī skābekļa saturs, kas var ietekmēt *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību (Bendz – Hellgren and Stenlid 1998).

Mikroklimats maza diametra celmā mainās atkarībā no tā augstuma. Maza diametra celmos ir lielākas temperatūras un mitruma svārstības izžūšanas dēļ, salīdzinājumā ar lielāka diametra celmiem, un tās pastiprinās vēl vairāk, pieaugot celma augstumam. Palielinoties celma augstumam samazinās arī celma zāģējuma virsmas laukums (Gunulf *et al.* 2012).

Heterobasidion spp. attīstībai pieejamā koksnes substrāta daudzums palielinās, pieaugot celma augstumam, bet palielinās arī attālums, līdz celma sakņu sistēmai (Gunulf *et al.* 2012).

Gunulf (2013) pētījumā konstatēts, ka *Heterobasidion* spp. infekcija audzē var izplatīties arī no maza diametra celmiem uz apkārt augošajiem kokiem. Iepriekš minētajā pētījumā konstatēts, ka pieaugot celma diametram un tam blakus augošo koku diametram, palielinās *Heterobasidion* spp. iespēja izplatīties no celma uz koku. Pētījumā secināts, ka arī maza diametra kokiem ir nozīme *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatībā.

Tikai atsevišķos pētījumos ir analizēta celmu augstuma ietekme uz to inficētību ar *Heterobasidion* spp. sporām. Iegūtie rezultāti liecina, ka ne egļu, ne priežu celmu augstums nav primāro infekciju limitējošais faktors (Rishbeth 1951a; Gunulf *et al.* 2012).

2. MATERIĀLI UN METODEDES

Maģistra darbs izstrādāts LVMI Silava Meža fitopatoloģijas un mikoloģijas laboratorijā, laika posmā no 2016. gada augusta līdz 2019. gada martam.

2.1. Metodika *Heterobasidion annosum* sporu suspensiju sagatavošanai

Eksperimentā izmantoti divi *Heterobasidion* spp. izolāti (1. “V Ma 15”; 2. “2.1.H.a.” – abi izolāti reprezentē *Heterobasidion annosum sensu stricto*), kas iegūti iepriekšējos pētījumos Latvijas teritorijā un, līdz izmantošanai eksperimentā, uzglabāti LVMI Silava Meža fitopatoloģijas un mikoloģijas laboratorijas kultūru kolekcijā.

Abus izolātus uzsēja uz iesala-agara barotnēm (1000 ml ūdens, 12 g agars (Becton, Dickinson and Company, „BBL™ Agar, Grade A”, France), 15 g iesala ekstrakts (Becton, Dickinson Company, Bacto™ Malt extract, Grade A”, France)) Petri traukos un inkubēja 10 dienas +24°C temperatūrā. Dienā pirms lauka eksperimenta ierīkošanas veica dīgstošo konīdijsporu skaitīšanu.

Petri traukā, kurā pilnībā attīstījies *H. annosum* pirmā izolāta micēlijs, ielēja 2-3 mL dejonizēta ūdens un, viegli maisot ar “L” formas stikla nūjiņu, atbrīvoja konīdijsporas no micēlija. Iegūto konīdijsporu suspensiju atšķaidīja uz 1000 mL dejonizēta ūdens Erlenmeijera kolbā. Šie soļi tika atkārtoti vēl divas reizes, Petri traukā ielejot 2-3 mL iegūtās suspensijas. No suspensijas, kas iegūta pēc trešā atkārtojuma, ar automātisko pipeti 0,5 mL pārnesa uz sausas iesala – agara barotnes Petri traukā. Ar tīru L formas stikla nūjiņu suspensiju Petri traukā vienmērīgi izlīdzināja pa visu barotnes virsmu. Barotni nožāvēja laminārās plūsmas skapī, līdz virsma pilnībā sausa, un novietoja +24°C temperatūrā termostatā (Lovibond – Thermostat Cabinet). Metodiku atkārtoja arī ar otro *H. annosum* izolātu. Erlenmeijera kolbas ar abām sporu suspensijām uzglabāja termostatā kopā ar sagatavotajiem Petri traukiem.

Pēc 24 stundām, izmantojot mikroskopu Leica DM 4000B, 20 redzeslaukos, izvietotos vienmērīgi visā barotnes virsmas laukumā, skaitīja uzdīgušās *H. annosum* izolātu sporas (2.1. tabula). Iegūtos datus izmantoja, lai aprēķinātu, cik daudz katras izveidotās suspensijas jāatšķaida līdz 500 mL dejonizēta ūdens, lai iegūtu suspensijas ar 250 000 dīgstošām sporām tajās.

2.1. tabula

Dīgstošo *H. annosum* sporu skaitīšanā iegūtie dati, kas nepieciešami celmu apstrādes suspensijas sagatavošanai.

Table 2.1.

Data gathered by counting germinating *H. annosum* spores necessary to prepare suspensions needed for stump treatment.

Izolāts, Nr.	Vidējais dīgstošo sporu skaits redzeslaukā	Uzdīgušo sporu daudzums 0,5 mL suspensijas	Sporu daudzums celmu apstrādes suspensijā, 500 mL	Iegūtās suspensijas daudzums, kurā ir 250 000 sporu, mL
1	2,90	44 56	250 000	28,1
2	0,90	13 83	250 000	90,4

Lai no vidējā sporu daudzuma vienā redzeslaukā iegūtu kopējo sporu daudzumu skaitīšanas Petri traukā izmantoja formulu: $N = \frac{n \times 5700}{3,14}$ (N=sporu skaits Petri traukā; n=sporu skaits redzeslaukā) .

Iegūtajām suspensijām (250 000 dīgstošu sporu uz 500 mL ūdens) pievienoja ūdenī šķīstošu krāsvielu un 12 stundu laikā izmantoja celmu apstrādei.

2.2. Eksperimenta ierīkošana

Eksperimentu ierīkoja trīs priežu jaunaudzēs LVMI Silava un LLU valsts zinātniskās izpētes mežu apsaimniekošanas aģentūras "Meža pētīšanas stacija" Kalsnavas mežu novadā, 2016 gada augusta beigās (2.2. tabula).

2.2. tabula

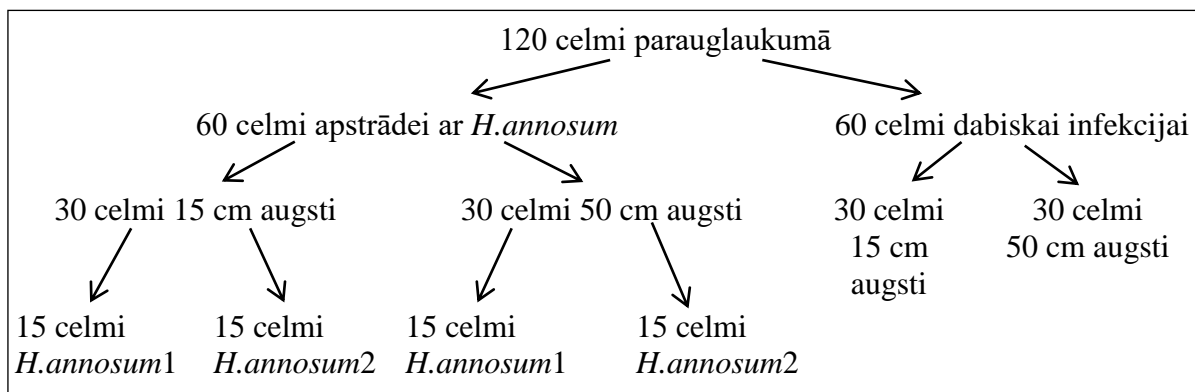
Eksperimentā ierīkoto parauglaukumu dati.

Table 2.2.

Data about sample plots established in the experiment.

Parauglaukumi Nr.	Kvartāls	Nogabals	Platība, ha	Meža tips	Koku vecums zāģēšanas brīdī	Izmantoto celmu skaits
1	193	1	1,9	Ln	14	120
2	16	11	2,3	Ln	16	120
3	93	15	3,5	Ln	16	60

Visās trijās audzēs izvēlēja priedes līdz 10 cm diametrā (celma augstumā), ko nozāģēja ar motorzāģi, atstājot pusei no tām 15 cm augstu celmu un pusei – 50 cm augstu celmu. Visos trīs parauglaukumos izmantoti celmi no 4 līdz 10 cm diametrā. Pirmajā un otrajā parauglaukumā puse celmu atstāti dabiskai *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekcijai, bet otra puse apstrādāta ar sagatavotajām *Heterobasidion annosum* izolātu sporu suspensijām (*H. annosum* 1. un 2.) pēc shēmas 2.1. attēlā.



2.1. attēls. Pirmā un otrā parauglaukuma celmu apstrādes shēma.

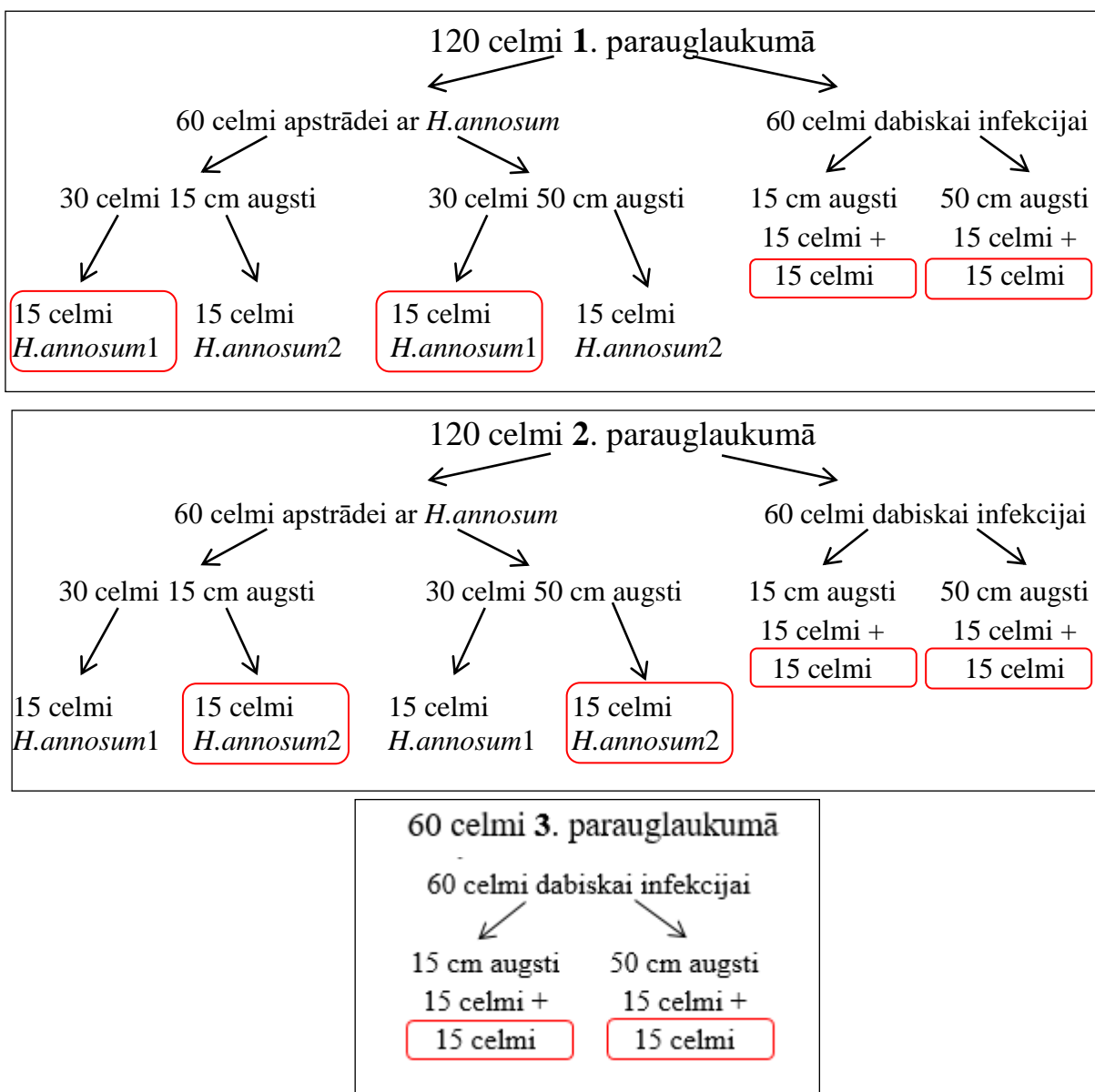
Figure 2.1. Stump treatment for the first and second sample plot.

Trešajā parauglaukumā visi celmi (N=60) atstāti dabiskai infekcijai (30 celmi 15 cm augsti un 30 celmi 50 cm augsti).

Visi eksperimentā izmantotie celmi marķēti ar plastikāta lentām, ar celma numuru uz tām. Eksperimentu ierīkojot laiks bija bez nokrišņiem, daļēji mākoņains, diennakts vidējā temperatūra +17 °C.

2.3. Paraugu ievākšana un analīze

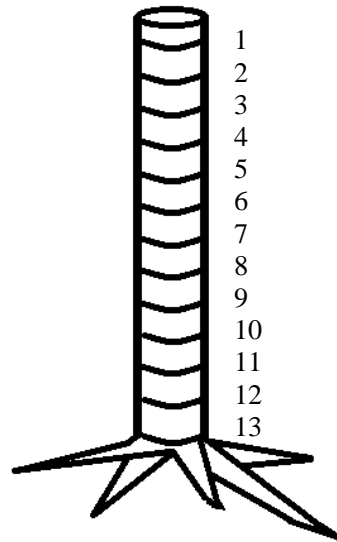
Visi ierīkotie parauglaukumi apsekoti 2018. gada maija sākumā, atkārtoti marķējot eksperimentā izmantotos celmus ar plastikāta lentām. 2018. gada maija beigās un jūnija sākumā – pēc 22 mēnešu gara inkubācijas perioda - ievāca paraugus, lai analizētu pusi izmantoto celmu: pirmajā un otrajā parauglaukumā no 60 celmiem katrā (30 apstrādātiem un 30 neapstrādātiem celmiem), bet trešajā parauglaukumā no 30 neapstrādātiem celmiem (2.2. att.).



2.2. attēls. Eksperimentā ierīkoto parauglaukumu shēma. Ar sarkanu krāsu atzīmēti celmi, no kuriem paraugi ievākti 2018. gada pavasarī.

Figure 2.2. Establishment scheme for the experimental plots. Stumps from which samples were gathered in the spring of 2018 are marked with red.

2018. gada augustā un septembrī visi parauglaukumi apsekoti atkārtoti un oktobrī, novembrī un decembrī – pēc aptuveni 28 mēnešu ilga inkubācijas perioda - ripās sazāģēti visi atlikušie celmi, kurus neievāca pavasara mēnešos (2.2. att.). Celmi līdz sakņu kaklam sazāģēti vidēji divus līdz četrus cm biezās ripās (atsevišķi ļoti maza diametra celmi, kas stipri sadalījušies, sazāģēti piecus līdz septiņus centimetrus biezās ripās)



2.3. attēls. Koksnes paraugu ievākšanas shēma (2. parauglaukums, 31. celms).

Figure 2.3. Wood sample gathering scheme (2. sample plot, 31. stump).

Pirms nozāgēšanas katru ripu marķēja un tālākai analīzei nogādāja LVMI Silva laboratorijā (2.4. att.).



2.4. attēls. Koksnes paraugu marķēšana (L.D.Lukstiņa foto).

Figure 2.4. Wood sample marking (photo by L.D.Lukstiņa).

Iegūtās ripas nomizoja un nomazgāja zem remdēna tekoša ūdens. Katru ripu ievietoja polietilēna maisiņā, atstājot tā galu vaļā, lai nodrošinātu pietiekošu gaisa cirkulāciju inkubācijas periodā, bet saglabātu nepieciešamos mitruma apstākļus koksni un uz tās virsmas sēnes micēlija attīstībai. Koksnes paraugus inkubēja istabas temperatūrā septiņas dienas.

Pēc inkubācijas analizēja ripu virsmu, izmantojot stereomikroskopu Leica MZ 16 palielinājumā no 10 x 1,25 līdz 10 x 4,0. *Heterobasidion* spp. tika konstatēts pēc tam tipiskajiem konīdijnesējiem. Uz ripas piestiprināja 0,7 x 0,7 cm režģi un kā

Heterobasidion spp. kolonizētu atzīmēja katru rūtiņu, kurā konstatēja vismaz vienu konīdijnesēju.

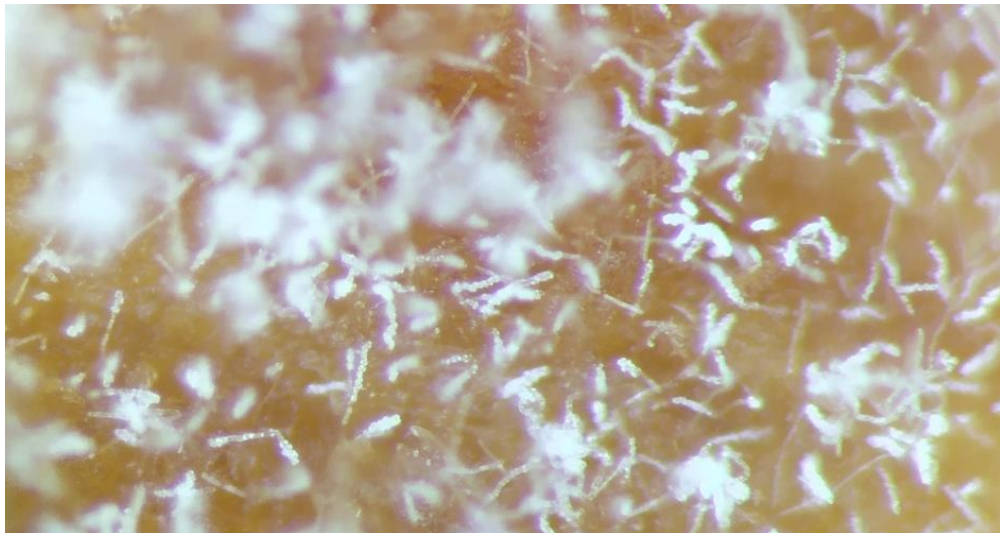
Vizuāli novērtējot koksnes paraugus *Phlebiopsis gigantea* konstatēja pēc tai tipiskā oranži brūnā krāsojuma koksne (2.5. att.).



2.5. attēls. *P. gigantea* tipiskais oranži brūnais krāsojums priedes koksne (K. Kenigvaldes foto).

Figure 2.5. Orange brown wood colouring, typical of *P. gigantea* in pine wood (Photo by K. Kenigvalde).

Analizējot ripas virsmu izmantojot stereomikroskopu Leica MZ 16 palielinājumā no 10 x 1,25 līdz 10 x 4,0 *P. gigantea* noteica pēc tai tipiskajiem micēlija veidojumiem (2.6. att.).



2.6. attēls. *P. gigantea* tipiskais micēlijs (L.D.Lukstiņas foto).

Figure 2.6. Typical *P. gigantea* mycelium on a wood discs surface (photo by L.D.Lukstiņa).

Vadoties pēc koksnes krāsojuma un konstatētā micēlija, *P. gigantea* kolonizēto laukumu koksnē atzīmēja uz ripas ar ūdensnoturīgu marķieri.

2.4. *H. annosum* reizolācija un identificēšana

No visiem paraugiem, kuros konstatēta *Heterobasidion* spp. kolonizēta koksne, veikta micēlija reizolācija. *Heterobasidion* spp. tīrkultūras salīdzinātas ar oriģinālajiem *H. annosum* izolātiem, kas izmantoti celmu apstrādē ierīkojot eksperimentu. *P. gigantea* izolēta no 10 celmiem.

Tīrkultūras salīdzinātas izmantojot somatiskās saderības testu (Stenlid 1985). Reizolēto tīrkultūru un oriģinālo izolātu audzēja kopā vienā Petri traukā uz Hagem barotnes (5 g glikoze, 5 g iesala ekstrakts (Becton, Dickinson Company, Bacto™ Malt extract, Grade A”, France), 20 g agars (Becton, Dickinson and Company, „BBL™ Agar, Grade A”, France), 0,5 g MgSO₄, 0,5 g KH₂PO₄, 0,5 g NaNO₃, 1000 ml ūdens). Ik pēc piecām dienām novērtēja micēlija attīstību. Ja izolāti ir ģenētiski atšķirīgi, vietā kur kolonijas saskaras, izveidojas izteikta demarkācijas līnija.

Ja abi *Heterobasidion* spp. izolāti ir identiski, to micēlijs attīstoties izveido vienu homogēnētisku koloniju, bez izteiktas robežas starp abu izolātu micēlijiem (Stenlid 1985).

2.5. Datu matemātiskās apstrādes un analīzes programmas

Eksperimentā iegūtos datus matemātiski, statistiski un grafiski analizēja, izmantojot programmas Microsoft Excel 2016 un R version 3.4.2.

Rēķināja vidējās vērtības, standartklūdas, aprēķināti ripu laukumi. *P. gigantea* micēlija aizņemto laukumu % ieguva dalot sēnes aizņemto laukumu cm^2 ar ripas kopējo laukumu cm^2 un reizinot ar 100. *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu rēķināja reizinot rūtiņu, kurās konstatēti konīdijnesēji, skaitu ar vienas rūtiņas laukumu ($0,49 \text{ cm}^2$). Lai būtu iespējams salīdzināt *P. gigantea* micēlija izplatības dziļumu dažādu augstumu celmos, micēlija sasniegto dziļumu aprēķināja procentos, reizinot virsmas dziļumu, kurā pēdējā konstatēts dzīvotspējīgs micēlijs ar 100 un dalot ar celma augstumu.

Pētījumā iegūtos kvalitatīvos datus, piemēram, inficēto celmu skaitu, analizēja izmantojot χ^2 testu. Kvantitatīvajiem datiem salīdzināja dispersijas un noteica atbilstību normālajam sadalījumam, izmantojot attiecīgi F-testu un Šapīro-Vilka normalitātes testu. Paraugkopas neatbilda normālajam sadalījumam, tādēļ tās analizēja izmantojot Vilkoksona testu neatkarīgām paraugkopām (Wilcoxon Rank-Sum test). Būtiskumu pārbaudīja, to salīdzinot ar kritisko vērtību pie $\alpha = 0,05$ (Liepa 1974).

3. REZULTĀTI

3.1. *Heterobasidion* spp. attīstība mazu diametru priežu celmos

Analizējot koksnes paraugus, kas ievākti no celmiem gan 2018. gada vasaras sākumā, gan 2018. gada beigās, dzīvotspējīgs *Heterobasidion* spp. micēlijs konstatēts tikai astoņos celmos (no septiņiem paraugi ievākti pēc 22 mēnešu ilga inkubācijas perioda un no viena paraugi ievākti pēc 28 mēnešu ilga inkubācijas perioda) no 300 eksperimentā izmantotajiem celmiem. Visi paraugi, kuros konstatēts dzīvotspējīgs *Heterobasidion* spp. micēlijs, ievākti pirmajā parauglaukumā. *Heterobasidion* spp. infekciju konstatēja četros celmos, kurus, eksperimentu ierīkojot, apstrādāja ar sporu suspensiju un četros celmos, kurus neapstrādāja (3.1. tabula)

3.1. tabula. Ar *Heterobasidion* spp. inficētie celmi pirmajā parauglaukumā.

Table 3.1. Stumps colonised by *Heterobasidion* spp. in the first experimental plot.

Celma Nr.	Apstrādes veids	Inkubācijas periods, mēn.	<i>P. gigantea</i> infekcija celmā	Celma augstums cm	<i>Heterobasidion</i> spp. micēlija vertikālā attīstība celmā, cm	<i>Heterobasidion</i> spp. somatiski saderīgs ar celma apstrādei izmantoto izolātu
24	<i>H.a.</i> 1	22	-	15	12,2	+
50	<i>H.a.</i> 1	22	-	50	21,0	+
55	<i>H.a.</i> 1	22	-	50	41,1	+
15	kontrolē	22	+	15	11,0	-
23	kontrolē	22	+	15	4,6	-
49	kontrolē	22	-	50	40,5	-
55	kontrolē	22	-	50	39,3	-
41	<i>H.a.</i> 2	28	-	50	33,4	+

*H.a.*1., 2. – *Heterobasidion annosum* izolāti 1. un 2.

Salīdzinot reizolētās tīrkultūras, kas iegūtas no apstrādātajiem celmiem, ar oriģinālajiem *Heterobasidion annosum* izolātiem, ar ko celmi apstrādāti (trīs celmi ar pirmo izolātu un viens ar otro *H. annosum* izolātu), konstatēja, ka tās ir somatiski saderīgas. Tīrkultūras, kas reizolētas no kontroles celmiem nebija somatiski saderīgas ar celmu apstrādē izmantotajiem *Heterobasidion annosum* izolātiem.

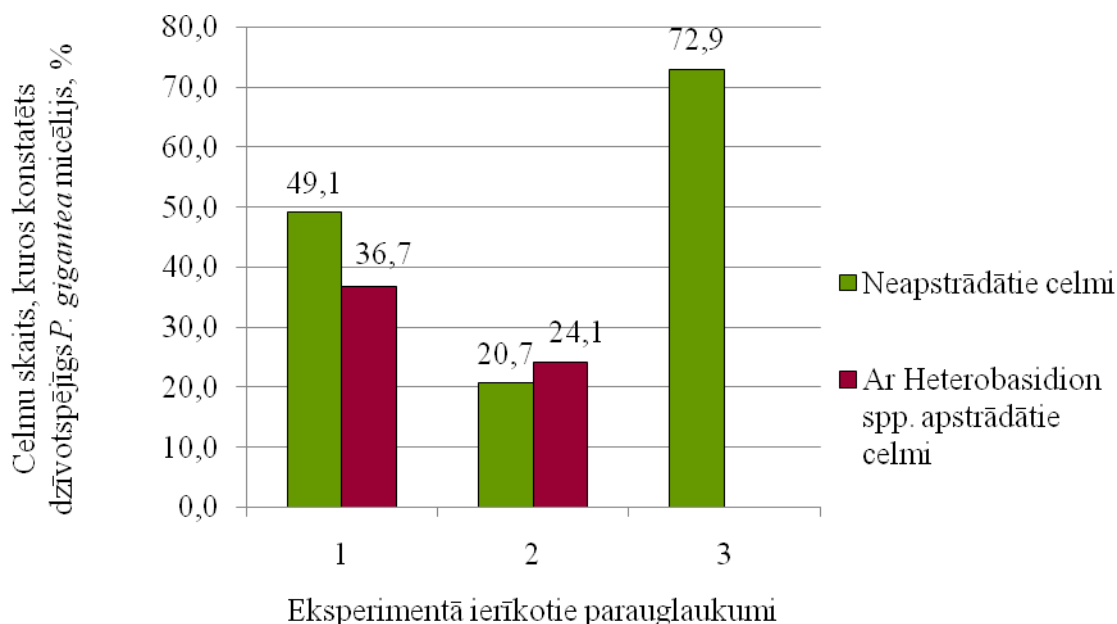
Otrajā un trešajā parauglaukumā no kontroles celmiem ievāktajos paraugos nekonstatēja *Heterobasidion* spp. infekciju. Otrajā parauglaukumā dzīvotspējīgu *Heterobasidion* spp.

micēliju nekonstatēja arī nevienā no 30 celmiem, kas, eksperimentu ierīkojot, apstrādāti ar pirmo *H. annosum* izolātu un no kuriem paraugi ievākti pēc 28 mēnešu inkubācijas, kā arī nevienā no 30 celmiem, kas apstrādāti ar otro *H. annosum* izolātu un no kuriem paraugi ņemti pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda.

3.2. Dabiskās *Phlebiopsis gigantea* attīstība

3.2.1. Inficēto celmu daudzums dabiskas *P. gigantea* izplatības rezultātā

Analizējot paraugus no visiem trim parauglaukumiem, konstatēja, ka lielu skaitu celmu kolonizējis lielās pergamentsēnes micēlijs, kas inficējis celmus dabiskās izplatības ceļā – 115 celmos jeb 38,9% celmu konstatēts dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs (3.1. att.). Dzīvotspējīgu *P. gigantea* micēliju konstatēja gan kontroles celmu, gan celmu, kas apstrādāti ar *H. annosum* sporu suspensiju, koksnes paraugos.

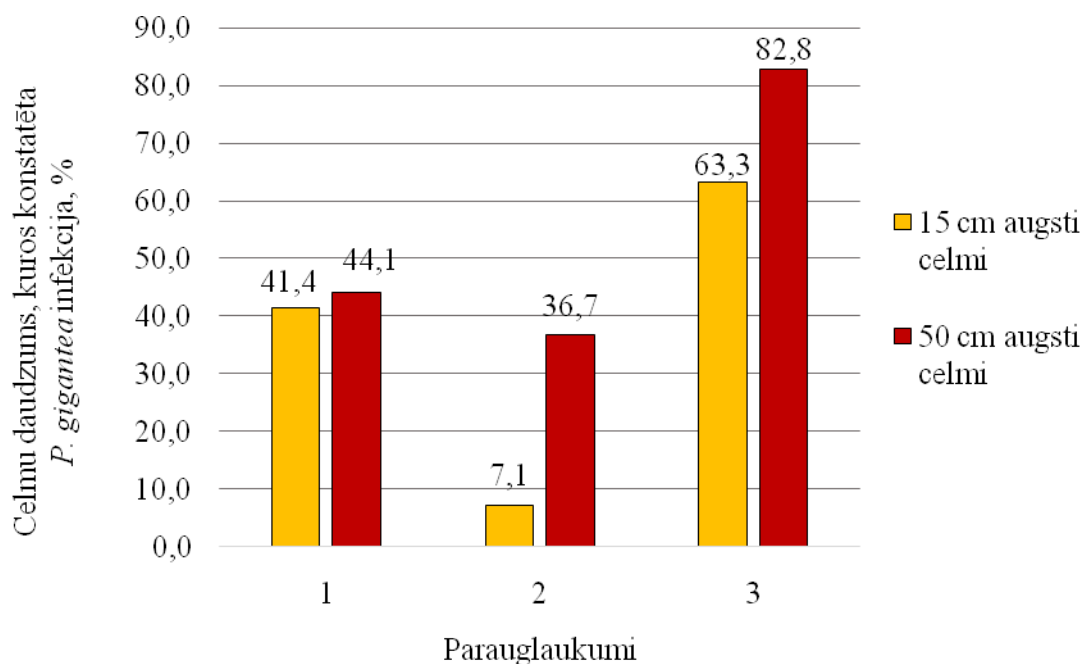


3.1. attēls. Celmu daudzums (%), kuros konstatēts dzīvotspējīgs dabiskās *P. gigantea* micēlijs atkarībā no celma apstrādes veida.

Figure 3.1. Amount of stumps (%) where viable mycelium of natural *P. gigantea* have been found, sorted by stump treatment type.

Salīdzinot ar pirmo un otro parauglaukumu, statistiski būtiski lielāku ($p < 0,05$) ar dabisko *P. gigantea* inficētu celmu daudzumu (72,9%) konstatēja trešajā parauglaukumā (3.1. att.), kurā visi 60 analizētos celmus, eksperimentu ierīkojot, apstrādāja ar *H. annosum* sporu suspensiju.

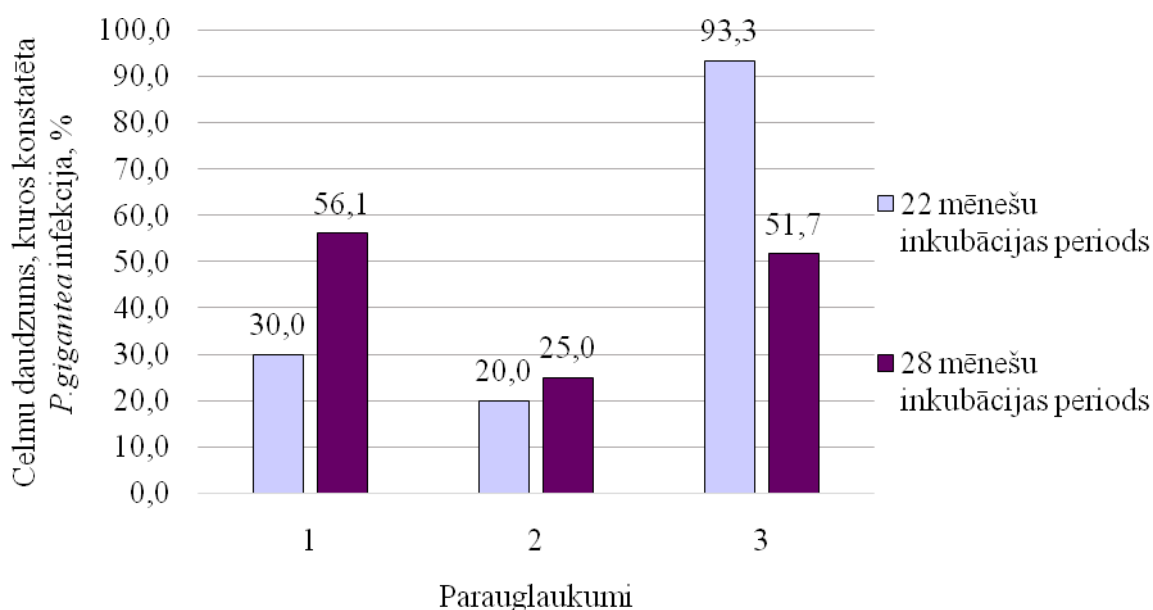
Dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs 15 cm augstajos celmos un 50 cm augstajos celmos konstatēts attiecīgi 47 un 72 celmos. Konstatēts, ka otrajā parauglaukumā 50 cm augstajos celmos sastopams statistiski būtiski ($p < 0,05$) vairāk dabiskās *P. gigantea* dzīvotspējīgs micēlijs, salīdzinot ar 15 cm augstajiem celmiem (3.2. att.). Pirmajā un trešajā parauglaukumā atšķirības bija nebūtiskas ($p > 0,05$).



3.2. attēls. Celmu daudzums (%), kuros konstatēts dzīvotspējīgs dabiskās *P. gigantea* micēlijs atkarībā no celma augstuma.

Figure 3.2. Amount of stumps (%) where viable mycelium of natural *P. gigantea* have been found, grouped by stump height.

Grupējot iegūtos datus par *P. gigantea* inficēto celmu daudzumu pēc inkubācijas perioda, pirmajā parauglaukumā konstatēja būtiski vairāk ($p < 0,05$) inficētu celmu pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda (3.3 att.).



3.3. attēls. Celmu daudzums (%), kuros konstatēts dzīvotspējīgs dabiskās *P. gigantea* micēlijs atkarībā no inkubācijas perioda.

Figure 3.3. Amount of stumps (%) where viable mycelium of natural *P. gigantea* have been found, divided in groups by incubation period.

Otrajā parauglaurkumā būtiskas atšķirības nekonstatēja, bet trešajā parauglaurkumā dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs būtiski lielākā skaitā celmu konstatēts pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda.

3.2.2. *Phlebiopsis gigantea* horizontālā attīstība celmā

Visos trīs eksperimentā ierīkotajos parauglaurkumos, analizēja micēlija attīstību 8 – 10 cm dziļumā (atsevišķi ļoti maza diametra, stipri sadalījušies celmi sazāģēti biežākās ripās, tādēļ analizēts sēnes aizņemtā laukums 11 – 15 cm dziļumā) celmos, kuros, konstatēta dabiskās *P. gigantea* infekcija. Secināja, ka pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda, visos trīs parauglaurkumos, vidējais *P. gigantea* aizņemtā virsmas laukums ir būtiski mazāks ($p < 0,05$) salīdzinot ar micēlija aizņemto virsmas laukumu, kas konstatēts paraugos, kas ievākti pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda (3.2. tab.).

3.2. tabula. *P. gigantea* vidējais aizņemtais virsmas laukums (%) 8 – 10 cm dziļumā celmos, kuros konstatēta tās infekcija atkarībā no celma inkubācijas perioda.

Table 3.2. Average area (%) colonised by *P. gigantea* in infected stumps at 8 – 10 cm depth, depending on incubation period.

Parauglaukums Nr.	Pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda	Pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda
1	74,4 (min. 0,68; max. 100)	32,0 (min. 2,1; max. 100)
2	64,4 (min. 17,95; max. 100)	12,2 (min. 0,4; max. 46,9)
3	41,0 (min. 1,38; max. 100)	22,7 (min. 0,5; max. 90,8)

Salīdzinot *P. gigantea* kolonizētās koksnes laukumu 8 – 10 cm dziļumā kontroles celmos un celmos, kas apstrādāti ar *H.annosum* suspensiju, nav konstatētas būtiskas atšķirības (3.3. tab.)

3.3. tabula. *P. gigantea* vidējais aizņemtais virsmas laukums kolonizētajos celmos (%), 8 – 10 cm dziļumā atkarībā no celma apstrādes veida.

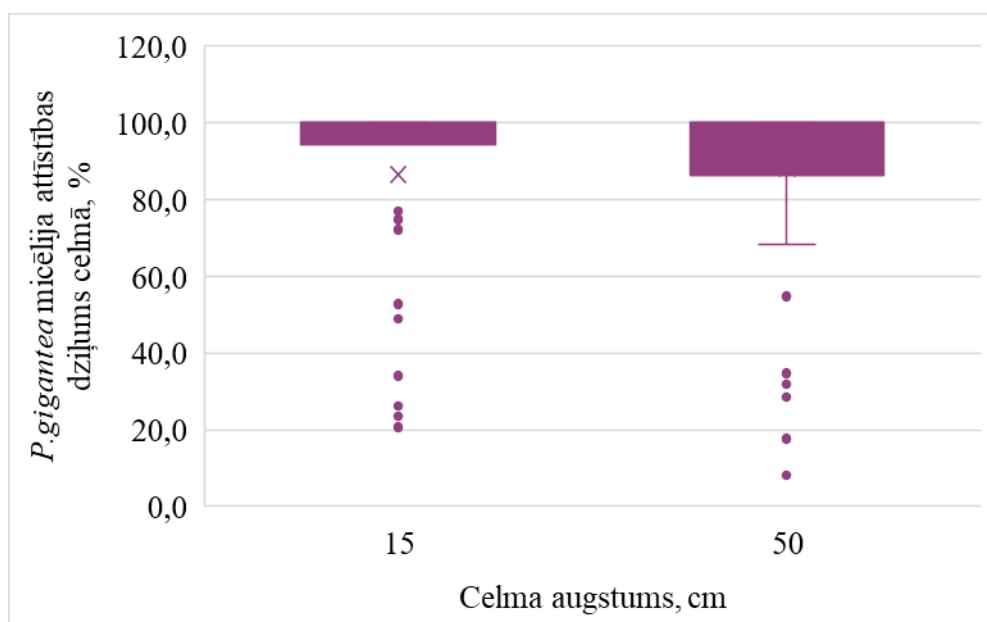
Table 3.3. Average area (%) colonised by *P. gigantea*, in colonised stumps at 8 – 10 cm depth, depending on stump treatment.

Parauglaukums Nr.	Kontroles celmi (n= 79)	Celmi, kas apstrādāti ar <i>H.annosum</i> izolātiem (n=36)
1	50,6 (min. 0,7; max. 100)	56,1 (min. 4,9; max. 100)
2	43,7 (min. 11,8; max. 95,3)	35,5 (min. 0,4; max. 100)
3	31,9 (min. 0,5; max. 100)	-

Būtiskas ($p < 0,05$) atšķirības *P. gigantea* aizņemtajā virsmas laukumā 8 – 10 cm dziļumā netika konstatētas, to salīdzinot, ne atkarībā no celma augstuma visos parauglaukumos kopā, ne analizējot atšķirības katrā parauglaukumā atsevišķi.

3.2.3. *Phlebiopsis gigantea* vertikālā attīstība celmā

Salīdzinot *P. gigantea* micēlija sasniegto maksimālo dziļumu celmā (%) 15 cm augstajiem celmiem un 50 cm augstajiem celmiem, nav konstatētas būtiskas atšķirības ($p = 0,8807$): 15 cm augsto celmu grupā, *P. gigantea* kolonizējusi vidēji 86,6 % celma, bet 50 cm augsto celmu grupā, 88,0 % (3.4. att.).



3.4. attēls. *P. gigantea* attīstības maksimālā dziļuma celmā variācija.

Figure 3.4. Variation of maximal depth of *P. gigantea* development in stumps .

P. gigantea micēlija attīstības dziļums neatšķirās būtiski ($p < 0,05$) paraugos, kas ievākti pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda un paraugos, kas ievākti pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda, salīdzinot maksimālo *P. gigantea* sasniegto dziļumu celmā katrā celmu augstumu grupā atsevišķi (3.4. tab.). Būtiskas atšķirības nekonstatēja arī salīdzinot kontroles celmus ar celmiem, kas eksperimentu ierīkojot apstrādāti ar *H.annosum* izolātiem.

3.4. tabula. *P. gigantea* micēlija attīstības maksimālais dziļums, %.

Table 3.4. Maximal depth of *P. gigantea* mycelium development, %.

Celmu augstuma grupa, cm	Pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda	Pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda	Kontroles celmi	Celmi, kas apstrādāti ar <i>H.annosum</i> izolātiem
15	97,0 (min. 34,1; max. 100)	77,0 (min. 20,7; max. 100)	87,6 (min. 20,7; max. 100)	84,8 (min. 25,2; max. 100)
50	93,4 (min. 28,5; max. 100)	82,1 (min. 8,1; max. 100)	89,6 (min. 8,1; max. 100)	84,6 (min. 34,7; max. 100)

Micēlija attīstības dziļumu visiem analizētajiem celmiem salīdzināja arī nedalot tos grupās pēc celma augstuma. Konstatēja, ka celmos, kas, ierīkojot eksperimentu, apstrādāti ar diviem *H. annosum* izolātiem un kontroles celmos *P. gigantea* attīstība neuzrādīja būtiskas atšķirības ($p = 0,9920$). Statistiski būtiskas atšķirības ($p < 0,05$) netika konstatētas arī salīdzinot

P. gigantea attīstības sasniegto maksimālo dziļumu pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda un pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda ($p=0,8728$).

No 115 celmiem, kurus inficējusi *P. gigantea*, 80 celmos dzīvostspējīgs micēlijs sasniedzis sakņu kaklu (3.5. att.).



3.5. attēls. 50 cm augsta celma koksnes paraugi, kuros redzama *P. gigantea* infekcijas attīstība no celma virsmas (1. ripa) līdz celma sakņu kaklam (13. ripa) (x – laukums, kuru nav kolonizējis *P. gigantea* micēlijs; “VISS” – visu ripas laukumu kolonizējis *P. gigantea* micēlijs) (L.D.Lukstiņas foto).

Figure 3.5. Wood samples of a 50 cm high stump, that show *P. gigantea* infection development from stump surface (1. disc) until stumps root collar (13. disc) (x – surface area that is not colonised by *P. gigantea* mycelium; “VISS” – the whole surface area of the wood disc is colonised by *P. gigantea*) (photo by L.D.Lukstiņa).

Salīdzinot micēlija attīstību atkarībā no celma augstuma, būtiskas atšķirības nekonstatēja: 50 cm augstajos celmos, no 69 inficētajiem, *P. gigantea* sasniegusi sakņu kaklu 45 celmos, jeb 62,5% celmu; 15 cm augstajos celmos sakņu kaklu *P. gigantea* micēlijs sasniedzis 35 no 46 inficētajiem celmiem, jeb 76,0 % celmu.

Arī salīdzinot iegūtos datus par celmu skaitu, kuros *P. gigantea* micēlijs izplatījās līdz sakņu kaklam, atkarībā no inkubācijas perioda, būtiskas atšķirības nekonstatēja: pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda sakņu kaklu *P. gigantea* sasniedza 82,7% celmu, bet pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda – 56% inficēto priežu celmu.

4. DISKUSIJA

4.1. *Heterobasidion* spp. attīstība mazu diametru priežu celmos

Eksperimentā izmantoto koku zāgēšana tika veikta aktīvajā *Heterobasidion* spp. sporulācijas sezonā (Brandtberg *et al.* 1996) un, kaut gan *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatība ap izvēlētajiem parauglaukumiem esošajās audzēs netika noteikta, patogēna sporas spēj izplatīties pat simtiem kilometru attālumā (Kallio 1970; Redfern and Stenlid 1998). Iespējams, ka mazo skaitu celmu, kuros attīstījies dabiski izplatīties *Heterobasidion* spp. var izskaidrot ar nepietiekošu tā sporu koncentrāciju gaisā visās trīs audzēs, kurās ierīkoti parauglaukumi, taču šo pieņēmumu neapstiprina iegūtie rezultāti, par *Heterobasidion* spp. attīstību apstrādātajos priežu celmos.

Iegūtie rezultāti par *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību celmos, kas apstrādāti ar divu dažādu *Heterobasidion annosum* sporu suspensijām, liecina, ka arī uz celma nonākot sporu suspensijai, kuras vienā mililitrā ir 500 sporu, *Heterobasidion* spp. micēlijs attīstījies tikai 3,4 % apstrādāto celmu. Šāda sporu koncentrācija tiek izmantota vairumā līdzšinējo eksperimentu, kuros analizēta *P. gigantea* efektivitāte pret *Heterobasidion* spp. infekciju (Sun *et al.* 2009; Kenigvalde *et al.* 2016). *Heterobasidion* spp. infekciju var ietekmēt tā sporu dīdžība (Redfern 1982), taču, tā kā suspensijas sagatavotas pamatojoties nevis uz sporu daudzumu šķīdumā, bet gan izskaitot tieši dīgstošās sporas, samazinās iespēja, ka zemo inficēto celmu skaitu var izskaidrot zema abu izmantoto *Heterobasidion annosum* izolātu sporu dīdžība. No visiem četriem apstrādātajiem celmiem, kuros attīstījās *Heterobasidion* spp. infekcija iegūti *Heterobasidion* spp. reizolāti un, salīdzinot ar izolātiem, ar kuriem apstrādāts celms, konstatēta somatiska saderība, kas liecina, ka celmā attīstījies *Heterobasidion* spp. no sporām suspensijā un izslēdz iespēju par kļūdu celmu apstrādē (Stenlid 1985). Tā kā pirmajā parauglaukumā konstatēti kontroles celmi, kuros attīstījies *Heterobasidion* spp. arī no tiem iegūti reizolāti. Tos salīdzinot ar abiem izolātiem, kas izmantoti celmu apstrādē nav konstatēta somatiskā saderība (Stenlid 1985), kas liecina, ka šajā audzē pastāvējis *Heterobasidion* spp. sporu fons, eksperimenta ierīkošanas laikā.

Iespējams, ka rezultātus par *Heterobasidion* spp. infekcijas attīstību ietekmējis celmu inkubācijas periods, jo inficēto celmu daudzums pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda bija mazāks nekā pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda un līdzīgi secinājumi izdarīti pētījumā Vācijā, kur konstatēts, ka palielinoties inkubācijas periodam, dzīvotspējīga *Heterobasidion* spp. micēlija daudzums egles celmos ievērojami samazinājās (Dimitri *et al.*

1971), taču, lai izdarītu secinājumus par *Heterobasidion* spp. attīstību maza diametra priežu celmos atkarībā no inkubācijas perioda nepieciešami plašāki pētījumi.

Heterobasidion spp. sporu dīgšanu uz celma virsmas un tā attīstību koksnē var ietekmēt arī tās sveķu saturs un sveķu izdalīšanās daudzums uz svaigas celma virsmas, jo sporas var tikt mehāniski aizskalotas, kā arī var veidoties nepiemērota vide to dīgšanai uz celma virsmas (Christiansen *et al.* 1987; Meredith 1960). Taču, konstatētā *P. gigantea* attīstība celmos liecina, ka sveķu mehāniskā sporu dīgšanas ierobežošana nebija pietiekoši efektīva, lai sēnes sporu dīgšana uz celma virsmas nebūtu iespējama.

Heterobasidion spp. attīstību celmā ietekmē antagonistiskie organismi uz celma virsmas, piemēram, baktērijas vai ātri augošas saprotrofas sēnes, kā *Resinicium bicolor*, *Trichoderma* spp. un *P. gigantea*, kas var kolonizēt celma virsmu, ierobežojot *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību (Dimitri *et al.* 1971; Holdenrieder and Greig 1998; Oliva *et al.* 2013). Iegūtos rezultātus var izskaidrot tas, ka visos trīs parauglaukumos lielu skaitu eksperimentā izmantoto celmu dabiskās izplatības ceļā kolonizējusi *Heterobasidion* spp. spēcīgi antagonistiskā *P. gigantea*. Tā spēj ierobežot *Heterobasidion* spp. micēlija attīstību koksnē gan mehāniski, veidojot micēlija sablīvējumus, gan ar hifu interferenci, gan izkonkurējot *Heterobasidion* spp. attīstību celmā ar lielāku micēlija augšanas ātrumu un spēju izdalīt lielāku daudzumu enzīmu, ātrāk sadalīt koksni un uzņemt no tās nepieciešamās barības vielas (Korhonen *et al.* 1994; Holdenrieder and Greig 1998; Asiegbu *et al.* 2005). Dabiskās *P. gigantea* nozīme *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošanā atzīmēta arī Rishbeth (1959), kā arī Greig un Pratt (1976) darbos. Līdzīgi rezultāti par *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* attīstību priežu celmos iegūti arī vairākos Latvijā veiktos pētījumos (Kenigsvalde *et al.* 2016; Gaitnieks *et al.* 2018; Gaitnieks *et al.* 2020).

4.2. Dabiskās *P. gigantea* micēlija attīstība maza diametra priežu celmos

Pētījumā iegūtos rezultātus par dabiskās *P. gigantea* inficēto priežu celmu skaitu visos trīs parauglaukumos daļēji var skaidrot ar laiku, kad eksperiments ierīkots un vides apstākļiem. *P. gigantea* bazīdijsporas ar vēju var izplatīties pat vairāk nekā 200 kilometru attālumā (Holdenrieder and Greig 1998). Eksperimenta parauglaukumos celmi zāģēti aktīvas *P. gigantea* sporulācijas sezonā, kas varēja nodrošināt lielu *P. gigantea* sporu fonu visās trīs audzēs, kurās ierīkoti eksperimenta parauglaukumi. Dienakts vidējā temperatūra +17°C, kas konstatēta visu trīs parauglaukumu ierīkošanas laikā, ir ļoti tuva temperatūru diapazonam no +5 līdz +15°C, kas konstatēts, kā *P. gigantea* izplatībai optimāls (Holdenrieder and Greig 1998).

Iegūtos rezultātus par *P. gigantea* izplatību ierīkotajos parauglaukumos var skaidrot arī ar analizēto celmu inkubācijas periodu. Vairākos citu autoru pētījumos (Berglund and Rönnberg 2004; Keča and Keča 2012) atzīmēts, ka laika gaitā dabiskās *P. gigantea* īpatsvars celmos pieaug. Tas konstatēts arī mūsu eksperimenta pirmajā parauglaukumā, kurā pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda bija būtiski vairāk celmu, kuros attīstījusies *P. gigantea*. Pretēji rezultāti konstatēti trešajā parauglaukumā, kurā būtiski mazāk inficētu celmu konstatēts pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda. To iespējams var skaidrot ar citu organismu attīstību koksne, piemēram, koksnes zilējumu izraisošo sēņu izplatību (Rishbeth 1951b; Tubby *et al.* 2008). To, ka pēc ilgāka inkubācijas perioda dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs konstatējams mazākā skaitā paza diametra priežu celmu var skaidro arī ar micēlija pakāpenisku dzīvotspējas zaudēšanu, jo priežu celmus *P. gigantea* micēlija attīstība spēj noārdīt ātrāk, salīdzinājumā ar egļu celmiem (Vainio *et al.* 2001).

Atšķirības celmu daudzumā parauglaukumos, kuros konstatēts dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs iespējams izskaidrot ar aktīvu sveķu izdalīšanos uz celma virsmas, kā arī sveķu saturu koksne, kas var ietekmēt sēnes sporu dīgšanu un micēlija attīstību (Meredith 1960).

Vairākos pētījumos konstatēts, ka priedes koksne ir īpaši piemērota *P. gigantea* sporu dīgšanai un micēlija attīstībai, kas secināts arī šajā pētījumā (Korhonen 2003; Drenkhan *et al.* 2008; Sun *et al.* 2009). Būtiski vairāk inficētu celmu konstatēts trešajā parauglaukumā, kurā visi celmi atstāti neapstrādāti. Celmos, kas tika apstrādāti ar *Heterobasidion* spp. sporu suspensiju dabiskās *P. gigantea* attīstība varēja tikt kavēta, jo gan *P. gigantea*, gan *Heterobasidion* spp. ir primāri koksni kolonizējošas sēnes (Meredith 1960.), taču, tā kā pārējos divos parauglaukumos celmu inficēšanās biežums neatšķīrās apstrādātajiem un neapstrādātajiem celmiem, šie rezultāti ticamāk skaidrojami kā atšķirības *P. gigantea* sporu daudzumā gaisā parauglaukumu teritorijās.

Vairāk nekā pusē (69,6%) celmu, kurus kolonizējusi *P. gigantea*, dzīvotspējīgs sēnes micēlijs konstatēts sakņu kakla augstumā. Izdalot un salīdzinot iegūtos rezultātus, apstrādes, inkubācijas perioda un celmu augstuma grupās, statistiski būtiskas atšķirības netika konstatētas, kas liecina, ka pēc 22 un 28 mēnešu inkubācijas *P. gigantea* micēlijam izplatīties mazu diametru priedes koksne līdz sakņu kaklam ir līdzvērtīgas iespējas gan 15 cm augstos celmos, gan 50 cm augstos celmos.

Vienīgās būtiskās atšķirības abās celmu augstumu grupās konstatētas otrajā parauglaukumā, kur dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs konstatēts būtiski vairāk 50 cm augstajos celmos salīdzinājumā ar 15 cm augstajiem celmiem. Iespējams, šādi rezultāti iegūti, nevis tādēļ, ka *P. gigantea* inficējusi mazāku skaitu 15 cm augsto celmu, bet tādēļ, ka tā, kā primārais kolonizators, attīstījusies celmā un, līdz paraugu ievākšanas brīdim, attīstījusies

sakņu sistēmā, bet nav saglabājusi dzīvotspēju celma stumbra daļā, jo, piemēram, Vainio *et al.* (2001) pētījumā konstatēts, ka dzīvotspējīgs micēlijs priežu celmos *P. gigantea* nav konstatējams pēc sešiem gadiem. Latvijā veiktā pētījumā konstatēts, ka dzīvotspējīgs micēlijs mazu diamteru priežu celmu saknēs atrodams četrus gadus pēc celmu apstrādes ar *P. gigantea* sporu suspensiju (nepubl. dati).

Kaut gan celmu inkubācijas periodam šajā pētījumā netika konstatēta viennozīmīga ietekme uz inficēto celmu skaitu un arī atšķirības *P. gigantea* micēlija izplatības dziļumā celmā bija nebūtiski atšķirīgas, salīdzinot micēlija horizontāli aizņemto laukumu koksnē 8 līdz 10 cm dziļumā, konstatēja būtiskas atšķirības. Pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda konstatēts, ka dzīvotspējīgs *P. gigantea* micēlijs aizņem būtiski mazāk ripas virsmas laukuma salīdzinot ar tās aizņemto laukumu šajā pašā dziļumā pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda. Šos rezultātus iespējams izskaidrot ar citu koksni kolonizējošo sēņu attīstību koksnē vai ar *P. gigantea* micēlija dzīvotspējas samazināšanos koksnē (Vainio *et al.* 2001; Tubby *et al.* 2008).

Lai salīdzinātu *Heterobasidion* spp. attīstību dažādu augstumu celmos, turpmāk jāveic eksperimenti izmantojot ne tikai priežu, bet arī egļu celmus, kā arī, eksperimentā iekļaujot lielāka diametra celmus, piemēram, pēc krājas kopšanas cirtes.

Visi trīs eksperimentā izmantotie parauglaukumi ierīkoti Vidzemē, LVMI Silava un LLU valsts zinātniskās izpētes mežu apsaimniekošanas aģentūras "Meža pētīšanas stacija" mežos. Lai plašāk novērtētu *P. gigantea* dabiskās infekcijas efektivitāti *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošanā priežu celmos, turpmākajos eksperimentos būtu jāierīko parauglaukumus arī citos Latvijas reģionos. Nepieciešams analizēt arī *P. gigantea* micēlija attīstību tālāk celmu saknēs, lai izvērtētu *P. gigantea* nozīmi *Heterobasidion* spp. sekundārās izplatības ierobežošanā.

5. SECINĀJUMI

1. Maza diametra priežu celmi ir nozīmīgs *Heterobasidion* spp. primāro izplatību veicinošs faktors.
2. Pēc 22 mēnešiem dzīvotspējīgs *Heterobasidion* spp. micēlijs konstatēts tikai 3% analizēto *Pinus sylvestris* celmu.
3. Maza diametra priežu celmu augstums būtiski neietekmē *P.gigantea* micēlija attīstību.
4. *P. gigantea* micēlijs sasniedza sakņu kaklu 62,5% analizēto 50 cm augsto celmu un 76,0% 15 cm augsto celmu.
5. *P. gigantea* aizņemtā laukuma koksne ir būtiski mazāks pēc 28 mēnešu inkubācijas perioda, nekā pēc 22 mēnešu inkubācijas perioda.
6. Dabiskā *Phlebiopsis gigantea* konstatēta 39% eksperimentā izmantoto priežu celmu, kas liecina, ka tās izplatība ir nozīmīgs faktors maza diametra priežu celmu aizsardzībai pret *Heterobasidion* spp. infekciju.

PATEICĪBAS

Izsaku vislielāko pateicību savam darba vadītājam Dr. silv. *Tālim Gaitniekam* par sniegtajām zināšanām, pieredzi, atbalstu un palīdzību darba veikšanā.

Sirsnīgi pateicos Mg.biol. *Kristīnei Kenigvaldei* par apmācīšanu darbā par *P.gigantea*, par atbalstu un palīdzību pētījuma veikšanā.

Izsaku lielu pateicību LVMI „Silava” kolēģēm Dr.biol. Dārtai Kļaviņai, Dr.biol. *Natālijai Arhipovai*, Mg. biol. *Astrai Zaļumai* un Mg. biol. *Laumai Brūnai* par praktisku palīdzību un atbalstu pētījumu veikšanā.

Izsaku sirsnīgu pateicību Dr. biol. docentei *Mārai Vikmanei* par padomiem pētnieciskā darba izstrādē.

Izsaku īpašu pateicību recenzentei Dr. biol. *Alīnai Mihailovai* par darba recenzēšanu.

Izsaku pateicību LVMI „Silava” kolektīvam un visiem, kas palīdzējuši darba tapsnā.

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: 26–39.
- Annesi T., Curcio G., D'Amico L., Motta, E. 2005. Biological control of *Heterobasidion annosum* on *Pinus pinea* by *Phlebiopsis gigantea*. *Forest Pathology* 35:127-134.
- Anonīms, 2013. LVM Rotstopa lietošanas kvalitātes prasības, rīkojums Nr.3.12.1_0031_200_13_46
- Asiegbu, F.O., Adomas, A. & Stenlid, J., 2005. Conifer root and butt rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. s.l. *Molecular Plant Pathology*, 6(4), pp.395–409.
- Baumanis I., Jansons Ā., Neimane U. 2014. Priede. Selekcija, ģenētika un seklkopība Latvijā. *Salaspils*, 15 – 22.
- Benz-Hellgren M, Stenlid J. 1998. Effects of clear-cutting, thinning, and wood moisture content on the susceptibility of Norway spruce stumps to *Heterobasidion annosum*. *Canadian Journal For Forest Research*. 28: 759–765
- Benz-Hellgren M, Brandtberg P.O., Johansson M, Swedjemark G, Stenlid J. 1999. Growth rate of *Heterobasidion annosum* in Norway spruce stand established on forest land and arable land. *Scandinavian Journal of Forest Research* 14: 402 – 407.
- Berglund, M. & Rönnerberg, J., 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), pp.233–243.
- 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: 261–268.
- Christiansen, E., R.H. Waring and A.A. Berryman. 1987. Resistance of conifers to bark beetle attack: searching for general relationships. *For. Ecol. Manage.* 22:89–106.
- Dimitri L., Zycha H., Kliefoth R. 1971. Untersuchungen über die Bedeutung der Stubbeninfektion durch *Fomes annosus* für die Ausbreitung der Rotfäule der Fichte. *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 90: 104–117.
- Drenkhan T., Hanso S., Hanso M. 2008. Effect of the stump treatment with *Phlebiopsis gigantea* against *Heterobasidion* root rot in Estonia. *Baltic Forestry*, 14(1): 16–25.

- Eriksson, J.; Hjortstam, K.; Ryvarden, L. 1981. The Corticiaceae of North Europe. 6:1048-1276
- Filip, G. M. 1979. Root disease in Douglas-fir plantations is associated with infected stumps. *Plant Dis. Reporter* 63:580–583.
- Franceschi, V.R., T. Krekling, A.A. Berryman and E. Christiansen. 1998. Specialized phloem parenchyma cells in Norway spruce (*Pinaceae*) bark are an important site of defense reactions. *Am. J. Bot.* 85:601–615.
- Gaitnieks T., Arhipova N., Donis J., Vasaitis R. 2007. Butt Rot and related losses in Latvian *Picea abies* (L.) Karst. stands. In: Garbelotto M., Gonthier P. (ed.), 12th IUFRO Conference on Root and Butt Rots, Conference proceedings. August 12-19, Berkeley, Medford, USA: 177 – 179.
- Gaitnieks, T., Brauners, I., Kenigšvalde, 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*, 52 (1): 1-7.
- Gaitnieks T., Zaļuma A., Kenigšvalde K., Brūna L., Kļaviņa D., Burņeviča N., Stenlid J., Jankovsky L., Vasaitis R. 2020. Natural infection and colonization of pre-commercially cut stumps of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* by *Heterobasidion* rot and its biocontrol fungus *Phlebiopsis gigantea*. – *Biological control*, 143 (2020) 104208: 1 – 7.
- Garbelotto M., Gonthier P. 2013. Biology, epidemiology and control of *Heterobasidion* species worldwide. – *Annual Review of Phytopathology*, 51: 39-59.
- Greig B. J. W., Pratt J. E. 1976. Some observations on the longevity of *Fomes annosus* in conifer stumps. *European Journal of Forest Pathology* C (1976) 250-253
- Gunulf A., Mc Carthy R., Rönnerberg J. 2012. Control efficacy of stump treatment and influence of stump height on natural spore infection by *Heterobasidion* spp. of precommercial thinning stumps of Norway spruce and birch. *Silva Fennica*, 46(5): 655–665.
- Gunulf, A., Wang, L., Englund, J.E. & Rönnerberg, J., 2013. Secondary spread of *Heterobasidion parviporum* from small Norway spruce stumps to adjacent trees. *Forest Ecology and Management*, 287, pp.1–8.
- Hodges C.S., 1969. Modes of infection and spread of *Fomes annosus*. *Annual Review of Phytopathology* 7: 247-266.
- Holdenrieder O. and Greig B. J. W. 1998. Biological methods of control. In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 235 – 258.

- Jansons J., Donis J. 2016. Seminārs "Latvijas koksnes resursu un biomasas novērtējums klimata politikas kontekstā"
http://www.bef.lv/fileadmin/Projektu_faili/SEG_emisijas/Silava_15.02.2016_VARAM.pdf
- Jansons J. 2017 Latvijas Nacionālā meža monitoringa īstenošana Latvijas meža resursu statistiskās inventarizācijas III cikla 3 gadu rezultāti.
http://www.silava.lv/userfiles/file/Aktualitates/21_06_2017%20Jurgis%20Jansons.pdf
- 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(1-3), pp.87–100.
- Johnson, M.A. and R. Croteau. 1987. Biochemistry of conifer resistance to bark beetles and their fungal symbionts. *ACS Symp. Ser.* 325:76–92
- Käärik A., Rennerfelt E. 1957. Investigations on the fungal flora of spruce and pine stumps. – *Statens Skogsforskningsinstitut* 47 (7): 15.
- Kallio T. 1970. Aerial distribution of the root-rot fungus *Fomes annosus* (Fr.) Cooke in Finland. – *Acta Forestalia Fennica*, 107: 1-55.
- Kallio T. 1971. Protection of spruce stumps against *Fomes annosus* (Fr.) Cooke by some wood inhabiting fungi. – *Acta Forestalia Fennica*, 117: 1-20.
- Kallio, T., Hallarsela, M., 1979. Biological control of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. (*Fomes annosus*) in Finland. *Forest Pathology*, 9(5), pp.298–308.
- Keča, N., Keča, L. 2012. The Efficiency of Rotstop and Sodium Borate to Control Primary Infections of *Heterobasidion* to *Picea abies* Stumps: A Serbian Study, *Baltic Forestry*, 18(2): 247-254.
- Kenigšvalde, K. et al., 2011. *Phlebiopsis gigantea* skujkoku celmu bioloģiskajā aizsardzībā pret *Heterobasidion annosum* s . l . izraisīto sakņu trupi – literatūras apskats. *Mežzinātne*, 23(56), pp.25–40.
- Kenigšvalde K., Brauners I., Korhonen K., Zaļuma A., Mihailova A., Gaitnieks T. 2016. 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* 31(3): 254–261.
- Krekling, T., V.R. Franceschi, A.A. Berryman and E. Christiansen. 2000. The structure and development of polyphenolic parenchyma cells in Norway spruce (*Picea abies*) bark. *Flora* 195:354–369.
- Korhonen K. and Piri T. 1993. The main hosts and distribution of S and P groups of *Heterobasidion annosum* in Finland. – In: Johansson M., Stenlid J. *Proceedings of*

- Eighth IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Sweden/Finland. August 9-16, 1993. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden: 260-267.
- 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. Proceedings of Eighth IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Sweden/Finland. August 9-16, 1993. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden: 675 – 685.
- Korhonen K. and Stenlid, J. 1998. Biology of *Heterobasidion annosum*. - In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 44-64.
- Korhonen K., Capretti P., Karjalainen R., Stenlid J. 1998. Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Europe. - In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 93-101.
- Korhonen K. 2003. Simulated stump treatment experiments for monitoring the efficacy of *Phlebiopsis gigantea* against *Heterobasidion*. In: Laflamme G, Bérubé JA, Bussièrès G, editors. Proceedings of the 10th IUFRO Conference on Root and butt rots of forest trees; 2001 Sep 16–22; Quebec. Quebec (Canada): Laurentian Forestry Centre.
- Liepa I. 1974. „Biometrija”, Rīga: Zvaigzne, 336 lpp.
- Lindén, M., Vollbrecht, G., 2002. Sensitivity of *Picea abies* to butt rot in pure stands and in mixed stands with *Pinus sylvestris* in Southern Sweden. *Silva Fenn.* 36 (4), 767–778.
- Lombardero, M.J., M.P. Ayres, P.L. Lorio and J.J. Ruel. 2000. Environmental effects on constitutive and inducible resin defences of *Pinus taeda*. *Ecol. Lett.* 3:329–339.
- Meredith, D.S., 1960. Further observations on fungi inhabiting pine stumps. *Ann. Bot.* 24 (1), 63–78.
- Mgbeahuruike, A.C. et al., 2011. Screening of *Phlebiopsis gigantea* isolates for traits associated with biocontrol of the conifer pathogen *Heterobasidion annosum*. *Biological Control*, 57(2), pp.118–129.
- Mitchelson K. and Korhonen K. 1998. Diagnosis and differentiation of intersterility groups. – In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 71-92.
- Nagy N. E., Krokene P., Solheim H. 2005. Anatomical-based defense responses of Scots pine (*Pinus sylvestris*) stems to two fungal pathogens. *Tree Physiology* 26, 159–167.

- Nicolotti G. and Gonthier, P. 2005. Stump treatment against *Heterobasidion* with *Phlebiopsis gigantea* and some chemicals in *Picea abies* stands in the western Alps. *Forest Pathology* 35: 365-374.
- Niemelä T., Korhonen K. 1998. Taxonomy of the Genus *Heterobasidion*. – In: S. Woodward, J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.), *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK : 31-32.
- Oliva, J., Bernat, M., Stenlid, J. (2013). Heartwood stump colonization by *Heterobasidion parviporum* and *H. annosum* s.s. in Norway spruce (*Picea abies*) stands. *Forest Ecology and Management*, 295: 1-10.
- Pettersson, M., Rönnberg, 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: 362-367.
- Piri T. 1996. The spreading of the S type of *Heterobasidion annosum* from Norway spruce stumps to the subsequent tree stand. *European Journal of Forest Pathology* 26: 193-204.
- 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, 467-477.
- Redfern D. B. 1982. Infection of *Picea sitchensis* and *Pinus contorta* stumps by basidiospores of *Heterobasidion annosum*. *European Journal Forest Pathology* 12 (1982) 11-25
- Redfern D.B. and Stenlid J. 1998. Spore Dispersal and Infection. – In: Woodward, S., J. Stenlid, K. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 109-116.
- Rishbeth, J., 1951 a. Observations on the Biology of *Fomes annosus*, with Particular Reference to East Anglian Pine Plantations: II. Spore Production, Stump Infection and Saprophytic activity in stumps. *Annals of Botany*, 15(57), pp.1–21.
- Rishbeth, J., 1951 b: 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. *Ann. Bot., N. S.*, 25,221-246.
- Risbeth J. 1959. Dispersal of *Fomes annosus* Fr. and *Peniophora gigantea* (Fr.) Masee. *Transactions of the British Mycological Society* 42, 243-260.
- Risbeth J. 1963. Stump protection against *Fomes annosus*. III. Inoculation with *Peniophora gigantea*. *Annals of Applied Biology* 52: 63-77.
- Rönnberg J., Sidorov E., Petrylaite E. 2006. Efficacy of different concentrations of Rostop® and Rostop® S and imperfect coverage of Rotstop® S against *Heterobasidion* spp. spore infections on Norway spruce stumps. *Forest Pathology*, 36: 422-433.

- Roy G., Laflamme G., Bussi eres, G., Dessureault M. 2003. Field tests on biological control of *Heterobasidion annosum* by *Phaeotheca dimorphospora* in comparison with *Phlebiopsis gigantea*. *Forest Pathology* 33: 127-140.
- Schmitt, C.L., Parmeter J.R., Kliejunas J.T.. 2000. Annosus root disease of western conifers. USDA For. Serv., Forest Insect and Disease Leaflet 172, Washington, DC. 9 p.
- Stenlid, J. 1985. Population structure of *Heterobasidion annosum* as determined by somatic incompatibility, sexual incompatibility and isozyme patterns. *Canadian Journal of Botany*, 63: 2268 – 2273.
- Stenlid J. 1986. Biochemical and ecological aspects of the infection biology of *Heterobasidion annosum*. Ph.D. dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Stenlid J. and Redfern D.B. 1998. Spread within the tree and stand. – In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 126-129.
- 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.
- Thor, M., 2005. *Heterobasidion* Root Rot in Norway Spruce: Modelling incidence, control efficacy and economic consequences in Swedish forestry. Swedish University of Agricultural Sciences. p.50.
- Tubby, K. V., Scott, D., Webber, J. F. (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 Pathology*, 38 (1): 37-46.
- 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), pp.285–295.
- 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.
- Zālītis P. 2009. Latvijas meža klasifikācija.
http://www.silava.lv/userfiles/file/Latvijas_me u_klasifik acija%20Silava%2007_2009-1.pdf

Zviedre A., Mangalis I. 2003. priedes – Grām: Meža enciklopēdija, pirmais sējums, Rīga, Apgāds “Zelta Grauds”: 258 - 259.

Maģistra darbs „Celma augstuma ietekmes novērtējums uz sakņu piepes *Heterobasidion* spp. un lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* attīstību maza diametra priežu koksne” izstrādāts LU Bioloģijas fakultātē.

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

Autore: Liene Dārta Lukstiņa

02.06.2020.

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

02.06.2020.

Recenzente:

Dr. biol. Alīna Mihailova

Darbs iesniegts LU Bioloģijas fakultātē 02.06.2020.

Lietvede:

Darbs aizstāvēts Bioloģijas maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē

prot. Nr. , vērtējums

Komisijas sekretārs/e: