

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
MIKROBIOLOĢIJAS UN BIOTEHNOLOĢIJAS KATEDRA

PHLEBIOPSIS GIGANTEA ATTĪSTĪBA MAZA
DIAMETRA SKUJU KOKU CELMOS

Maģistra darbs

Autors: Anete Ēberliņa

Stud. apl. Nr. ae11031

Darba vadītāji: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

Dr. biol. Vizma Nikolajeva

Konsultante: Mg. biol. Kristīne Kenigsvalde

RĪGA 2016

KOPSAVILKUMS

Lai novērtētu *P. gigantea* micēlija attīstību skuju koku celmos sastāva kopšanas cirtēs, četrās audzēs Vidusdaugavas mežsaimniecībā tika ierīkots eksperiments, kurā ar „Rotstop” un divu Latvijas *P. gigantea* izolātu konīdijsporu suspensijām apstrādāja maza diametra (3 – 12 cm) parasto egļu un parasto priežu celmus. Pēc gada tika ievākti koksnes paraugi un analizēta *P. gigantea* attīstība celmos. *P. gigantea* izolāti labāk attīstījās maza diametra priežu celmos nekā egļu celmos. Dabiskā *P. gigantea* infekcija konstatēta 20% maza diametra priežu celmu. Salīdzinot „Rotstop” ar vietējiem izolātiem, Latvijas izolāta PG137 attīstības biežums priežu celmos būtiski neatšķīrās un *P. gigantea* micēlijs sasniedza sakņu kaklu 81% kolonizēto celmu.

Turpmākajā darbā paredzēts analizēt *P. gigantea* infekcijas attīstību maza diametra skuju koku celmos divus gadus pēc sastāva kopšanas cirtes.

Atslēgvārdi: *Phlebiopsis gigantea*, maza diametra celmi, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, sastāva kopšanas cirtes, *Heterobasidion*

SUMMARY

The development of *Phlebiopsis gigantea* in small diameter conifer stumps

In order to assess the development of *P. gigantea* in conifer stumps created during precommercial thinnings, an experiment was established in Vidusdaugavas forestry, where Scots pine and Norway spruce stumps with small diameter (3 – 12 cm) were treated with „Rotstop” and two *P. gigantea* isolates from Latvia.

After a year samples were collected from stumps and the development of *P. gigantea* was analysed. Isolates of *P. gigantea* developed in pine stumps more frequently than in spruce stumps. Natural *P. gigantea* infection was detected in 20% of control stumps. The incidence of development between isolate PG137 from Latvia and commercially produced „Rotstop” did not differ significantly. In 81% of stumps colonised by *P. gigantea*, its mycelium reached the root collar, which could favour the reduction of secondary spread of *Heterobasidion* spp. in stumps with small diameter.

In future studies it is planned to analyse the development of *P. gigantea* in conifer stumps with a small diameter two years after the treatment.

Key words: *Phlebiopsis gigantea*, small diameter stumps, *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, precommercial thinning, *Heterobasidion*

SATURS

IEVADS	5
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Lielās pergamentsēnes <i>Phlebiopsis gigantea</i> bioloģija	7
1.2. Sakņu piepes <i>Heterobasidion</i> spp. bioloģija.....	9
1.2.1. <i>Heterobasidion</i> spp. sugas un to ģeogrāfiskā izplatība.....	9
1.2.2. <i>Heterobasidion</i> spp. dzīves cikls.....	10
1.2.3. <i>Heterobasidion</i> spp. attīstība laboratorijas apstākļos.....	11
1.3. <i>Heterobasidion</i> spp. izplatības ierobežošana	12
1.4. Bioloģiskā celmu aizsardzība pret <i>Heterobasidion</i> spp.	13
1.4.1. <i>P. gigantea</i> kā bioloģiskais preparāts pret <i>Heterobasidion</i> spp.....	14
1.4.2. <i>P. gigantea</i> darbības mehānisms.....	15
1.5. <i>Phlebiopsis gigantea</i> bioloģiskā preparāta ietekme uz vidi.....	16
1.6. Maza diametra celmu nozīme <i>Heterobasidion</i> spp. infekcijas izplatībā.....	18
2. MATERIĀLI UN METODES	20
2.1. Pētījuma objektu raksturojums.....	20
2.2. <i>P. gigantea</i> sporu suspensiju sagatavošana.....	21
2.3. Eksperimenta ierīkošana	21
2.4. Koksnes paraugu ievākšana	23
2.5. Ievāktu koksnes paraugu apstrāde laboratorijā	23
2.6. Datu apstrādes un analīze.....	24
3. REZULTĀTI.....	26
3.1. <i>Heterobasidion</i> spp. dabiskās infekcijas izplatība	26
3.2. <i>P. gigantea</i> attīstība skuju koku celmos.....	26
3.2.1. <i>P. gigantea</i> attīstība maza diametra priežu celmos.....	27
3.2.2. <i>P. gigantea</i> attīstība maza diametra egļu celmos.....	31
3.3. Celmu virsmas sasveķojuma pakāpes ietekme uz <i>P. gigantea</i> micēlija attīstību skuju koku celmos	31
4. DISKUSIJA	32
SECINĀJUMI.....	36
PATEICĪBAS.....	37
IZMANTOTĀS LITERATŪRAS SARAKSTS	38

IEVADS

Heterobasidion spp. ir viens no Ziemeļreiopā izplatītākajiem skuju koku trupes iemesliem, kas ik gadu rada būtiskus finansiālos zaudējumus mežsaimniecībā – aptuveni 790 milj. eiro (Thor 2005). Latvijā parasto egļu audzēs konstatēti sakņu trupes zaudējumi no 800 līdz 4790 eiro uz hektāru galvenās cirtes aprites laikā (Gaitnieks *et al.* 2007).

Lai ierobežotu *Heterobasidion* spp. izplatību, izmanto tās antagonistiskās attiecības ar bazīdijsēni *Phlebiopsis gigantea*, kas ir saprotrofs. *P. gigantea* kolonizē celma virsmu, samazinot sakņu primāro inficēšanos ar *Heterobasidion* spp. Latvijā sakņu piepes ierobežošanai krājas kopšanas cirtēs svaigu skuju koku celmu apstrādei izmanto bioloģisko preparātu „Rotstop”, kura sastāvā ir *P. gigantea* sporas.

Sastāva kopšanas cirtēs celmu apstrāde netiek veikta, jo pastāv uzskats, ka maza diametra celmiem nav būtiska nozīme *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatībā un ka to koksnes īpašības nav piemērotas infekcijas attīstībai (Vollbrecht *et al.* 1995). Zviedrijā veiktajos pētījumos novērots, ka *Heterobasidion* spp. micēlijs no maza diametra egļu celmiem, kas inficēti ar konīdijsporām, ir spējīgs izplatīties arī blakus augošos kokos (Gunulf, Wang, Englund & Rönnberg 2013), tāpēc ir jāizvērtē nepieciešamība apstrādāt maza diametra skuju koku celmus ar bioloģiskajiem preparātiem. Līdz šim ir veikti tikai nepilnīgi pētījumi par *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. izplatību maza diametra priežu celmos.

Tika izvirzītas sekojošās hipotēzes:

- *P. gigantea* dabiskā infekcija ierobežo *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekcijas izplatību;
- Ar *P. gigantea* sporu suspensiju apstrādātajos maza diametra skuju koku celmos attīstās *P. gigantea* micēlijs;
- *P. gigantea* micēlijs maza diametra skuju koku celmos izplatās līdz celma sakņu kaklam.

Maģistra darba mērķis bija novērtēt lielās pergamentsēnes (*Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich) micēlija attīstību parastās priedes (*Pinus sylvestris* L.) un parastās egles (*Picea abies* (L.) H. Karst.) celmos sastāva kopšanas cirtēs.

Lai sasniegtu darba mērķi, tika noteikti šādi uzdevumi:

1. Salīdzināt *P. gigantea* bazīdijsporu un konīdijsporu infekcijas attīstību skuju koku celmos;
2. Salīdzināt „Rotstop” izolāta un Latvijas *P. gigantea* izolātu augšanas dziļumu maza diametra skuju koku celmos;
3. Analizēt *P. gigantea* micēlija attīstību maza diametra egļu un priežu celmos;
4. Novērtēt *P. gigantea* nozīmi maza diametra celmu aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp. infekciju.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* bioloģija

Boreālajos mežos plaši izplatītā saprotrofiskā bazīdijsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich ir zināma arī kā *Peniophora gigantea* (Fr.) Masee, *Phanerochaete gigantea* (Fr.: Fr.) Rattan un *Phlebia gigantea* (Fr.) Donk. Tā izraisa skuju koku balto trupī. Sekmīgai tās attīstībai nepieciešams augsts mitruma saturs substrātā. Sēne ir primārā koksnes kolonizētāja un attīstās atmirušā koksne, līdz ar to nav bīstama augošu koku audiem. Tā veido iekrāsojumu nozāģētā un mežā atstātā koksne (Holdenrieder & Greig 1998, Kenigsvalde et al. 2011).

P. gigantea augļķermeņus (1. attēls) izveido viena līdz četru gadu laikā. Tie ir bieži atrodamī uz celmiem, baļķiem un kritušiem kokiem. Viengadīgie augļķermeņi parasti ir pelēkbalti līdz dzeltenbrūni, plūdenas formas, 0.5 mm biezi un aug cieši pie substrāta. Novecojot, augļķermenis sažūst un malas atdalās no substrāta, atgādinot pergamentu. Himēnijs ir ūdeņaini vaskains un daļēji caurspīdīgs un kļūst gluds, kad paliek sauss. Himēniju veidojošās hifas ir šauras un ar plānām sieniņām (Holdenrieder & Greig 1998).



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

Figure 1. The fruitbody of *P. gigantea* (photo by T. Gaitnieks).

Nobriedušos augļķermeņos bazīdijas sasniedz 16-22 x 4-5 μm izmēru, jaunos augļķermeņos tās mēdz būt garākas – līdz pat 42 μm . Bazīdijas ir gandrīz cilindriskas formas ar paplašinātu galu un četrām sterigmām. Augļķermeņos starp bazīdijām ir arī daudz konisku cistīdu, kas ir sterilas. Cistīdas ir ar biezām sieniņām un 50-80 x 10-15 μm lielas, kā arī pamatīgi noklātas ar kristāliem apikālajā daļā, izvirzoties no himēnija virsmas līdz pat 40 μm (Eriksson et al. 1981).

Bazīdijsporas ir elipsoīdas, ar gludu virsmu, plānām sienām un 6.5-8 x 3-3.5 μm lielas (Eriksson et al. 1981; Holdenrieder & Greig 1998). Oīdijas, sauktas arī par artrokonīdijām, ir īsas, iegareni cilindriskas 1.5-5 μm diametrā, ar plānām sienām (Nakasone 1990). Šīs bezdzimumsporas veidojas fragmentējoties hifām. Lai gan oīdijas ir spējīgas kolonizēt koksni un veidojas dabiski, nav līdz galam skaidra to loma sēnes dzīves ciklā (Holdenrieder & Greig 1998).

Auglķermeņa hifu sistēma satur tikai ģeneratīvās hifas. Tās ir diametrā no 2 – 5 μm, ar gludu virsmu un vienkāršām septām (Eriksson et al. 1981). Hifām raksturīgi sprādzu savienojumi un tās ir mēreni sazarotas, atzarojoties uzreiz zem septām vai uz labo pusi pretēji no sprādzu savienojumiem (Nakasone 1990). Veģetatīvajam micēlijam raksturīgas oīdijas, daudz sprādzu savienojumu un hifas, kas klātas ar kalcija oksalāta kristāliem (Holdenrieder & Greig, 1998).

Optimālā *P. gigantea* augšanas temperatūra laboratorijas apstākļos augot uz barotnes ir 20 – 25°C (Mgbeahuruike et al. 2011; Swanwick 2007). Laboratorijas apstākļos pētot *P. gigantea* attīstību parastās egles koksne dažādās temperatūrās, novērots, ka *P. gigantea* aizņemtais laukums koksne būtiski samazinās pie temperatūras, kas zemāka par 5°C. Temperatūra līdzīgi ietekmē augšanu arī lauka apstākļos (Zhao 2013).

P. gigantea ātri ieaug celma saknēs, efektīvi noārdot sakņu sistēmu (Kenigshalde et al. 2011). Sēne kolonizē priedes aplievas koksni daudz efektīvāk nekā egles koksni (Korhonen 2003).

Kad *P. gigantea* auglķermeņi ir nobrieduši, no tiem atbrīvojas bazīdijsporas, kas ar gaisa plūsmu spēj izplatīties attālumā līdz pat 400 km. Lielākā daļa sporu tiek atbrīvotas nakts laikā. Sporulācijas intensitāti ietekmē vides temperatūra – tā samazinās pie ekstrēmām gaisa temperatūrām un nenotiek, ja auglķermeņi sasalt vai izkalst (Holdenrieder & Greig, 1998).

Visaktīvākā bazīdijsporu izplatīšanās notiek laikā no aprīļa līdz maijam un strauji samazinās no septembra vidus. Kad vidējā gaisa temperatūra sasniedz 5°C līdz 15°C, konstatēta visaugstākā *P. gigantea* infekcija. Tās augšanai piemērotākais relatīvais gaisa mitrums nepārsniedz 90% (Kallio & Hallarsela 1979).

P. gigantea attīstība novērota *Pinus pinea*, *P. nigra*, *P. laricio*, *P. halapensis*, *P. sylvestris*, *Picea abies*, *Abies alba*, *Larix decidua* un *Juniperus* spp. koksne (Eriksson et al. 1981).

1.2. Sakņu piepes *Heterobasidion* spp. bioloģija

1.2.1. *Heterobasidion* spp. sugas un to ģeogrāfiskā izplatība

Bazīdijsēņu ģints *Heterobasidion* izraisa sakņu trupi (2. attēls), kas ir plaši sastopama skuju koku slimība mērenā klimata joslā un rada lielus zaudējumus mežsaimniecībā. Ģints vēl nesien ietvēra tikai piecas taksonomiskās sugas, bet tagad sugu skaits ir pieaudzis.



2. attēls. *Heterobasidion* spp. izraisītā sakņu trupe (T. Gaitnieka foto).

Figure 2. Root rot caused by *Heterobasidion* spp. (photo by T. Gaitnieks).

Eiropā sastopamās sugas – *H. annosum* (Fr.) Bref., *H. abietinum* Niemelä & Korhonen un *H. parviporium* Niemelä & Korhonen, Ziemeļamerikā – *H. irregulare* Otrrosina & Garbelotto un *H. occidentale* Otrrosina & Garbelotto, Austrālijā - *Heterobasidion araucariae* P.K. Buchanan. Lai gan sugas noteiktas pēc filoģenētiskās analīzes un morfoloģijas, tās raksturo arī atšķirīga saimniekorganisma izvēle (Garbelotto & Gonthier 2013).

Heterobasidion spp. visbiežāk inficē skuju kokus no ģintīm *Pinus*, *Juniperus*, *Picea*, *Abies*, *Tsuga*. Dažos gadījumos ir novērota sakņu trupe lapu kokiem – *Betula*, *Quercus*. Sēņu ģints ir ģeogrāfiski plaši izplatīta, jo sastopama dažādās Eiropas, Ziemeļamerikas, Ķīnas un Japānas daļās (Asiegbu et al. 2005).

H. annosum visbiežāk attīstās priedēs (*Pinus* spp.), it īpaši parastajā priedē (*Pinus sylvestris* L.), bet var inficēt arī citas skuju un arī dažas platlapju koku sugas. *H. parviporium* pamatā attīstās parastās egles (*Picea abies* (L.) Karst.) koksnē un *H. abietinum* Eiropas baltegles (*Abies alba* Mill.) koksnē un citās *Abies* ģints sugās. Ziemeļamerikā *H. irregulare* galvenokārt inficē priedes, kadiķus (*Juniperus* spp.) un *Calocedrus decurrans* (Torr.) Florin., turpretī *H. occidentale* attīstās *Abies*, *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga* un *Sequoiadendron* ģints sugās (Garbelotto & Gonthier 2013; Otrrosina & Garbelotto 2010). Latvijā sastopamas divas sugas: *H. annosum* un *H. parviporium*.

Lapu kokos *Heterobasidion* spp. attīstība novērota tikai jauktās audzēs ar jau inficētiem skuju kokiem (Korhonen and Stenlid 1998).

1.2.2. *Heterobasidion* spp. dzīves cikls

Heterobasidion spp. infekcijas dzīves cikls iedalās divās fāzēs.

Primāro infekciju izraisa ar vēju pārnestās bazīdijsporas, kas nokļūst uz svaigi atklātām celmu virsmām, stumbra vai sakņu ievainojumiem. Stumbra un sakņu bojājumi ir īpaši nozīmīgi *Heterobasidion* spp. izplatībai neapsaimniekotos mežos, kur nav cilvēka darbības rezultātā radītu celmu (Garbelotto & Gonthier 2013).

Sporas, kas nokļuvušas uz koka mizas, spēj saglabāt dzīvotspēju mizas plātnēs vairākus mēnešus, bet neuzdīgt. Taču gadījumā, ja koks tiek nocirsts vai nozāģēts, sporas var kolonizēt koksni. Ja sporas nokļūst uz augsnes, tās līdz sakņu sistēmai var ieskalot lietus ūdens. Sporas gan neinficē veselās, nebojātas saknes, tomēr sēne spēj zināmā mērā noārdīt mizu. Ir nepieciešama atvērta bojājuma vieta saknēs, lai notiktu strauja infekcija (Korhonen and Stenlid 1998).

Kad sēne ir attīstījusies celma saknēs, tā micēlija veģetatīvās augšanas rezultātā caur sakņu kontaktiem ir spējīga ieaukt arī veselos kokos. Vidējais *Heterobasidion* spp. micēlija augšanas ātrums koka stumbrā ir 20 – 30 cm gadā, sasniedzot pat 1 m gadā (Korhonen and Stenlid, 1998). Sēnes augšanas ātrums koku saknēs var sasniegt 2 m gadā, vidēji augot 20 – 50 cm gadā (Asiegbu et al. 2005). Sekundārā infekcija, kur *Heterobasidion* spp. izplatās no viena koka uz otru, ir atkarīga no sakņu kontaktu esamības, jo sēne nav spējīga pārvarēt augsnes mikroorganismu nomācošo ietekmi. Epifītiska augšana uz sakņu virsmas novērota tikai vietās ar augstu augsnes pH (Holdenrieder & Greig, 1998).

Primārais micēlijs pārsvarā ir haploīds un izveidojas, dīgstot vienai bazīdijsporai. Sekundāro micēliju veido haploīdu un heterokariotisku micēliju kopums. Heterokariotisks micēlijs rodas, kad saplūst ģenētiski neradnieciski haploīdi primārie micēliji, kam seko haploīdu sektoru nodalīšanās. Haploīdo sektoru biežums, iespējams, ir atkarīgs no ģenētiskā attāluma starp sapārotajiem primārajiem micēlijiem (Garbelotto & Gonthier 2013).

Diviem ģenētiski atšķirīgiem heterokariotiskiem micēlijiem saskaroties, starp tiem izveidojas demarkācijas zona, kas palīdz saglabāt jau aizņemto substrāta daļu. Šo procesu sauc par somatisko nesaderību (Korhonen and Stenlid, 1998).

Heterobasidion spp. augļķermeņi (3. attēls) ir daudzgadīgi un attīstās pārsvarā tikai uz mirušiem kokiem – zem sūnām pie stumbra pamatnes, uz kaldušu vai izgāztu koku saknēm, mitrās vietās uz kritušiem koku stumbriem vai dobumainos celmos. Tie ir neregulāras formas ar baltu, krokotu malu, 3.5 (-7) cm biezi un līdz pat 40 cm diametrā. Augšējās virsmas krāsa ir

dzelteni līdz tumši brūna. Poru slānis ir balts un poras ir ieapaļas (Korhonen and Stenlid, 1998, Asiegbu et al. 2005).



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

Figure 3. The fruitbody of *Heterobasidion* spp. (photo by T. Gaitnieks).

Bazīdijsporas ir ieapaļas un ar nelīdzenu virsmu, 3.5-5.0 x 3.0-4.0 μm izmērā (Kallio 1970). Lielākā daļa bazīdijsporu tiek atbrīvotas netālu no augļķermeņa, tuvu augsnes virskārtai. Dzīvotspējīgas ir tikai 1 – 5 % svaigi atbrīvotu sporu. Tās sastopamas arī uz lapām, skujām, zariem un augsnē. Sporas, kas nonākušas uz koku lapotnes, lietus laikā var tikt noskalotas uz blakus esošajiem celmiem. Gaismā un temperatūrās, kas augstākas par 15°C, bazīdijsporu dzīvotspēja strauji samazinās (Redfern and Stenlid, 1998, Kallio 1970).

Mitros apstākļos gan homokariotisks, gan heterokariotisks *Heterobasidion* spp. micēlijs veido vāļišveida konīdijnesējus ar konīdijsporām. Šīs bezdzimumsporas izmēros sasniedz 3.8 – 6.6 x 2.8 – 5.0 μm un satur no viena līdz četriem kodoliem (Asiegbu et al. 2005). To virsma ir gluda. Konīdijsporu nozīme *Heterobasidion* spp. izplatībā vēl nav pilnībā izskaidrota. Tās izplata vējš, lietus vai dzīvnieki, turklāt tās ir spējīgas izdzīvot vaboļu, ērcu un kolembolu barības traktā. Iespējams, konīdijsporas palīdz sēnei izplatīties nelielos attālumos starp saknēm un celmiem (Korhonen and Stenlid 1998).

Heterobasidion spp. izraisītie simptomi ir atkarīgi no konkrētās patogēna un arī koka sugas, audzes vecuma un iepriekšējās izmantošanas, augsnes tipa, vietējā klimata, un, iespējams, atmosfēras piesārņojuma (Garbelotto & Gonthier 2013). Eglēm simptomi bieži vien nav ārēji redzami, jo trupe attīstās koka stumbrā, un infekcija tiek konstatēta tikai pēc vējgāzēm vai izstrādājot mežu. Inficētiem kokiem var parādīties sveķaini izdalījumi pie pamatnes, hloroze, kā arī nokaltuši vainagi (Garbelotto & Gonthier 2013; Greig 1998).

1.2.3. *Heterobasidion* spp. attīstība laboratorijas apstākļos

Augot uz iesala ekstrakta barotnes, *Heterobasidion* spp. micēlijs sākotnēji ir balts, bet vēlāk var kļūt tumši vai oranži brūns. Augšanas ātrums 20 – 22°C temperatūrā ir aptuveni

6.5 – 9 mm dienā. Optimālā temperatūra micēlija augšanai ir 22 – 28°C, bet tas ir spējīgs augt jau 0 – 2°C temperatūrā. Pie 32 – 37°C robežas augšana apstājas, un pie 38 – 35°C divu stundu laikā organisms iet bojā. Šie parametri variē atkarībā no izolāta individuālajām īpašībām. Temperatūra, kas nepieciešama konīdijsporu un bazīdijsporu dīgšanai, ir līdzīga kā micēlija attīstībai. Pēc dažām dienām kultūras sāk veidot konīdijsporas, taču mēdz būt arī lēni augošie micēliji, kas producē kristālus uz koloniju virsmas un veido mazāk konīdijsporu (Korhonen and Stenlid 1998).

Jaunās šūnas, kas atrodas hifu galos, ir aptuveni 300 – 750 µm garas un 2.2 – 4.5 µm platas. Tām ir daudz kodolu, jo tās ir aktīvi augošas. Kodolu skaits šūnās ir parasti ir 10 – 30, un var sasniegt līdz pat 80. Tie ir vienmērīgi izplatīti šūnā un izmēros salīdzinoši nelieli. Vecākās šūnās kodolu skaits mēdz būt mazāks – no viena līdz desmit. Parasti septas hifās ir vienkāršas.

Sprādžu savienojumi laiku pa laikam izveidojas heterokariotisko hifu šūnu dalīšanās procesā, bet tas nenotiek regulāri. Lielākoties tie atrodami uz garām, taisnām hifām, kuru citoplazmā nav vakuolu. Šīs hifas, iespējams, atbild par komunikāciju starp dažādām micēlija daļām (Korhonen and Stenlid 1998).

1.3. *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošana

Heterobasidion spp. ir dabiski sastopama mežu ekosistēmās, kā saprotrofs. Sēne piedalās barības vielu apritē, ietekmē koku sugu sastāvu, audzes blīvumu un struktūru, kā arī meža sukcesijas tempu. Meža izstrādāšana siltajā gada laikā stimulē *Heterobasidion* spp. izplatīšanos, jo veidojas nedabiski augsts *Heterobasidion* spp. piemērotu substrātu (svaigi zāģētu celmu, stumbra un sakņu bojājumu vietas) daudzums (Asiegbu et al. 2005; Garbelotto & Gonthier 2013).

Intensīvi apsaimniekotās skuju koku tīraudzēs, kā arī, ja tās atrodas uz bijušajām lauksaimniecības zemēm, *Heterobasidion* spp. ievērojami ietekmē audzes produktivitāti. Sakņu trupe katru gadu Eiropas Savienībā izraisa aptuveni 790 milj. eiro lielus zaudējumus. Fenoskandijā tie ir aptuveni 90 milj. eiro gadā, no kuriem 54 milj. eiro ir zaudējumi Zviedrijā (Thor 2005). Sakņu trapes izraisītie zaudējumi Latvijā parasto egļu audzēs sastāda 800 līdz 4790 eiro uz hektāru galvenās cirtes aprites laikā (Gaitnieks et al. 2007). Zaudējumus palielina arī paaugstinātais vējgāžu risks inficētiem kokiem.

Lai ierobežotu *Heterobasidion* spp. izplatību iespējams izmantot gan ķīmiskos, gan bioloģiskos preparātus, kā arī mežsaimnieciskos paņēmienus. No ķīmiskajiem līdzekļiem celmu apstrādē izmanto urīnvielas šķīdumu vai dinātrija oktaborāta tetrahidrātu. Urīnvielai sadaloties uz celma virsmas, paaugstinās vides pH, sasniedzot līmeni, kurā tas kļūst toksisks

Heterobasidion spp. sporu dīgšanai (Johansson et al. 2002). Ķīmiskajiem aizsardzības līdzekļiem ir nelabvēlīga ietekme uz vidi. Tie var izraisīt veģetācijas bojājumus un ietekmēt mikrofloras bioloģisko daudzveidību, tāpēc ar vien biežāk tiek dota priekšroka bioloģiskajiem preparātiem. Salīdzinot veģetāciju ap celmiem, kuri apstrādāti ar bioloģisko preparātu (kura sastāvā ir *P. gigantea*), borāta vai urīnvielas šķīdumiem, novērots, ka borāta un urīnvielas izmantošana izraisa ievērojamus bojājumus lielākajai daļai augu sugu, it īpaši briofītiem. Turpretī, *P. gigantea* izmantošana neradīja nekādus redzamus bojājumus (Westlund & Norhstedt 2000).

Jau iepriekš inficētās egļu audzēs Alpos *P. gigantea* izrādījās visefektīvākais aizsardzības līdzeklis, salīdzot ar urīnvielas un vara oksihlorīda šķīdumiem. No celmiem, kas apstrādāti ar *P. gigantea*, tikai 21% celmu ar bija inficēti *Heterobasidion* spp., un aizņemtais laukums bija mazāks, nekā kontroles celmos. Kontroles audzēs visi celmi bija inficēti ar *Heterobasidion* spp. (Nicolotti & Gonthier 2005).

Salīdzinot egļu audzes, kurās pirms 12 – 14 gadiem tika veikta celmu apstrāde ar kādu no aizsardzības līdzekļiem, ar audzēm, kurās celmus neapstrādāja, secināts, ka apstrāde būtiski samazināja *Heterobasidion* spp. izplatību audzēs, kas iepriekš bijušas lauksaimniecības zemes. Atjaunotajās mežaudzēs sekmīgu ilgtermiņa aizsardzību nenovēroja, iespējams, augstās, iepriekš esošās *Heterobasidion* spp. sastopamības dēļ (Oliva et al. 2010).

Mežsaimnieciskie paņēmieni *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošanai ir mežizstrādes veikšana laikā, kad gaisa temperatūra ir zemāka par 5 °C, celmu izstrāde spēcīgi inficētās platībās, iepriekš inficētas audzes reģenerācija ar koku sugām, kuras ir neuzņēmīgas pret *Heterobasidion* spp. (Garbelotto & Gonthier 2013).

1.4. Bioloģiskā celmu aizsardzība pret *Heterobasidion* spp.

Spēja sadalīties dabā ir bioloģisko aizsarglīdzekļu priekšrocība, tomēr pastāv arī trūkumi. Bioloģiskie preparāti ir daudz jutīgāki pret vides apstākļiem, līdz ar to, izmantojot tos, nepieciešams vairāk zināšanu un piepūles. Arī to uzglabāšana ir sarežģītāka, jo tiem ir ierobežots derīguma termiņš. Vislielākās bažas sagādā bioloģisko preparātu potenciālā ietekme uz bioloģisko daudzveidību (Holdenrieder & Greig, 1998).

Lai ierobežotu jaunu *Heterobasidion* spp. infekcijas centru veidošanos būtiski ir novērst svaigu celmu inficēšanos ar bazīdijsporām. Viena no ierobežošanas iespējām ir dabisko antagonistu izmantošana celmu apstrādē. Uz svaiga celma virsmas *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu biomasa ir salīdzinoši maza, un tas ir vāji konkurētspējīgs ar citiem saprotrofiem, turklāt kā papildus stresa faktori tā sekmīgai attīstībai ir pārāk liels celma virsmas sausums vai

mitrums un temperatūras izmaiņas. Celmā *Heterobasidion* spp. izplatību var kavēt endofītiskās sēnes, jo ir kolonizējušas koksni pirms tam (Holdenrieder & Greig, 1998).

Bioloģiskā preparāta efektivitāti *Heterobasidion* spp. ierobežošanā ietekmē celma virsmas apstrādes kvalitāte un preparāta sastāvā esošo sporu dīgtspēja un tālākā attīstība. Mehāniskās celmu apstrādes rezultātā celmi netiek pilnībā noklāti, un rodas iespēja attīstīties *Heterobasidion* spp. Tomēr pat tad, kad bioloģiskais preparāts ir ticis uzklāts visai celma virsmai, līdz pat 30% apstrādāto celmu var tikt inficēti ar *Heterobasidion* spp. (Berglund & Rönnerberg 2004), tātad arī citi faktori, piemēram, gaisa temperatūra, ietekmē bioloģiskā preparāta darbību.

Daudz dažādi mikroorganismi ar atšķirīgām metodēm ir pētīti sakarā ar to antagonistiskajām attiecībām ar *Heterobasidion* spp., taču nereti šie eksperimenti ir veikti nepilnīgi – vai nu tikai *in vitro*, vai ar pārāk mazu atkārtojumu skaitu. Visbiežāk pētītās sēnes ir *Phlebiopsis gigantea*, *Bjerkandera adusta*, *Fomitopsis pinicola*, *Resinicium bicolor*, *Hypholoma* spp., *Melanotus proteus*, *Armillaria* spp., *Trichoderma* spp. un *Scytalidium* spp. (Holdenrieder & Greig 1998). Efektīvi kolonizējot svaigu celmu virsmu, *P. gigantea* samazina *Heterobasidion* spp. primārās infekcijas iespēju un novērš *Heterobasidion* spp. auglķermeņu veidošanos, līdz ar to arī turpmāko izplatību audzē (Kenigshalde et al. 2011).

1.4.1. *P. gigantea* kā bioloģiskais preparāts pret *Heterobasidion* spp.

Šobrīd pasaulē celmu bioloģiskajā aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp. izmanto bazīdijsēni *P. gigantea*. Pirmo reizi *P. gigantea* celmu aizsardzībai mežaudzēs tika izmantota 1960. gadā Lielbritānijā (Rishbeth 1963). Tagad bioloģiskais preparāts komerciāli tiek ražots Skandināvijā (Rotstop (F un S)), Lielbritānijā („PG suspension”) un Polijā („PG IBL”).

Preparāts „Rotstop” izstrādāts Somijā un tika reģistrēts lietošanai Latvijā kā „Augu aizsardzības līdzeklis Rotstops p.s.” 2007. gadā. Kopš 2008. gada tas tiek pielietots krājas kopšanas cirtēs (Kenigshalde et al. 2011). Latvijas Valsts Mežu izvirzītās Rotstopa lietošanas kvalitātes prasības neparedz tā izmantošanu sastāva kopšanas cirtēs (Anonīms, 2013).

Lai *P. gigantea* efektīvi spētu kolonizēt celmus, uz celma virsmas jānokļūst pietiekami lielam skaitam dzīvotspējīgu sporu. *P. gigantea* ir īpaši labi pielāgojusies attīstībai priedes koksnē, un veiksmīgi kolonizē to arī pie zemām sporu koncentrācijām (Meredith 1959; Rishbeth 1951). Sēne attīstās arī egles koksnē, tomēr augšana nav tik strauja (Kallio 1971a; Rishbeth 1951). Tas ietekmē *P. gigantea* spēju konkurēt ar *Heterobasidion* spp. abās koku sugās (Meredith 1959; Rishbeth 1951).

Kenigshalde et al. (2015) pētījumā vidējā „Rotstop” efektivitāte *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanā Latvijā egļu celmos sasniedza 89%, aprēķinot to pēc

Heterobasidion spp. aizņemtā laukuma. Priežu celmos „Rotstop” efektivitāte sasniedza 95%. Pētījumā apsekoto celmu diametrs variēja no 13,3 līdz 26,3 cm.

Salīdzinot 64 dažādus *P. gigantea* izolātus pēc dažādiem parametriem laboratorijā un egles koksnē, *Heterobasidion* spp. ierobežošanas efektivitāte izrādījās atkarīga no *P. gigantea* augšanas ātruma koksnē (Sun et al. 2009).

P. gigantea 25 °C temperatūrā attīstās ātrāk nekā *Heterobasidion* spp., tādējādi, gadījumā, ja celma virsma ir apstrādāta nepilnīgi, *P. gigantea* spēj veiksmīgi ierobežot *Heterobasidion* spp. (Swanwick 2007). Savukārt 15 °C temperatūrā *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. attīstības ātrums celmos ir līdzīgs, tādēļ ar *P. gigantea* neapstrādātajās vietās var attīstīties *Heterobasidion* spp. 4 °C temperatūrā *P. gigantea* vairs nav spējīga aizsargāt celmu.

1.4.2. *P. gigantea* darbības mehānisms

Nav atrasti pierādījumi tam, ka *P. gigantea* izdalītu kādus toksiskus savienojumus *Heterobasidion* spp. augšanas ierobežošanai. Kad abu sēņu izolāti aug uz viena un tā paša substrāta, micēliju pāraugšana notiek bez izteiktas abpusējas augšanas inhibīcijas zonas. Ieskatoties tuvāk, *P. gigantea* ievērojami ietekmē *Heterobasidion* spp. hifu struktūru un funkcionēšanu, līdz tādām mēram, ka tās pat atmirst (Ikediugwu et al. 1970; Ikediugwu, 1976). Šī parādība, saukta par hifu interferenci (hyphal interference), ir bieži sastopama sēnēm, starp kurām pastāv starpsugu konkurence. Tāda veida antagonisms hifu līmenī ir novērots tikai *in vitro*. Blīvi hialīna hifu sakopojumi *P. gigantea* augļķermeņu malās, iespējams, ir mehāniskā barjera pret citām konkurējošajām sēnēm (Holdenrieder & Greig, 1998).

Inficējot egļu celmus ar abām sēnēm, *P. gigantea* izplatījās daudz straujāk un pārauga *Heterobasidion* spp. (Kallio 1971b). Priežu celmos abu sēņu augšanas ātrums bija līdzīgs – aptuveni 2.2 – 2.4 mm dienā (Meredith 1960). Tas, ka *P. gigantea* spēj ātrāk kolonizēt celma virsmu, kā arī strauji izplatīties koksnē, daļēji izskaidro *P. gigantea* spēju ierobežot *Heterobasidion* spp. izplatību. *P. sylvestris* koksnē abas sēnes uzrādīja līdzīgu koksnes svara samazinājumu (Holdenrieder & Greig, 1998).

Pētījuma, kurā tika salīdzināti 64 heterokariotiski *P. gigantea* izolāti no dažādām vietām Zviedrijā un citur Ziemeļeiropā pēc augšanas ātruma, lakāzes produkcijas, koksnes noārdīšanas spējas un antagonisma pret *Heterobasidion* spp. *in vitro*, rezultāti liecināja, ka abu sēņu antagonistiskā mijiedarbība daļēji ir atkarīga no tā, kā tās patērē dažādus koksnes struktūras komponentus, iegūstot oglekli, kas ir primārais barības vielu avots, lai izdzīvotu un nostabilizētos celmā (Mgbeahuruike et al. 2011).

Skuju koku audi ir lignificēti, līdz ar to satur lielu daudzumu fenolu savienojumu, kas sasaista ogļhidrātus vai hemicelulozi un lignīnu. Augi izdala arī toksiskus fenolus kā aizsargreakciju pret infekciju. Sēnes lakāzes enzīmi piedalās lignīna oksidācijā un šo fenolu degradācijā un detoksikācijā auga audos. Iespējams, *P. gigantea* spēja pārvarēt dažādu fenolu savienojumu toksicitāti veicina labāku, agresīvāku substrāta kolonizāciju (Mgbeahuruike et al. 2011).

Ir pētījumi, kas liecina par to, ka *P. gigantea* izmantošana priežu audzēs samazinājusi *Hylobius abietis* L. olu dēšanu celmos un saknēs, kas norāda, ka *P. gigantea* varētu aizsargāt arī pret šo kaitēkli (Holdenrieder & Greig, 1998).

1.5. *Phlebiopsis gigantea* bioloģiskā preparāta ietekme uz vidi

Ilgstoša viena *P. gigantea* genotipa izplatīšana mežos var ilgtermiņā ietekmēt tās vietējo populāciju bioloģisko daudzveidību (Vasiliauskas et al. 2004). Tā kā *P. gigantea* spēj efektīvi izplatīties ar sporām, tās populācija ir ļoti liela. Vienu celmu vienlaicīgi var kolonizēt pat vairāki ģenētiski atšķirīgi indivīdi. Starp *P. gigantea* Eiropas populācijām ir augsts ģenētiskā polimorfisma līmenis, tomēr viena genotipa ekstensīva izplatīšanās var samazināt ģenētisko daudzveidību sēnes dabiskajās populācijās, samazinot dabiskās infekcijas sastopamību un krustojoties ar tām. Mežos, kuros veikta celmu apstrāde, *P. gigantea* populācijām ir risks kļūt ģenētiski vienveidīgām (Vainio et al. 2001).

Vainio *et al.* (2001) pētījumā par to, kā „Rotstop” izmantošana ietekmē *P. gigantea* populāciju ģenētisko daudzveidību apstrādātās parasto egļu un parasto priežu audzēs, salīdzinot dažādus izolātus no eksperimentālajām audzēm Somijā un veicot to ģenētisko profilēšanu, secināts, ka „Rotstop” izmantošana, visticamāk, nerada tūlītējus draudus *P. gigantea* ģenētiskajai daudzveidībai. Tomēr būtu svarīgi novērtēt iespējamās ģenētiskās daudzveidības izmaiņas ilgākā laika periodā, jo iepriekš minētie rezultāti nevar tikt attiecināti gadījumos, kad visas audzes masveidā tiek apstrādātas ar „Rotstop”, kā arī, ja apstrādi turpina vairākās koku paaudzēs. Turklāt, eksperimentā paraugi iegūti no neliela skaita celmu.

Zviedrijā, novērtējot *P. gigantea* ietekmi uz citu sēņu daudzveidību, secināts, ka lai gan sugu daudzveidība ar „Rotstop” apstrādātajos celmos bija zemāka, lielākā daļa sēņu sugu tika konstatētas arī kontroles celmos. „Rotstop” sastāvā esošā *P. gigantea* dominēja salīdzinājumā ar citām sēņu sugām pirms četrus gadiem apstrādātajos celmos. *Heterobasidion* spp. bija vienīgā bazīdijsēne, kuras sastopamību būtiski samazināja „Rotstop” izmantošana (Vasiliauskas et al. 2005). Lai gan pēc 6 gadiem „Rotstop” gandrīz vairs nebija sastopams celmos, citu sēņu sugu daudzveidība nepalielinājās. Tas varētu būt skaidrojams ar to, ka *P. gigantea* jau stipri degradējusi koksni. Dabiskos apstākļos celma virsmu kolonizētu vairāk

sugu, kas izveidotu daudzveidīgāku mikrovidi, nodrošinot augstāku sekojošo sugu daudzveidību.

P. gigantea ilgāk saglabājas egļu celmos salīdzinājumā ar priežu celmiem. Sešus gadus pēc celmu apstrādes ar „Rotstop” egļu celmos sēne vēl bija sastopama, savukārt priežu celmos tā vairs netika konstatēta (Vainio *et al.* 2001).

Lai mazinātu riskus, kas saistīti ar svešzemju ģenētiskā materiāla izplatīšanu vidē, Zviedrijā, Itālijā, Lielbritānijā ir veikta vietējo *P. gigantea* izolātu izpēte. Daži no vietējiem izolātiem izrādījās efektīvāki pret *Heterobasidion* spp. izraisīto infekciju nekā „Rotstop”. Salīdzinot „Rotstop” un Latvijas *P. gigantea* izolāta G1 efektivitāti priežu un egļu celmos, netika novērota būtiska atšķirība starp abu izolātu sekmēm kolonizēt koksni, kā arī ierobežot *Heterobasidion* spp. izplatību (Kenigsvalde *et al.* 2015).

Ilgtermiņā apstrādājot celmus ar *P. gigantea* var ietekmēt ne tikai sēņu, bet arī citu organismu, piemēram, baktēriju daudzveidību. Baktērijas ir visbiežāk sastopamie koksni kolonizējošie mikroorganismi, un tiem ir būtiska loma koksnes noārdīšanas procesā. Sun *et al.* (2013) pētījumā par *P. gigantea* ietekmi uz baktēriju daudzveidību egļu celmos, secināts, ka sākotnēji *P. gigantea* negatīvi ietekmē baktēriju daudzveidību, tomēr ar laiku ietekme samazinās un baktēriju daudzveidība pakāpeniski atjaunojās. Tomēr jāņem vērā, ka iepriekš minētie rezultāti nav viennozīmīgi, jo koksnes baktēriju populāciju izmēri var būt dažādi, un tos var ietekmēt gan abiotiskie faktori, gan citu mikroorganismu sastopamība.

Ilgstoši izmantojot *P. gigantea* kā bioloģisko aizsarglīdzekli mežsaimniecībā, pastāv iespēja, ka tas varētu radīt selektīvu spiedienu patogēna rezistences attīstībai. Pētot *Heterobasidion* spp. rezistences pret *P. gigantea* iespējamo pieaugumu laboratorijas apstākļos egles koksne, tika secināts, kas teorētiski šāds risks pastāv, taču tas nav vērā ņemams (Samils *et al.* 2008).

Nav iepriekš ziņots par *P. gigantea* patogenitāti attiecībā pret kādu augu. Tomēr, tā ir spējīga kolonizēt svaigi zāgētus skuju koku celmus. Saprofītiskās *P. gigantea* pielāgošanās attīstībai dzīvu koku audos varētu ar laiku veicināt nekrotrofisku spēju attīstību. Nekrotrofī nogalina dzīvas šūnas, lai pēc tam tās saprotrofiski kolonizētu, turpretī saprotrofī izmanto tikai nedzīvas organiskās vielas. Ir sēnes, kas atkarībā no apstākļiem, ir spējīgas izmantot vienu vai otru barošanās veidu, jo tie neizslēdz viens otru. Evolucionāri nektrofī tiek uzskatīti par vairāk specializētiem, jo tie spēj pārvarēt saimniekorganisma rezistences mehānismus. Ir hipotēze, ka patogēniskais dzīvesveids ir cēlies virulences faktoram paaugstinoties saprotrofīem, jo saprotrofiskām un patogēniskām sēnēm sakrīt nozīmīgi metabolisma ceļi (Sun *et al.* 2011).

Tika salīdzinātas skuju koku atbildes reakcijas uz saprotrofo *P. gigantea* un patogēno *Heterobasidion* spp., lai novērtētu *P. gigantea* potenciālo nektrotrofo spēju. Neraksturīgi saprotrofiem, sākotnējā infekcijas stadijā *P. gigantea* veicināja līdzīgu nekrotisku reakciju, kā *Heterobasidion* spp., tomēr vēlāk tā saruka un tālāk neizplatījās. Iespējams, tādēļ, ka saprotrofi, atšķirībā no nektrotrofiem, neizdala signālvielas, kas darbojas tālākās šūnās, kur hifas vēl nav izplatījušās, saimniekorganismam ir iespēja izdalīt attiecīgās aizsargvielas (Sun et al. 2011).

Tomēr, lai izvērtētu iespējamus riskus un apzinātu „Rotstop” ietekmi uz vidi nepieciešami plašāki un ilgstošāki pētījumi, jo ietekmes novērtējums atsevišķos celmos ne vienmēr var tikt attiecināts uz visu meža ekosistēmu.

1.6. Maza diametra celmu nozīme *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatībā

Tiek uzskatīts, ka celmi, kas iegūti sastāva kopšanas ciršu laikā nav nozīmīgi *Heterobasidion* spp. izplatībā caur sakņu kontaktiem, tāpēc tos neapstrādā ar bioloģiskajiem preparātiem.

Maza diametra kokiem vēl nav izveidojusies kodolkoksne, un aplievas koksnē ir pārāk augsts mitruma saturs, kas kavē primāro *Heterobasidion* spp. infekciju. Samazinoties celma diametram, samazinās arī iespēja sporām uzkrīst uz celma virsmas (Vollbrecht et al. 1995).

Maza diametra celmi tiek inficēti retāk, salīdzinot ar liela diametra celmiem (Vollbrecht et al. 1995). Tomēr ir pētījumi, kas pierāda, ka inficēts var tikt būtisks skaits celmu. Diametra klasē 5 – 10 cm konstatēti 20% ar *Heterobasidion* spp. inficētu egļu celmu (Solheim 1994 citēts pēc Gunulf et al. 2013) un novērota arī tik pat bieža infekcijas sastopamība celmos, kuru diametrs bija 3 cm (Paludan 1966). Berglund et al. (2007) konstatējis 40% ar *Heterobasidion* spp. inficētu egļu celmu diametrā no 5 līdz 7 cm.

Zviedrijā veiktajā pētījumā par sekundāro *H. parviporum* izplatību no maza diametra egļu celmiem uz blakus esošiem kokiem, tika konstatēts, ka infekcija bija spējīga izplatīties pat no celmiem, kuru diametrs bija 2,5 cm. Gan celma, gan blakus esošā koka diametra pieaugums ietekmēja infekcijas iespējamību (Gunulf et al. 2013). No iepriekš minētā secināms, ka maza diametra celmi sastāva kopšanas cirtēs var radīt risku *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatībai audzēs, lai gan tas salīdzinoši ir mazāks, nekā krājas kopšanas cirtēs. Lai arī (Gunulf et al. 2013) pētījuma rezultāti neatspoguļo patieso situāciju pēc kopšanas cirtes, jo celmi tika mākslīgi inficēti ar augstu *H. parviporum* sporu koncentrāciju, tie tomēr norāda uz iespējamo risku infekcijas sekmīgai attīstībai atkarībā no celmu vecuma un diametra. Ne tikai celma un koku diametrs, bet arī inficētā celma vecums ietekmēja infekcijas iespējamību. Pie tā paša celma diametra infekcijas iespējamība bija augstāka jaunākiem celmiem, nekā

vecākiem (Gunulf et al. 2013). Manka et al. (1974) pētījumā novērots, ka parastās priedes celmos ar platākām gadskārtām *Heterobasidion* spp. infekcija sastopama daudz biežāk salīdzinot ar celmiem, kuriem ir šaurākas gadskārtas (Gunulf 2013).

Ja audzē nav veikta kopšana, *Heterobasidion* spp. izplatība ir atkarīga no veģetatīvās augšanas celmos un koksnes atliekās, kas palikušas no iepriekšējās rotācijas. Tāpēc trupes sastopamībai pirmajā cirtē teorētiski būtu jābūt atkarīgai no kailcirtē novērotās trupes sastopamības. Tomēr pētījumā, kurā salīdzināta trupes sastopamība audzēs pēc kailcirtes ar sastopamību pēc pirmās kopšanas cirtes tajās pašās audzēs, netika novērota nekāda sakarība trupes izplatību (Rönnerberg et al. 2007).

Pārbaudot „Rotstop” lauka apstākļos Polijā četrās egļu audzēs, kur iepriekš veiktas sastāva un krājas kopšanas cirtes (celmu diametrs 2 – 15 cm), katrā audzē novērota ļoti atšķirīga „Rotstop” efektivitāte – no 0 līdz 80 %. *P. gigantea* celmos bija sastopama 4 līdz 11 cm dziļumā (Zolciak 2005).

2. MATERIĀLI UN METODEDES

2.1. Pētījuma objektu raksturojums

Darbs izstrādāts LVMI Silava Meža fitopatoloģijas un mikoloģijas nodaļā laikā no 2014. gada septembra līdz 2016. gada maijam Latvijas Zinātnes padomes granta Nr.426/2012 „*Heterobasidion* spp. izrasītās sakņu trupes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums” projekta ietvaros.

Eksperiments ierīkots divās egļu un divās priežu (aptuveni 5 km rādiusā ap koordinātēm 56°40'Z/24°32'A) (1. tabula) atjaunotajās mežaudzēs Vidusdaugavas mežsaimniecībā (Vecumnieku novads, Vecumnieku meža iecirknis, 504. kv.apg.).

1. tabula

Pētījuma objekti.

Table 1

The objects of the research.

Paraug-laukuma numurs/ No of the sample plot	Analizēto koku suga/ Species of trees analysed	Kvartāls/ Compartment	Nogabals / Plot	Platība/ Area, ha	Meža tips/ Forest type	Sastāvs/ Structure	Vecums, gadi/ Age, years
1	Egle	172	4	1.4	Kp	9P 1B	11/10
2	Egle	198	11	2.2	Dm	10E	11
3	Priede	171	3	7.3	Mr	10P	9
4	Priede	197	11	1.6	Ln	10P	11
			19	1.2	Ln	9P 1B	11/7

Katrā audzē (4. attēls) izvēlēti 200 dažāda diametra (3 – 12 cm) skuju koki (parastās priedes *Pinus sylvestris* L. vai parastās egles *Picea abies* (L.) Karst) bez redzamiem mizas un vainaga bojājumiem.



4. attēls. Egļu jaunaudze Vidusdaugavas mežsaimniecības 172. kvartāla 4. nogabalā (T. Gaitnieka foto).

Figure 4. Young spruce stand located in Vidusdaugavas forestry (172. compartment 4. plot) (photo by T. Gaitnieks).

2.2. *P. gigantea* sporu suspensiju sagatavošana

Eksperimentam tika izvēlēti divi Latvijas izcelsmes izolāti, PG185 un PG137, kas laboratorijas apstākļos iepriekš analizēti pēc dažādiem parametriem (1. pielikums) – antagonisma pret dažādām *Heterobasidion* spp. sugām, vidējā augšanas ātruma uz iesala-agara barotnes, vidējā augšanas ātruma un aizņemtā laukuma egles koksnē. Izolāts PG185 izvēlēts, jo uzrādīja būtiski augstāku vidējo augšanas ātrumu egles koksnē, salīdzinājumā ar „Rotstop”, bet PG137 – jo uzrādījis sliktākus augšanas rādītājus koksnē (Latvijas Zinātnes padomes grants Nr. 426/2012, 2013. gada zinātniskais pārskats).

P. gigantea sporu suspensijas sagatavotas, audzējot *P. gigantea* izolātus 20°C temperatūrā 3 – 4 nedēļas Petri platēs ar iesala-agara barotni. Pēc tam sporas nomazgātas no Petri plates virsmas 10 mL krāna ūdens, izmantojot stikla špateli, un suspendētas vienā litrā krāna ūdens. Ar automātiskās pipetes palīdzību no *P. gigantea* suspensijas paņemti 0.5 mL, un pārnesti jaunā Petri platē un ar stikla špateli vienmērīgi izkliedēti pa visu Petri plates virsmu. *P. gigantea* oīdijas skaitītas Petri platē 20 mikroskopa *Leica DM 4000B* redzeslaukos (pie 100x palielinājuma). Pēc tam visiem *P. gigantea* izolātiem sporu koncentrācija vienādota līdz 5000 sporām mL⁻¹, kas atbilst vidēji 500 sporu cm⁻² zāgējuma virsmas.

2.3. Eksperimenta ierīkošana

Eksperimentam izvēlētie maza diametra skuju koki nozāģēti 2014. gada 4. un 5. septembrī.

Pēc nozāgēšanas celmi tika manuāli apstrādāti (5. attēls) ar *P. gigantea* izolātiem. Katrā no parauglaukumiem 100 celmi apstrādāti ar diviem Latvijas izolātiem, PG185 un PG137 (50+50) un 50 celmi ar Somijā ražoto bioloģisko preparātu „Rotstop”. Oīdijsporu suspensijas rūpīgi tika uzklātas uz katra celma ar otu, lai novērstu lieku *P. gigantea* izplatīšanos vidē. Celmu apstrāde tika veikta randomizēti ar visiem apstrādes variantiem, kā arī aptuveni vienādās diametra klasēs.



5. attēls. Maza diametra celmu apstrāde ar *P. gigantea* sporu suspensiju (T. Gaitnieka foto).

Figure 5. The applying of *P. gigantea* spore suspension on a small diameter stump (photo by T. Gaitnieks).

Lai novērtētu *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. dabisko infekciju audzēs, 50 celmi katrā parauglaukumā tika apstrādāti ar ūdeni.

Kopā katrā parauglaukumā tika apstrādāti 200 celmi. Katrs celms numurēts un marķēts ar atšķirīgas krāsas plastmasas zīmīti (6. attēls).



6. attēls. Maza diametra priedes celms ar marķējumu (T. Gaitnieka foto).

Figure 6. Small diameter pine stump with a tag (photo by T. Gaitnieks).

2.4. Koksnes paraugu ievākšana

Pēc gada, 2015. gada 4. un 5. septembrī un 5. oktobrī, tika ievākti koksnes paraugi. Katrā audzē ievāca pusi no apstrādātajiem celmiem. Paraugi no atlikušajiem celmiem tiks ievākti vēl pēc gada.

Lai novērtētu *P. gigantea* izplatīšanās dziļumu, celmi tika sazāģēti 4 – 5 cm biežās ripās līdz pat sakņu kaklam. Paraugi ievietoti polietilēna maisos un nogādāti laboratorijā.

Kopā no četriem parauglaukumiem tika ievākti paraugi no 193 egļu un 200 priežu maza diametra celmiem, kas attiecīgi bija 999 egļu un 933 priežu ripas (2. tabula). Septiņiem celmiem bija noplīsuši marķējumi, tādēļ tie netika atrasti.

2. tabula

Ievāktu paraugu skaits pa parauglaukumiem.

Table 2

The amount of samples aquired in each sample-plot.

Paraug- laukums/ Sample plot	Koku suga/ Tree species	Ievākto celmu skaits/ The count of stumps	Ievākto ripu skaits/ No of discs
1	Egle	100	547
2	Egle	93	452
3	Priede	100	421
4	Priede	100	512
	Kopā	393	1932

2.5. Ievāktu koksnes paraugu apstrāde laboratorijā

Laboratorijā nogādātās ripas tika nomizotas, nomazgātas un ievietotas daļēji atvērtos polietilēna maisos, lai nodrošinātu gaisa cirkulāciju. Ripas tika inkubētas 5 – 7 dienas 20°C temperatūrā (Kallio 1970).

Katrā no analizētajām ripām, izmantojot stereomikroskopu *Leica* MZ 7.5. (pal. 20x), tika noteikts *P. gigantea* izolātu aizņemtais laukums pēc raksturīgā oranži-brūnā krāsojuma un micēlija morfoloģiskajām pazīmēm – balta krāsa, sīkgraudains, klāts ar kalcija oksalāta kristāliem. Uz caurspīdīgas plēves ar marķieri tika atzīmēts *P. gigantea* aizņemtais laukums, un pēc tam izmērīts ar planimetru (PLANIX 10S „Marble”, Tamaya).

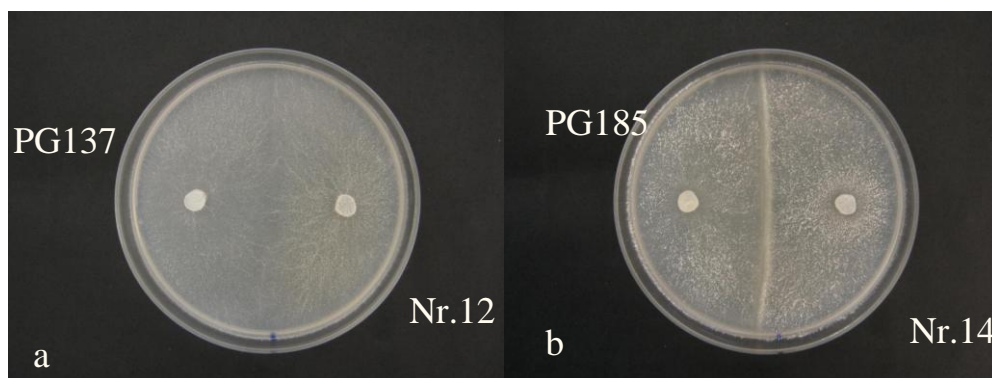
Nosakot celma ripu inficētību ar *Heterobasidion* spp., novērtēja konīdijnesēju sastopamību katrā koksnes kvadrācentimetrā (Sun et al. 2009). Pie ripas virsmas tika

piestiprināts plastmasas režģis, kuram vienas rūtiņas izmērs bija 0.7x0.7 cm. Ja kāds konīdijnesējs tika novērots, to atzīmēja uz ripas virsmas ar permanento marķieri.

Ripu diametri tika noteikti ar lineālu (± 1 mm), veicot divus perpendikulārus mērījumus un izsakot no tiem vidējo aritmētisko vērtību. Ripas laukums aprēķināts pēc riņķa laukuma formulas. Ripām tika izmērīts arī biezums, lai vēlāk varētu aprēķināt *P. gigantea* micēlija izaugšanas dziļumu.

Lai noskaidrotu, vai koksnes kolonizāciju ietekmējusi celma virsmas sasveķojuma pakāpe, tā tika vizuāli novērtēta attiecīgi trīs klasēs: 1 - sasveķojums nav konstatēts, 2 - sasveķojums konstatēts uz mazāk nekā puses no celma virsmas laukuma, 3 – sasveķojums konstatēts uz vairāk nekā puses no celma virsmas laukuma.

Katram apstrādes variantam no 20 celmu ripām, kurās konstatēta *P. gigantea*, tika paņemti 1 – 3 koksnes paraugi. Tie tika izkalti no celma ar sterilizēta kalta palīdzību un virspusēji sterilizēti uz liesmas. Paraugus ievietoja Petri platē uz iesala – agara barotnes. Pēc *P. gigantea* tīrkultūru iegūšanas pārbaudīja *P. gigantea* izolātu piederību konkrētajam *P. gigantea* genotipam, ar kuru veikta celmu apstrāde (7. attēls) (Johansson & Stenlid 1985), Koksnes paraugi tika paņemti arī no ripām, kur pēc morfoloģiskām pazīmēm nevarēja noskaidrot, vai koksnes iekrāsojums ir *P. gigantea* veidots, lai varētu precizēt novērojumus.



7. attēls. *P. gigantea* izolātu salīdzināšana – a) izolāti pieder vienam un tam pašam genotipam; b) starp izolātiem veidojas demarkācijas līnija, kas liecina par to nesaderību.

Figure 7. The comparison of *P. gigantea* isolates – a) isolates are compatible and belong to the same genotype; b) there is a demarcation line between isolates, indicating their incompatibility.

2.6. Datu apstrādes un analīze

Datu grafiskai, matemātiskai un statistiskai analīzei tikai izmantotas programmas *Microsoft Excel 2007* un *R version 3.1.2*.

Apstrādes variantu analīzes aprēķiniem no celma izvēlēta tā ripa, uz kuras *P. gigantea* aizņemtais laukums sasniedza maksimālo starp visām viena celma ripām, jo ne vienmēr *P. gigantea* aizņemtais laukums tika konstatēts vienā un tajā pašā dziļumā visiem analizētajiem celmiem.

Tika rēķinātas standartkļūdas, vidējās vērtības un aprēķināti ripu laukumi. Rēķinātas arī korelācijas starp infekcijas izplatības rādītājiem. Būtiskumu korelācijas koeficientam pārbaudīja, salīdzinot ar kritisko vērtību pie būtiskuma līmeņa $\alpha = 0,05$ (Liepa, 1974).

Lai novērtētu būtiskumu inficētības īpatsvara atšķirībai starp izmantoto celmu apstrādes variantiem, tika izmantots t kritērijs ($\alpha = 0,05$) (Liepa, 1974).

Lai analizētu *P. gigantea* attīstību (kolonizēto celmu īpatsvaru) skuju koku celmos atkarībā no celmu diametra un/vai koku sugas, programmā R tika izveidoti vispārinātie lineārie modeļi (GLM – *generalized linear models*) ar *logit* kā saistības funkciju un veikta binārā loģistiskā regresija. Iegūtie modeļi tika izvērtēti pēc Akaike informācijas kritērija (AIC). Labākajam modelim tika aprēķināts pseudo-determinācijas koeficients R² (r²ML – maximum likelihood pseudo – visvarbūtīgākais pseudo R²).

Lai novērtētu atšķirības starp *P. gigantea* aizņemto laukumu priežu ripās atkarībā no celmu apstrādes varianta, programmā R tika veikts Vilksona tests, pirms tam *P. gigantea* relatīvi aizņemtajiem laukumiem veicot *arcsin* transformāciju.

3. REZULTĀTI

3.1. *Heterobasidion* spp. dabiskās infekcijas izplatība

Noteikts skaits celmu tika apstrādāts ar ūdeni (kontrolē), lai noskaidrotu dabisko *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* izplatību šajās audzēs. No visiem ievāktajiem paraugiem, tikai divos priežu celmos 3. parauglaukumā tika konstatēta infekcija ar *Heterobasidion* spp.

Heterobasidion spp. attīstība vienā priežu celmā 4. parauglaukumā netika ņemta vērā, jo bija pamats uzskatīt, ka infekcija nākusi no saknēm – inficētas bija tikai sakņu kaklam tuvākās ripas.

3.2. *P. gigantea* attīstība skuju koku celmos

P. gigantea no visiem ievāktajiem paraugiem (tajā skaitā iekļaujot arī dabiskās *P. gigantea* attīstību kontroles celmos), attīstījās 4,2% egļu celmu un 49,5% priežu celmu. Ar *P. gigantea* 1. parauglaukumā inficēti 2% egļu celmu, 2. parauglaukumā 6% egļu celmu, 3. parauglaukumā inficēti 52% priežu celmu un 4. parauglaukumā – 47% no analizētajiem priežu celmiem. Apstrādē izmantoto *P. gigantea* izolātu (tajā skaitā arī dabiskās *P. gigantea*) attīstība atsevišķos parauglaukumos un koku sugās atspoguļota 3. tabulā. Sekmīga *P. gigantea* konīdijsporu attīstība konstatēta 60% apstrādāto priežu celmu un 5,6% apstrādāto egļu celmu.

3. tabula

Ar *P. gigantea* inficētie celmi (%) atsevišķos parauglaukumos atkarībā no apstrādes varianta.

Table 3

The proportion of stumps infected with *P. gigantea* in each sample plot depending on the treatment.

Paraug- laukums/ Sample plot	Koku suga/ Tree species	Izolāti/ Isolates			
		Rotstop	PG137	PG185	Kontrole
1	Egle	8	0	0	0
2	Egle	20,8	4,3	0	0
3	Priede	88	76	24	20
4	Priede	80	76	16	16

Nosakot, vai *P. gigantea* micēlijs, kas izolēts no apstrādātajiem celmiem pieder tam pašam izolātam, ar kuru veikta attiecīgā celma apstrāde, konstatēts, ka visos paraugos, kuri izolēti no celmiem, kas apstrādāti ar „Rotstop” un PG137, sastopams tas pats izolāts ar ko veikta apstrāde. Paraugos no celmiem, kas apstrādāti ar izolātu PG185, konstatēta arī dabiskās

P. gigantea sastopamība. No kontroles celmiem iegūtos *P. gigantea* izolātus salīdzinot ar celmu apstrādē izmantotajiem izolātiem, secināts, ka neviens no kontroles paraugiem nepieder celmu apstrādē izmantotajiem izolātiem.

Lai raksturotu kādi parametri ietekmēja *P. gigantea* attīstību skuju koku celmos, tika izveidoti vairāki vispārinātie lineārie modeļi (GLM)

Izveidojot vispārināto lineāro modeli, kurā iekļauts tikai viens ietekmējošais faktors – skuju koku celmu diametrs, pie būtiskuma līmeņa $\alpha=0,05$ konstatēta statistiski būtiska pozitīva diametra ietekme uz iespējamību, ka celmā attīstīsies *P. gigantea* ($p < 0,001$).

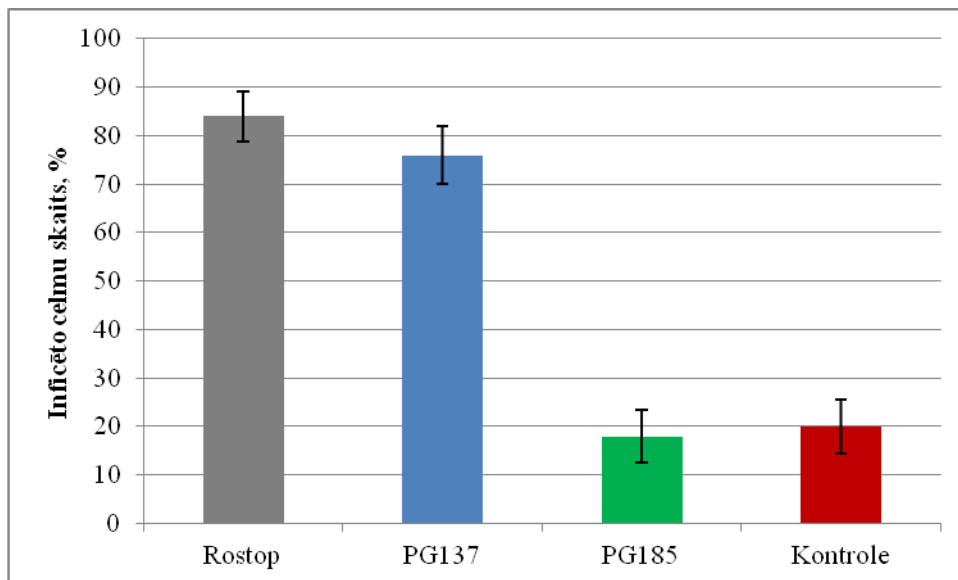
Pievienojot modelim vēl vienu mainīgo – koku sugu (egle un priede), pie būtiskuma līmeņa $\alpha=0,05$ konstatēts, ka *P. gigantea* micēlijs būtiski labāk attīstās priežu celmos ($p < 0,001$). Eglei ir statistiski būtiska negatīva ietekme uz attīstību. Šajā modelī skuju koku celmu diametram nav statistiski būtiskas ietekmes uz *P. gigantea* attīstību.

Tika izveidots arī trešais modelis, kurā kā ietekmējošais faktors tika iekļauta tikai koku suga. Abām sugām pastāv statistiski būtiska ietekme ($p < 0,001$) uz to vai celmos attīstīsies *P. gigantea* micēlijs, taču priedēm tā ir pozitīva, bet eglēm negatīva.

Salīdzinot visus izveidotos modeļus pēc AIC vērtībām, tika konstatēts, ka trešajam modelim ir vismazākā AIC vērtība, tāpēc tas uzskatāms par vispiemērotāko *P. gigantea* attīstības raksturošanai. Šis modelis izskaidroja 26% ($r^2_{ML} = 0,265$) no *P. gigantea* attīstības iespējamības skuju koku celmos.

3.2.1. *P. gigantea* attīstība maza diametra priežu celmos

Tika analizēti 200 priežu celmi. *P. gigantea* micēlijs bija attīstījies 84% ar „Rotstop” apstrādāto priežu celmu un 76% celmu, kas apstrādāti ar PG137. PG185 uzrādīja sliktāku rezultātu, kolonizējot tikai 18% celmu. Priežu audzēs *P. gigantea* bija sastopama arī dabiski – tā tika konstatēta 20% kontroles celmu (8. attēls).



8. attēls. *P. gigantea* attīstība priežu celmos atkarībā no apstrādes varianta.

Figure 8. The proportion of pine stumps where *P. gigantea* developed depending on the treatment.

Inficēto priedes celmu īpatsvars būtiski neatšķirās starp „Rotstop” un vietējo izolātu PG137 $t = 1 < t_{0,05;\infty} = 1,984$. Pastāvēja būtiska atšķirība starp „Rotstop” un PG185 ($t = 6,6 > t_{0,05;\infty} = 1,984$), „Rotstop” un kontroli ($t = 6,4 > t_{0,05;\infty} = 1,984$), kā arī PG137 un PG185 ($t = 5,8 > t_{0,05;\infty} = 1,984$) inficēto priedes celmu īpatsvaru. Netika konstatēta būtiska atšķirība starp PG185 un inficēto priedes kontroles celmu īpatsvaru $t = 0,25 < t_{0,05;\infty} = 1,984$.

Kolonizētajās ripās *P. gigantea* aizņemtais laukums variēja no 0,86 līdz 100 %. Vidējais aizņemtais laukums priežu ripās bija $65,5 \pm 1,8\%$. Statistiski būtiska atšķirība *P. gigantea* aizņemtajā laukumā priežu ripās tika novērota starp apstrādi ar PG137 un pārējiem apstrādes variantiem („Rotstop”, PG185 un kontrole) ($p < 0,001$). *P. gigantea* aizņemtais laukums būtiski neatšķirās starp pārējiem apstrādes variantiem ($p > 0,05$) (4. tabula).

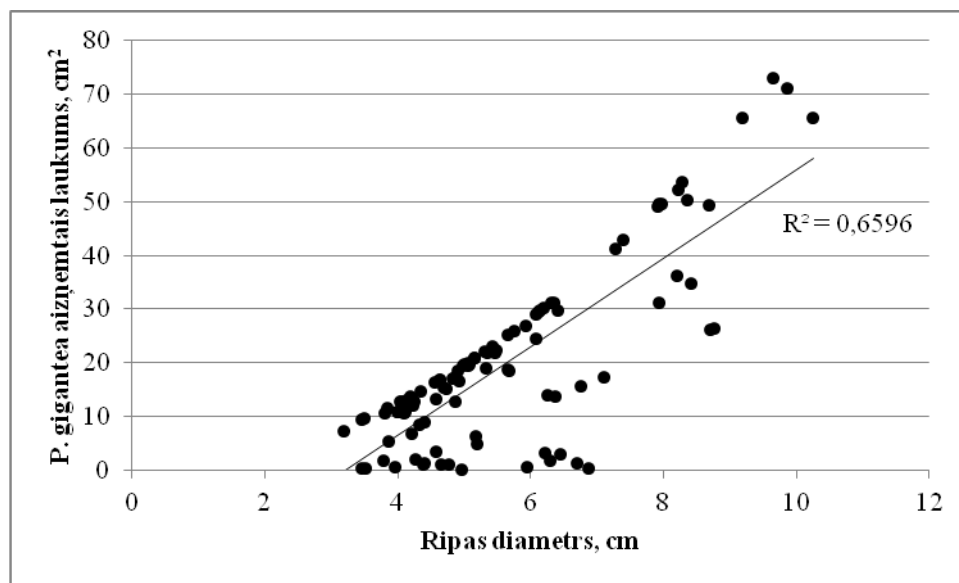
Relatīvais *P. gigantea* aizņemtais laukums priežu ripās atkarībā no apstrādes varianta.

Table 4

The relative area of a pine disc occupied by *P. gigantea* based on the treatment.

Apstrādes variants/ Treatment	<i>P. gigantea</i> aizņemtais laukums/ The area occupied by <i>P. gigantea</i> , % (min – max)	Vid. <i>P. gigantea</i> aizņemtais laukums/ Mean area occupied by <i>P. gigantea</i> , % ± standartklūda/ standarddeviation
Rotstop	0,93 - 100	69,43 ± 2,76
PG137	0,87 - 100	63,28 ± 2,98
PG185	1,65 - 100	66,91 ± 5,15
Kontrole	0,86 - 100	70,71 ± 5,64

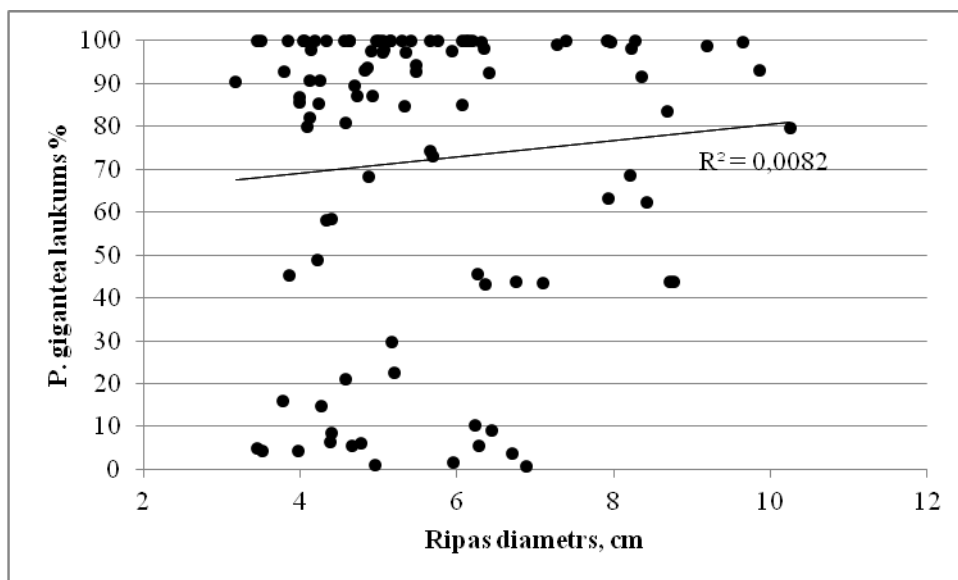
Inficētajās priežu ripās, pieaugot celma diametram, pieauga arī *P. gigantea* aizņemtais laukums (9. attēls). Novērota statistiski būtiska lineāri pozitīva korelācija $R = 0,812$. ($R_{0,05;100} = 0,197$) (Liepa, 1974). Priežu celmu diametrs, kuros sekmīgi bija attīstījusies *P. gigantea*, variēja no 3,18 līdz 10,25 cm.



9. attēls. *P. gigantea* aizņemtais laukums atkarībā no priežu ripu diametra.

Figure 9. The area occupied by *P. gigantea* in a relation to the diameter of the pine disc.

Priežu ripu diametrs neietekmēja *P. gigantea* relatīvo aizņemto laukumu (10. attēls). Netika novērota statistiski būtiska korelācija $R = 0,091$ ($R_{0,05;100} = 0,197$) (Liepa, 1974).



10. attēls. *P. gigantea* aizņemtais laukums % atkarībā no priedes ripas diametra.

Figure 10. The relative area occupied by *P. gigantea* depending on the diameter of a pine disc.

Izmantojot vispārināto lineāro modeli, kurā kā faktors iekļauts priežu celma diametrs, pie būtiskuma līmeņa $\alpha = 0,05$ netika konstatēta statistiski būtiska celma diametra ietekme uz priežu celmu inficētību ar *P. gigantea* ($p = 0,413$).

Priežu celmu augstums variēja no 19,4 līdz 34,9 cm, (vidēji $27,5 \pm 0,34$ cm). *P. gigantea* augšanas dziļums priežu celmos variēja no 4,8 līdz 34,9 cm. *P. gigantea* vidējais augšanas dziļums celmā bija $25,08 \pm 0,64$ cm. Priežu celmos *P. gigantea* micēlijs viena gada laikā attīstījies maksimāli 34,9 cm dziļumā. Celma maksimālais augstums sakrīt ar *P. gigantea* micēlija sasniegto maksimālo dziļumu, jo micēlijs sasniedza sakņu kaklu.

Vidējais dziļums, ko *P. gigantea* sasniedza celmā atkarībā no apstrādes varianta: „Rotstop” gadījumā $25,63 \pm 0,98$ cm, PG137 – $25,64 \pm 0,93$ cm un PG185 – $22,31 \pm 2,46$ cm. Kontroles celmos vidējais dziļums, ko sasniedza dabiskās *P. gigantea* micēlijs, bija $23,09 \pm 2,47$ cm.

No visiem inficētajiem priežu celmiem 81% gadījumu *P. gigantea* sasniedza sakņu kaklu.

Celmos, kas apstrādāti ar „Rotstop”, 86,05 % gadījumu *P. gigantea* sasniedza sakņu kaklu. Līdzīgu rezultātu uzrādīja arī izolāts PG137 – 81,57 % celmu *P. gigantea* bija attīstījusies līdz sakņu kaklam, savukārt apstrādes variantā ar PG185 – 50% inficēto celmu. Dabiskā *P. gigantea* infekcija 77,78 % inficēto celmu attīstījās līdz sakņu kaklam.

Izmantojot t kritēriju, netika konstatēta statistiski būtiska atšķirība starp *P. gigantea* micēlija sekmēm sasniegt sakņu kaklu atkarībā no dažādiem apstrādes variantiem.

3.2.2. *P. gigantea* attīstība maza diametra egļu celmos

Egļu celmu inficētība bija daudz zemāka salīdzinot ar priežu celmiem. „Rotstop” bija kolonizējis tikai 14,3% no apstrādātajiem celmiem, PG137 attīstījies vienā celmā jeb 2,1% ar šo izolātu apstrādātajos celmos. *P. gigantea* izolāts PG185 nebija attīstījies nevienā no egļu celmiem. Egļu parauglaukumos netika konstatēta dabiskā *P. gigantea* infekcija.

Egles ripās *P. gigantea*, aizņemtais laukums variēja no 0,94 līdz 100% no ripas kopējā laukuma. Vidējais *P. gigantea* aizņemtais laukums egles celmos bija $52,5 \pm 7,08\%$.

P. gigantea bija kolonizējusi pārāk nelielu skaits egļu celmu, lai objektīvi novērtētu, kā celma diametrs ietekmējis *P. gigantea* aizņemto laukumu.

Sešos no astoņiem (jeb 75%) ar *P. gigantea* kolonizētajiem egļu celmiem, sēne attīstījās līdz sakņu kaklam. *P. gigantea* attīstības dziļums sasniedza no 12,2 līdz 31,3 cm. Tātad viena gada laikā micēlijs maksimāli izplatījies 31,3 cm dziļumā.

3.3. Celmu virsmas sasveķojuma pakāpes ietekme uz *P. gigantea* micēlija attīstību skuju koku celmos

Celmu virsmas sasveķojuma pakāpe tika noteikta vizuāli 3 klasēs. Uz priežu celmu virsmas 53,1% no kopējā paraugu skaita novērots sasveķojums, kas pārsniedza pusi no kopējā celma virsmas laukuma. 55,16% priežu celmu sasveķojums klāja mazāk par pusi no celma virsmas. Tikai 2,06% analizēto celmu virsma no kopējā celmu skaita nebija klāta ar sveķiem.

Egļu celmu virsmas, salīdzinoši, bija mazāk sveķainas. Dominēja paraugi, kuri nebija klāti ar sveķiem – 39,9%. 41,97% egļu celmu virsmas sasveķojums aizņēma mazāk par pusi no kopējā celma virsmas laukuma, un 18,13% vairāk nekā pusi celma virsmas.

Ar *P. gigantea* inficēto celmu skaits bija proporcionāls celmu sadalījumam pēc sasveķojuma pakāpes. Netika konstatēta būtiska celmu virsmas sasveķojuma ietekme uz *P. gigantea* attīstību priežu un egļu celmos.

4. DISKUSIJA

Tā kā pētījumos konstatēts, ka maza diametra skuju koku celmi var tikt inficēti ar *Heterobasidion* spp. (Gunulf et al. 2013), tad ir būtiski noskaidrot, vai arī *P. gigantea* attīstās maza diametra celmos un varētu samazināt *Heterobasidion* spp. izplatību. Apstrādājot maza diametra priežu un egļu celmus ar *P. gigantea* sporu suspensijām, no visiem analizētajiem paraugiem, *P. gigantea* bija attīstījusies 4,2% egļu celmu un 49,5% priežu celmu

Jau iepriekš pētījumos minēts, ka *P. gigantea* veiksmīgāk attīstās tieši priežu celmos (Korhonen, 2003). Ir zināms, ka koksnes degradēšanas spēju baltās trupes sēnēm ietekmē lignīna koncentrācija koksne (Maijala 2000). Ir novērota pozitīva korelācija starp antagonismu pret *Heterobasidion* spp. skaidu barotnēs, priedes un egles koksnes degradēšanas spēju un lakāzes enzīma, kurš atbild par lignīna degradēšanu, produkciju *P. gigantea*. Mikroskopiski izpētot priežu un egļu koksni, ko degradējusi *P. gigantea*, tika konstatēts, ka egļu koksnes sairšanas pakāpe, salīdzinot ar priedēm, bija nevienmērīga (Mgbeahuruike 2009). Iespējams, tas, ka parastajās priedēs ir konstatēts vidēji nedaudz augstāks lignīna saturs (26,3 – 34,2%), salīdzinājumā ar eglēm (26,3 – 29,5%) (Grīnfelds 2012), ļāvis *P. gigantea* efektīvāk kolonizēt priežu koksni.

Gunulf et al. (2012) pētījumā konstatēts, ka *P. gigantea* spēj attīstīties arī maza diametra egļu celmos un samazināt *Heterobasidion* spp. izraisīto infekciju. *P. gigantea* efektivitāte *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanā maza diametra celmos būtiski neatšķīrās no efektivitātes celmos ar lielāku diametru (Sun et al. 2009). Gunulf et al. (2012) eksperimentā izmantotā „Rotstop” sporu suspensijas koncentrācija bija (100 – 1000 sporas cm⁻²), līdzīga ar mūsu eksperimentā izmantoto sporu suspensijas koncentrāciju - 500 sporas cm⁻² uz zāģējuma virsmas, arī abos eksperimentos izmantoto koku vecums (attiecīgi 8 – 15 un mūsu pētījumā 9 – 11 gadi) un diametrs bija līdzīgi. Diemžēl, mūsu pētījumā iegūtos datus nav iespējams salīdzināt ar Gunulf et al. (2012) pētījumu, jo tajā netika minēti nekādi *P. gigantea* attīstības parametri, kā aizņemtais laukums vai augšanas ātrums koksne, tikai efektivitāte *Heterobasidion* spp. ierobežošanā.

Egļu celmu apstrāde ar *P. gigantea* nav tik efektīva, kā priežu celmu. Korhonen *et al.* (1993) novērojis, ka *P. gigantea* efektīvāk ierobežoja *Heterobasidion* spp. egļu un priežu celmos nekā apstrāde ar urīnvielu. Pēc mūsu iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka būtu vērts veikt maza diametra priežu celmu apstrādi, taču egļu celmu apstrāde varētu nebūtu ieteicama nesekmīgās *P. gigantea* attīstības dēļ.

Primāro koksnes kolonizētāju attīstību skuju kokos var ietekmēt arī sveķu saturs koksne. Meredith (1960) konstatējis, ka priežu koksne sveķi lielos daudzumos var inhibēt sporu dīģšanu un attīstību koksne. Mūsu pētījumā netika konstatēta iepriekš minētā sakarība

starp *P. gigantea* attīstību un celmu virsmas sasveķojuma pakāpi. Priežu celmu virsmas raksturoja augstāka sasveķojuma pakāpe (53,1% priežu celmu sveķojums aizņēma vairāk kā pusi no celma virsmas laukuma) nekā egļu (18,13% egļu celmu sveķojums aizņēma vairāk kā pusi no celma virsmas laukuma), taču sekmīgi kolonizēto priežu celmu īpatsvars bija daudz augstāks salīdzinājumā ar egļu celmiem.

P. gigantea spēju kolonizēt koksni var ietekmēt arī konkurence ar citiem mikroorganismiem, kas arī atrodas uz celma virsmas vai celmā iekšā (Rishbeth 1963).

No visiem ar „Rotstop” apstrādātajiem priežu celmiem 84% infekcija bija attīstījusies sekmīgi. Egļu audzēs inficētība bija salīdzinoši zemāka – 14% no visiem apstrādātajiem celmiem. Salīdzinoši, izmantojot izolātu PG137 *P. gigantea* micēlijs spēja attīstīties 76% apstrādāto priežu un 2% apstrādāto egļu celmu. Netika konstatēta statistiski būtiska atšķirība starp „Rotstop” un PG137 infekciju priežu celmus, kas liecina, ka arī PG137 potenciāli varētu izmantot kā bioloģiskās aizsardzības līdzekli. Iepriekš salīdzinot šos *P. gigantea* izolātus laboratorijā, PG137 uzrādīja augstāku vidējo augšanas ātrumu uz iesala - agara barotnes ($6,13 \pm 0,21$ mm dienā⁻¹), nekā „Rotstop” ($4,92 \pm 0,61$ mm dienā⁻¹). Taču jau iepriekš veiktajos eksperimentos egles koksnes blūķīšos konstatēts, ka „Rotstop” koksne attīstījās ātrāk salīdzinot ar PG137.

Salīdzinot Latvijas izolātus savā starpā, efektīvāks izrādījās PG137, jo izolāts PG185 sekmīgi attīstījās tikai 20% apstrādāto priežu, savukārt egļu celmos netika konstatēts. Iegūtais rezultāts atšķiras no iepriekš konstatētā eksperimentos uz iesala – agara barotnes un egles koksnes blūķīšos, kur PG185 vidējais augšanas ātrums gan koksne, gan uz barotnes bija lielāks nekā PG137. Celmos, kas apstrādāti ar PG185, tika konstatēta arī dabiskā *P. gigantea* infekcija. Ņemot vērā, ka dabiskās *P. gigantea* sastopamība kopumā audzēs bija neliela (tikai 20% priežu celmos; egļu celmos netika konstatēta), var spriest, ka izolāts PG185 bijis mazāk konkurētspējīgs salīdzinājumā ar pārējiem celmu apstrādē izmantotajiem izolātiem, lai gan PG185 uzrādījis labus rezultātus iepriekš veiktajos laboratorijas pētījumos un attīstībā liela diametra egļu blūķīšos. No iepriekš minētā var secināt, ka eksperimenti laboratorijas apstākļos ne vienmēr viennozīmīgi raksturo izolāta attīstību dabiskos apstākļos, kur notiek mijiedarbība arī ar citām koksni kolonizējošām sēnēm, tajā skaitā audzē sastopamo dabisko *P. gigantea*.

Mūsu pētījumā konstatēta salīdzinoši zema apstrādes efektivitāte, lai gan visi celmi, izņemot kontroli, tika apstrādāti ar *P. gigantea*. Celmu apstrādei izmantoto *P. gigantea* konīdijsporu suspensiju kvalitāti nevar uzskatīt par ietekmējošo faktoru, jo ar vienu un to pašu suspensiju tika apstrādāti celmi gan priežu, gan egļu audzēs, turklāt arī citos pētījumos par *P. gigantea* konīdijsporu attīstību izmantotas līdzīgas sporu suspensiju koncentrācijas. *P. gigantea* sporu koncentrācija suspensijās pārsniedza minimālo koncentrāciju, ko izmanto

komerciālā *P. gigantea* izmantošanā (200 sporu cm⁻² uz zāģējuma virsmas) (Rishbeth 1963; Sun et al. 2009).

Lielas variācijas starp rezultātiem, kas iegūti salīdzinot *P. gigantea* izolātus pēc dažādiem tos raksturojošiem parametriem, ir tipiskas un atkarīgas no faktoriem, ko ne vienmēr ir iespējams apzināt (Sun et al. 2009). Koksni degradējošo sēņu attīstība un efektivitāte ir ļoti atkarīga no koksnes mitruma satura. *P. gigantea* izplatību celmos veicina augsts mitruma saturs koksnē un gaisa temperatūra, kas augstāka par 5° C (Holdenrieder and Greig 1988). Iespējams, maza diametra celmu virsmas izžuva ātrāk, un apstākļi vairs nebija piemēroti *P. gigantea* konīdijsporu attīstībai.

Dabiskā *P. gigantea* infekcija konstatēta 20% priežu celmu, bet egļu audzēs nav konstatēta nemaz. Somijā visintensīvākā *P. gigantea* sporulācija notiek no aprīļa līdz maijam un strauji samazinās no septembra vidus (Kallio and Hallaksela, 1979). Tā kā eksperimenta iekārtošanas mēnesis bija piemērots *P. gigantea* dabiskās infekcijas sastopamībai audzēs, kā arī iepriekš Vidusdaugavas mežsaimniecībā ir konstatēta dabiskā *P. gigantea* infekcija maza diametra priežu un egļu celmos (Ēberliņa, 2014). *P. gigantea* dabiskās infekcijas attīstībai ir svarīgs *P. gigantea* sporu fons audzēs. Būtiski, lai tajās būtu sastopami *P. gigantea* auglķermeņi, vai kāds potenciāls substrāts, vēlams priežu koksne, uz kā attīstīties.

Ar *P. gigantea* konīdijsporu suspensijām apstrādātajos priežu celmos *P. gigantea* attīstījās biežāk, nekā celmos, kuri bija pakļauti dabiskajai *P. gigantea* bazīdijsporu infekcijai.

Tika novērota pozitīva korelācija starp *P. gigantea* aizņemto laukumu (cm²) priežu ripās un ripu diametru. Savukārt starp *P. gigantea* aizņemtā laukuma attiecību pret visu ripas laukumu (relatīvo laukumu %) un ripu diametru netika novērota korelācija. *P. gigantea* neatkarīgi no ripas diametra bija aizņēmusi līdzīgu relatīvo laukumu visās analizētajās priežu ripās.

No visiem inficētajiem skuju koku celmiem, 81% gadījumu *P. gigantea* infekcija izplatījās līdz sakņu kaklam, līdz ar to micēlija izplatīšanās dziļuma limitējošais faktors bija celma augstums. Dažos gadījumos *P. gigantea* micēlijs tomēr nerasniedza sakņu kaklu, iespējams, koksnes nepiemērotā mitruma satura vai citu par substrātu konkurējošu mikroorganismu dēļ.

Priežu celmu kolonizējošās sēnes izaugot celmā izplatās galvenajā saknē un tālāk no tās uz sānsaknēm (Meredith 1959). Koki, kuri ir apkārt celmam, kurā attīstījies *Heterobasidion* spp., var tikt inficēti sekundārās micēlija izplatības rezultātā caur sakņu kontaktiem (Rishbeth 1951). Ja blakus esošajos celmos attīstās *Heterobasidion* spp. infekcija un ar sakņu kontaktiem saskaras ar celmu, kurā spēcīgi attīstījusies *P. gigantea*, tad *Heterobasidion* spp. infekcijai nav iespējas attīstīties *P. gigantea* kolonizētajā celmā (Gunulf et al. 2013).

Samazinoties pieejamajam substrātam, samazinās arī infekcijas izplatība un iespēja izveidoties *Heterobasidion* spp. augļķermeņiem.

Apstrādājot celmus uzreiz pēc nociršanas *P. gigantea* sniedz labu aizsardzību pret *Heterobasidion* spp. izplatību, ieaugot apstrādāto celmu laterālajās saknēs. Rishbeth (1963) konstatējis, ka apstrādājot priežu celmus, kas diametrā vidēji sasniedza 16 cm, *P. gigantea* 16 mēnešu laikā pilnībā aizvietoja *Heterobasidion* spp. celma saknēs.

Visos apstrādes variantos *P. gigantea* micēlijs kādā no analizētajiem celmiem sasniedza sakņu kaklu. Tā kā starp celmu augstumiem katrā apstrādes variantā nebija būtisku atšķirību, un celma augstums daudzos gadījumos ietekmēja *P. gigantea* micēlija attīstības dziļumu, var secināt, ka visu celmu apstrādei izmantoto *P. gigantea* izolātu augšanas ātrumi bija līdzīgi, protams, pie nosacījuma, ja izolātiem izdevās kolonizēt koksni.

Parauglaukumos netika konstatēta būtiska *Heterobasidion* spp. infekcijas sastopamība, tāpēc nebija iespējams novērtēt *P. gigantea* nozīmi maza diametra celmu aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp. Dabiskās *Heterobasidion* spp. infekcijas izplatību audzēs ietekmē blakus esošu augļķermeņu sastopamība, gaisa temperatūra, pieejamais substrāta daudzums un nokrišņi. Pētot *Heterobasidion* spp. sporulācijas sezonālo dinamiku SIA „Rīgas meži” piederošajos mežos 2013. gadā lielākais *Heterobasidion* spp. producētais sporu daudzums konstatēts rudenī – laika posmā no septembra līdz novembrim (Bruna, 2015), tāpēc mūsu pētījuma iekārtošanai izvēlētais laiks bija piemērots *Heterobasidion* spp. infekcijas attīstībai.

Svarīgākais faktors, kas nosaka *Heterobasidion* spp. infekcijas biežumu un procentuāli aizņemto celma virsmas laukumu, ir gaisā esošo sporu daudzums ciršanas laikā. *Heterobasidion* spp. infekcijas biežums un aizņemtais laukums palielinās līdz ar celma diametru (Morrison 1989). Iespējams, lai veiksmīgāk plānotu *P. gigantea* ietekmes uz *Heterobasidion* spp. attīstību novērtēšanu maza diametra skuju koku celmos, iepriekš būtu jānoskaidro audzes dabiskais sporu fons, izmantojot agara barotnes vai skuju koku ripas (Kallio 1970).

Lai sekmīgāk novērtētu nepieciešamību maza diametra egļu celmus apstrādāt ar bioloģiskajiem aizsardzības līdzekļiem *Heterobasidion* spp. infekcijas ierobežošanai, būtu jāierīko eksperimenti vairāk audzēs, iespējams, arī citos Latvijas reģionos. Potenciāls būtu arī pētījumiem, kuros tiktu analizēts, kādi skuju koku koksnes parametri ietekmē *P. gigantea* micēlija attīstību.

Turpmākajā darbā paredzēts novērtēt *P. gigantea* micēlija attīstību maza diametra skuju kokos divus gadus pēc celmu apstrādes. Tiks analizēta arī *P. gigantea* attīstība saknēs.

SECINĀJUMI

1. Dabiskā *P. gigantea* bazīdijsporu infekcija konstatēta 20% priežu celmu, bet egļu celmos infekcija netika konstatēta.
2. *P. gigantea* sekmīgāk kolonizējusi ar konīdijsporu suspensiju apstrādātos priežu celmus salīdzinājumā ar egļu celmiem (attiecīgi: 60,0% un 5,6% no kopējā apstrādāto celmu skaita).
3. *P. gigantea* micēlijs konstatēts 84% ar „Rotstop” apstrādāto priežu celmu un 76% priežu celmu, kas apstrādāti ar Latvijas *P. gigantea* izolātu PG137 (atšķirības nebija būtiskas, $p > 0,05$). Otrs analizētais Latvijas *P. gigantea* izolāts PG185 attīstījās tikai 18% apstrādāto priežu celmu.
4. Vidējais dziļums, ko *P. gigantea* sasniedza priežu celmos gada laikā bija līdzīgs visiem apstrādes variantiem: „Rotstop” – $25,63 \pm 0,98$ cm, PG137 – $25,64 \pm 0,93$ cm un PG185 – $22,31 \pm 2,46$ cm.
5. *P. gigantea* micēlijs sasniedza sakņu kaklu 81% kolonizēto celmu, kas liecina, ka *P. gigantea* varētu mazināt *Heterobasidion* spp. sekundārās infekcijas izplatību maza diametra priežu celmos.
6. Palielinoties *P. gigantea* apstrādāto priežu celmu diametram, relatīvais *P. gigantea* aizņemtais laukums būtiski nemainījās.

PATEICĪBAS

Lielu pateicību izsaku šī darba vadītājiem Dr. silv. Tālim Gaitniekam un Dr. biol. Vizmai Nikolajevai par iespēju šo darbu izstrādāt un padomiem izstrādes gaitā.

Sevišķi liels paldies Mg. biol. Kristīnei Kenigshaldei par atbalstu un dalīšanos pieredzē un zināšanās.

Pateicību izsaku arī Bc. biol. Agritai Kenigshaldei, Mg. biol. Mg. silv Astrai Zaļumai, Lienei Dārtai Dumpei un Mg. silv. Kasparam Polmanim par praktisku palīdzību pētījumu veikšanā.

Pateicos Dr. biol. Leldei Grantīnai-Ieviņai par darba recenzēšanu.

Par finansiālo atbalstu pateicos Latvijas Zinātnes padomes grantu Nr.426/2012 „*Heterobasidion* spp. izrasītās sakņu trapes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums” projektam.

IZMANTOTĀS LITERATŪRAS SARAKSTS

Anonīms, 2013. LVM Rotstopa lietošanas kvalitātes prasības, rīkojums Nr.3.1-2.1_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.

Brūna L., Gaitnieks T., Vasaitis R. 2015. Spore production of *Heterobasidion annosum* s.l. fruit bodies in Latvia: impact of seasonal and meteorological factors. In: Jansons, A. (ed.) *Adaptation and mitigation: strategies for management of forest ecosystems. Book of Abstracts.* Riga, April 23–24, 2015. Salaspils: LSFRI Silava, pp. 37.

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.

Berglund, M., Carlsson, T., Rönnerberg, J., 2007. Infection of *Heterobasidion* spp. in late pre-commercial thinnings of *Picea abies* in southern Sweden. In: Garbelotto, M., Gonthier, P. (Eds.), *Proceedings of the 12th International Conference on Root and Butt Rots of Forest Trees*, 12th–19th August, 2007, Berkeley, California- Medford, Oregon, USA. University of California, Berkeley, pp. 221–225.

Eriksson, J.; Hjortstam, K.; Ryvarde, L. 1981. The Corticiaceae of North Europe. 6:1048-1276

Ēberliņa, A. 2014. Maza diametra skujkoku celmu uzņēmība pret *Heterobasidion annosum* s.l. bazīdijsporu infekciju dažādos gada laikos. Bakalaura darbs. Rīga, Latvijas Universitāte, 42. lpp.

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, Barkeley, Medford, USA: 177 – 179.

Garbelotto, M. & Gonthier, P., 2013. Biology, epidemiology, and control of *Heterobasidion* species worldwide. *Annual review of phytopathology*, 51, pp.39–59.

Grīnfelds U. 2012. Latvijas koku sugu piemērotība sulfātcelulozes ražošanai. Promocijas darba kopsavilkums. Jelgava, LLU, 51 lpp.

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. & Rönnerberg, J., 2013. Secondary spread of *Heterobasidion parviporum* from small Norway spruce stumps to adjacent trees. *Forest Ecology and Management*, 287, pp.1–8.

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), pp.655–665.

Holdenrieder O. and Greig B.J.W. 1998. Biological Methods of Control. – In: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 235 – 242.

Johansson, M. & Stenlid, J., 1985. Infection of roots of Norway spruce (*Picea abies*) by *Heterobasidion annosum*. *Forest Pathology*, 15(1), pp.32–45.

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.

Kallio, T., 1970. Aerial distribution of the root-rot fungus *Fomes annosus* (Fr.) Cooke in Finland. *Acta Forestalia Fennica*, 107, p.55.

Kallio, T., 1971a. Aerial distribution of some wood-inhabiting fungi in Finland. *Acta Forestalia Fennica*, 115, pp.1–22.

Kallio, T., 1971b. Protection of Spruce Stumps against *Fomes annosus* (Fr.) Cooke by some Wood-inhabiting Fungi. *Acta Forestalia Fennica*, 117, p.26.

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

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. et al., 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*, 7581(September), pp.1–8.

Korhonen K. and Stenlid J. 1998. Biology of *Heterobasidion annosum*. – In: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 44 – 54.

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.

Maijala, P., 2000. *Heterobasidion annosum* and wood decay: *Enzymology of cellulose, hemicellulose, and lignin degradation*, University of Helsinki. p.91.

- Meredith, D.S., 1959. The Infection of Pine stumps by *Fomes annosus* and other fungi. *Annals of Botany*, 23(3), pp.455–476.
- Meredith, D.S., 1960. Further observations on fungi inhabiting pine stumps. *Annals of Botany*, 24(1), pp.63–78.
- Mitchelson D. J. and Korhonen K. 1998. Diagnosis and differentiation of intersterility groups. – In: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 71-104.
- Mgbeahuruike, A., 2009. *A study of the traits associated with the biocontrol activity of Phlebiopsis gigantea*. Swedish University of Agricultural Sciences. p.41.
- 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.
- Morrison, D.J., 1989. Factors Affecting Infection of Precommercial Thinning Stumps by *Heterobasidion annosum* in Coastal British Columbia 1. , pp.95–100
- Nakasone, K.K. 1990. Cultural studies and identification of wood-inhabiting Corticiaceae and selected Hymenomycetes from North America. *Mycologia Memoirs*. 15:1-412
- 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), pp.365–374.
- Liepa I. 1974. „Biometrija”, Rīga: Zvaigzne, 336 lpp.
- Oliva, J., Thor, M. & Stenlid, J., 2010. Long-term effects of mechanized stump treatment against *Heterobasidion annosum* root rot in *Picea abies*. *Canadian Journal of Forest Research*, 40(6), pp.1020–1033.
- Otrosina, W.J. & Garbelotto, M., 2010. *Heterobasidion occidentale* sp. nov. and *Heterobasidion irregulare* nom. nov.: A disposition of North American *Heterobasidion* biological species. *Fungal Biology*, 114(1), pp.16–25.
- Paludan, F., 1966. Infektion og spredning af *Fomes annosus* i ung Rødgran (Infection and spread of *Fomes annosus* in young Norway Spruce). *Det forstlige forsøksvæsen i Danmark*, 30, pp.19–47.
- Redfern D.B. and Stenlid J. 1998. Spore dispersal and Infection. – In: Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. (ed.) *Heterobasidion annosum: biology, ecology, impact and control*. CAB International, Wallingford, UK: 105 – 124.

Rishbeth, J., 1951. 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., 1963. Stump protection against *Fomes annosus*. *Annual applied Biology*, (53), pp.63–77.

Rönnerberg, J., Berglund, M. & Johansson, U., 2007. Incidence of butt rot at final felling and at first thinning of the subsequent rotation of Norway spruce stands in south-western Sweden. *Silva Fennica*, 41(4), pp.639–647.

Samils, N., Olson, Å. & Stenlid, J., 2008. The capacity in *Heterobasidion annosum* s.l. to resist overgrowth by the biocontrol agent *Phlebiopsis gigantea* is a heritable trait. *Biological Control*, 45(3), pp.419–426.

Sun, H. et al., 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), pp.266–273.

Sun, H. et al., 2009. Variation in properties of *Phlebiopsis gigantea* related to biocontrol against infection by *Heterobasidion* spp. in Norway spruce stumps. *Forest Pathology*, 39(2), pp.133–144.

Sun, H. et al., 2011. Response of living tissues of *Pinus sylvestris* to the saprotrophic biocontrol fungus *Phlebiopsis gigantea*. *Tree Physiology*, 31(4), pp.438–451.

Sun, H. et al., 2013. The impacts of treatment with biocontrol fungus (*Phlebiopsis gigantea*) on bacterial diversity in Norway spruce stumps. *Biological Control*, 64(3), pp.238–246.

Swanwick, S., 2007. *Ecophysiology and production of the biocontrol agent Phlebiopsis gigantea*. Cranfield University. p.232.

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.

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.

Vasiliauskas, R. et al., 2004. Impact of biological (Rotstop) and chemical (urea) treatments on fungal community structure in freshly cut *Picea abies* stumps. *Biological Control*, 31(3), pp.405–413.

Vasiliauskas, R. et al., 2005. Persistence and long-term impact of Rotstop biological control agent on mycodiversity in *Picea abies* stumps. *Biological Control*, 32(2), pp.295–304.

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.

Westlund, A. & Norhstedt, H. O., 2000. Effects of Stump-treatment Substances for Root-rot Control on Ground Vegetation and Soil Properties in a *Picea abies* forest in Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 15, pp.550–560.

Zhao, A., 2013. *Effects of Temperature and Heterobasidion Species on the Biological Control Efficacy of Phlebiopsis gigantea*. Swedish University of Agricultural Sciences. p.27.

Zolciak, A., 2005. Wstępne Wyniki Inokulacji Pniaków Swierkowych Preparatem Biologicznym. *Lesne Prace Badawce*, 4, pp.29–40.

PIELIKUMI

1. pielikums.

Ekspērimētā izmantoto *P. gigantea* izolātu laboratorijā noteiktie parametri.

Properties of *P. gigantea* isolates used in the experiment

<i>P. gigantea</i> izolāts	Pārauguma zonas vidējais pieaugums, mm dienā ⁻¹		Vidējais augšanas ātrums laboratorijā, mm dienā ⁻¹ , ±standartklūda	Oīdiju produkcija, miljonos Petri platē	Vidējais augšanas ātrums egles koksne, mm dienā ⁻¹ , ±standartklūda	Vidēji aizņemtais laukums egles koksne, cm ² , ±standartklūda
	<i>H. annosum</i>	<i>H. parviporum</i>				
PG185	0,37	0,79	6,19 ± 0,49	573,07	2,67 ± 0,07	9,52 ± 1,98
PG137	1,20	1,01	6,13 ± 0,21	263,11	1,40 ± 0,27	2,54 ± 0,75
Rotstop	1,09	1,19	4,92 ± 0,61	610,25	1,87 ± 0,13	6,21 ± 0,92

Maģistra darbs „*Phlebiopsis gigantea* attīstība maza diametra skuju koku celmos” 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.

Autors: Anete Ēberliņa

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītāji: Dr. silv. Tālis Gaitnieks

31.06.2016

Dr. biol. Vizma Nikolajeva

Recenzents: Dr. biol. Lelde Grantiņa-Ieviņa

Darbs iesniegts Bioloģijas fakultātē 1.06.2016

Metodiķe: _____

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē

07.06.2016. prot. Nr._____.

Komisijas sekretārs: _____