

## PĀRSKATS

PAR MEŽA ATTĪSTĪBAS FONDA PASŪTĪTO PĒTĪJUMU

PĒTĪJUMA NOSAUKUMS: Bioloģisko preparātu pielietošana *Heterobasidion annosum* izraisītās sakņu trapes ierobežošanai skujkoku audzēs

LĪGUMA NR.: 160707/S269

IZPILDES LAIKS: 02.07.2007 – 15.11.2007

IZPILDĪTĀJS: Latvijas Valsts mežzinātnes institūts "Silava"

PROJEKTA VADĪTĀJS:

\_\_\_\_\_

Tālis Gaitnieks

**Salaspils, 2007**

# SATURA RĀDĪTĀJS

KOPSAVILKUMS.....	3
IEVADS.....	4
1. LITERATŪRAS APSKATS .....	6
1.1. Lielās pergamentsēnes <i>Phlebiopsis gigantea</i> bioloģija .....	6
1.2. Sakņu piepes <i>Heterobasidion annosum</i> bioloģija un izraisītie ekonomiskie zaudējumi.....	7
1.3. <i>Heterobasidion annosum</i> bioloģiskā kontrole.....	10
1.4. Bioloģiskās kontroles blakusefekti un ietekme uz vidi.....	11
2. MATERIĀLS UN METODIKA.....	13
2.1. Lauka darbu metodika <i>Phlebiopsis gigantea</i> izolātu ievākšanai .....	14
2.2. Laboratorijas darbu metodika <i>Phlebiopsis gigantea</i> izolātu efektivitātes novērtēšanai .....	14
2.3. Datu matemātiskā analīze <i>P. gigantea</i> izolātu efektivitātes novērtēšanai .....	20
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA.....	21
LITERATŪRA .....	30

## KOPSAVILKUMS

Viena no postošākajām kokaugu slimībām Latvijā ir sakņu trupe, ko izraisa sakņu piepe *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. *H. annosum* izraisa koku priekšlaicīgu bojāeju, tādā veidā radot ievērojamus zaudējumus mežsaimniecībā. Sakņu trupes bojāto kokmateriālu vērtība ievērojami samazinās. Visbiežāk lietotais sakņu trupes bioloģiskās kontroles aģents Eiropas valstīs ir lielā pergamentsēne: *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül.

Ilgstoši pielietojot bioloģiskos preparātus, vidē nonāk liels daudzums ģenētiski viendabīga sēnes izolāta. Bioloģisko preparātu ietekmi uz vidi iespējams samazināt, pielietojot preparātus, kuru ražošanā izmantoti vietējās izcelsmes sēņu izolāti.

Darba mērķis bija Latvijā izdalīt efektīvākos *P. gigantea* izolātus un pārbaudīt to efektivitāti laboratorijas apstākļos.

Pavisam tika ievākti 96 paraugi no priedes koksnes un 36 no egles koksnes. Laboratorijā izolēti 47 *P. gigantea* celmi no priedes un 8 no egles koksnes.

Šajā pētījumā tika izmantoti 29 Latvijā ievāktie *P. gigantea* izolāti un Somijā ražotais *P. gigantea* sēni saturošais preparāts „Rotstop”.

Latvijas *P. gigantea* izolātu efektivitāte tika salīdzināta ar preparāta „Rotstop” sastāvā esošās *P. gigantea* izolāta četriem dažādiem efektivitātes rādītājiem: micēlija augšanas ātrumu, antagonismu pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām, oīdiju produkciju.

Konstatēts, ka laboratorijas apstākļos, vairāku Latvijā ievākto *P. gigantea* izolātu micēlija augšanas ātrums, kā arī antagonisms pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām būtiski neatšķiras no „Rotstop” izolāta efektivitātes rādītājiem. Attiecībā uz oīdiju produkciju vairāki Latvijas *P. gigantea* izolāti uzrāda būtiski augstākas vērtības salīdzinājumā ar izolāta „Rotstop” sastāvā esošo *P. gigantea*. Visefektīvākie no Latvijas ievāktajiem *Phlebiopsis gigantea* izolātiem ir J1, K4, J3, J5 un Kd2, kuru efektivitāte turpmāk tiks pārbaudīta lauka apstākļos.

## IEVADS

Viena no postošākajām skujkoku slimībām Latvijā, tāpat kā citur Eiropā, ir sakņu piepes *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. izraisītā sakņu trupe.

Baltijas valstīs trupes īpatsvars egļu audzēs ir 20-50% (Vasilauskas et al., 2002; Gaitnieks et al., 2004). Trupes izraisītie zāģbaļķu vērtības zudumi ir 6-9%, bet zaudējumi var sasniegt pat 30-40% (Tamminen, 1985; Kaarna-Vuorinen, 2000). Ik gadu ekonomiskie zaudējumi Eiropas Savienības valstīs sastāda aptuveni 500 milj. eiro (Woodward et al., 1998; Webber and Thorpe, 2001).

Viens no svarīgākajiem sakņu trupes ierobežošanas pasākumiem ir celmu virsmu apstrāde ar bioloģiskiem vai ķīmiskiem preparātiem. Tieši bioloģisko preparātu pielietošanai ir vairākas priekšrocības. Atšķirībā no ķīmiskajiem preparātiem, bioloģiskās kontroles aģenti un to metabolīti ir viegli noārdāmi, tādā veidā ir iespējams izvairīties no ekoloģiskām briesmām. Bioloģisko līdzekļu ietekme ir ilgstoša, turklāt tie var kļūt par noturīgu biocenozes komponentu.

Viens no efektīvākajiem bioloģiskās aizsardzības veidiem ir celmu virsmu apstrāde ar antagonistu sporām. Efektīvākā *H. annosum* ierobežošana ar antagonistiem ir šīs sēnes agrīnajos attīstības posmos. Šajā laikā patogēnam ir maza biomasa un tāpēc arī vāja saprofītiskās konkurences spēja (Holdenrieder and Greig, 1998).

Pagaidām vienīgā sēne starp bazidiomicētēm, kas spēj nodrošināt *H. annosum* izplatības ierobežošanu celmos ir lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jül. Uz šīs sēnes bāzes ir izveidoti vairāki preparāti. „Rotstop” ir viens no vislabāk pazīstamajiem *P. gigantea* sporas saturošajiem bioloģiskajiem preparātiem (Korhonen et al., 1994). Daudzās valstīs priežu celmu apstrāde ar *P. gigantea* ir attīstīta un sekmīgi pielietota. Tomēr neskaidri ir jautājumi par *P. gigantea* viena izolāta „Rotstop” ietekmi uz ekosistēmu, tā lietošanas drošību attiecībā uz ģenētisko un bioloģisko daudzveidību.

Veiktie pētījumi Zviedrijā parādīja, ka preparāta „Rotstop” efektivitāte Zviedrijā bija zemāka kā Somijā (Berglund et al., 2005; Thor and Stenlid, 2005), tādēļ tika meklēti Zviedrijas vietējie *P. gigantea* celmi, kas būtu efektīvāki un labāk piemēroti Zviedrijas apstākļiem.

Ar AS „Latvijas valsts meži” iniciatīvu Latvijā „Rotstop<sup>F</sup>” (turpmāk tekstā „Rotstop”) tika reģistrēts 2006. gadā. Arī Latvijā ir svarīgi atrast efektīvus *P. gigantea*

celmus, ko perspektīvā varētu izmantot, ražojot bioloģiskos preparātus *H. annosum* izraisītas sakņu trapes ierobežošanai.

Mūsu darba mērķis ir Latvijā izdalīt efektīvākos *P. gigantea* izolātus un pārbaudīt to ietekmi uz *H. annosum* attīstību skujkoku celmos.

2007. gadā tika izvirzīti sekojoši darba uzdevumi:

1. Ievākt atšķirīgus *P. gigantea* sēnes izolātus;
2. Noteikt sēnes *P. gigantea* micēlija augšanas ātrumu;
3. Laboratorijas apstākļos analizēt *P. gigantea* antagonismu pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām;
4. Pārbaudīt sēnes *P. gigantea* sporu produkcijas efektivitāti;
5. Salīdzināt Latvijā ievāktu sēnes *P. gigantea* izolātu un preparāta „Rotstop” sastāvā esošās sēnes *P. gigantea* efektivitātes radītājus.

# 1. LITERATŪRAS APSKATS

## 1.1. Lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* bioloģija

Lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich ir koksni noārdoša saprotrofiska bazidiomicēte, kas īpaši izplatīta mērenās un boreālās joslas mežos visā pasaulē. Sēne izraisa skujkoku kokmateriālu balto trupi (Eriksson et al., 1981)..

Sēnes optimālai attīstībai nepieciešams augsts mitruma saturs. *P. gigantea* sēnes augļķermeņi bieži veidojas uz kritālām, un ciršanas atliekām (1. attēls). *P. gigantea* sēne ir bieži sastopama uz divus - trīs gadus veciem egļu un priežu celmiem (2. attēls). Visbiežāk augļķermeņi sastopami uz priežu celmiem (Käärik and Rennerfelt, 1957).

Jaunie *P. gigantea* augļķermeņi ir caurspīdīgi, baltpelēki, vecākas sēnes – pelēkas vai dzeltenbrūnas (3. attēls). Diametrs augļķermeņiem var būt no 20 līdz 30 cm (Käärik and Rennerfelt, 1957), biezums – 0,5 mm (Cram, 2003). Augļķermeņi var veidoties trīs līdz četrus gadus pēc infekcijas koksne (Holdenrieder and Greig, 1998).



1. attēls. *Phlebiopsis gigantea* augļķermeņi uz ciršanas atliekām (T. Gaitnieka foto).



2. attēls. *Phlebiopsis gigantea* augļķermeņi uz egles celma (T. Gaitnieka foto).

*P. gigantea* ir raksturīga gan dzimumiskā gan bezdzimumiskā vairošanās. Dzimumiskā vairošanās noris ar bazīdijsporām, kuru izmēri ir 6-8 x 2,75-4 μm. Bezdzimumiskā vairošanās – ar veģetatīvajām sporām, jeb oīdijām, kuru izmēri ir 5-10 x 2,5-6 μm (Eriksson et al., 1981).

Līdz šim ir veikti daudzi lauka pētījumi Lielbritānijā, Kanādā, ASV, Francijā, Vācijā, Zviedrijā, Somijā, Polijā, lai noskaidrotu *P. gigantea* efektivitāti pret *H. annosum* attīstību koksņē un analizētu sēnes antagonismu (Rishbeth, 1975; Thor, 1997; Varese et al., 2003; Pettersson and Rönnerberg, 2001; Vainio et al., 2001; Webber and Thorpe, 2001).



3. attēls. *Phlebiopsis gigantea* augļķermeņi (T. Gaitnieka foto).

## 1.2. Sakņu piepes *Heterobasidion annosum* bioloģija un izraisītie ekonomiskie zaudējumi

Sakņu piepe *Heterobasidion annosum*(Fr.) Bref. ir koksni noārdošā bazidiomicēte. *H. annosum* sēne veido neregulāras formas, sēdošus augļķermeņus. Augļķermeņa pamatne ir paplašināta, savukārt apmale ir plānāka, bieži uzlieta. Visbiežāk jaunie augļķermeņi veidojas rudens mēnešos - septembrī un oktobrī, retāk vasaras beigās. *H. annosum* piepes veidojas uz vēja izgāztu koku saknēm. Atrodamas atmirušu vai vēl dzīvu koku sakņu kakla rajonā (Laflamme, 1994).

Piepes virspuses krāsa var būt no tumši brūnas, gandrīz melnas līdz pat gaiši brūnai. Apmale ir balta (4., 5. attēls). Himenofors ir stobrveida. Tā krāsa ir dzeltenīga vai balta. Augļķermeņu diametrs ir 5-30 cm, biezums – 3-4 cm. (Eglītis, Gailītis, 1930; Шевченко, Цилорик, 1986).

*H. annosum* ir raksturīga gan dzimumiskā gan bezdzimumiskā vairošanās. Dzimumiski sēne vairojas ar bazīdijsporām, kuras ir olveida vai elipsoīdas. Bazīdijsporu izmēri: 4.5-6 x 4-4.5 μm. Bezdzimumiski vairojas ar konīdijām (Breitenbach, Kränzlin, 1986). Konīdiju

izmēri ir 4.8-6.6 x 3,6-5,0 µm (Mugnai, Capretti, 1989). Dabā konīdiju loma *H. annosum* izplatībā ir nenozīmīga. Visbiežāk sēnes bezdzimumstadija ir sastopama laboratorijas apstākļos tīrkultūrā, kur konīdijas labvēlīgā temperatūras un mitruma režīmā veidojas Petri platēs uz micēlija virsmas (Laflamme, 1994).



4. attēls. *Heterobasidion annosum* augļķermeņi uz priedes sakņu kakla (T. Gaitnieka foto).



5. attēls. *Heterobasidion annosum* augļķermeņi uz egles celma (T. Gaitnieka foto)

*H. annosum* sastopama gandrīz visos apsaimniekotajos mežos ziemeļu puslodē (Niemelä and Korhonen, 1998). Ik gadu sēnes izraisītie zaudējumi Eiropas valstīs veido aptuveni 500 miljonus eiro (Webber and Thorpe, 2001). Latvijā sakņu trupe ir sastopama visu vecuma klašu priežu un egļu audzēs.

*H. annosum* sēne konstatēta gandrīz 150 saimniekaugu sugām (Hodges, 1969). Galvenie saimniekaugi Eiropas ziemeļu daļā ir skujkoki. Sakņu piepes bojājumi visbiežāk tiek konstatēti priedei (*Pinus sylvestris* L.) un eglei (*Picea abies* (L.) Karst). Ir novērots, ka sakņu piepe inficē arī āra berzu (*Betula pendula* Roth), apsi (*Populus tremula* L.), pīlādzi (*Sorbus aucuparia* L.), kadiķi (*Juniperus communis* L.), baltalksni (*Alnus incana* (L.) Moench.), sila virsi (*Calluna vulgaris* (L.) Hull). Vairumā gadījumu *H. annosum* neinficē lapu koku tīraudzes, bet gan izplatās no slimības skartiem skuju kokiem sakņu kontaktu ceļā (Korhonen, Piri, 1993).

Galvenā pazīme, kas liecina, ka koki ir inficēti ar šo slimību, ir trupējuma plankumi, kas redzami uz nozāģētu koku celmu virsmas. Plankumi sākotnēji ir gaiši dzelteni, parasti



bālāki nekā veselā koksne, tos aptver tumšākas krāsas zona. Trupējusi koksne pēc kāda laika kļūst mīksta, šķiedraina, sausa, brūngana (6. attēls). Vēlāk stumbrā var izveidoties dobums (Greig, 1998).



6. attēls. Ar sakņu trupi inficēts *Picea abies* celms (T. Gaitnieka foto).

Austrumeiropā un Baltijas valstīs vairāk nekā pusi no mežu platības aizņem *Pinus sylvestris*. Tādēļ īpaši svarīgs mežsaimniecībā ir šo audžu fitopatoloģiskais stāvoklis. *H. annosum* ir plaši izplatīta valstīs, kur notiek intensīva mežu apsaimniekošana (Fiodorov, 1998).

Ar *H. annosum* inficētajiem kokiem pavājinās noturība pret vējgāzēm un snieglauzēm, samazinās pieaugums, kā arī pastiprinās uzņēmība pret kaitēkļiem un citiem patogēniem (Korhonen et al., 1994).

*H. annosum* pazīmes dzīvos kokos nav ļoti atšķirīgas no citu trupi izraisīto bojājumiem koksnei. Dzīva koka stumbrā sakņu trupe var attīstīties bez ārējām pazīmēm. Kad vismaz puse no koka sakņu sistēmas vai sakņu kakls ir inficēts, simptomi koksnei kļūst redzami. Konstatēti sveķaini izdalījumi pie koka pamata vai sveķainas brūces uz saknēm. Infekcijai pastiprinoties koku vainags dzeltē vai brūnē, vērojama vainaga izretināšanās. Jauni koki, kas aug uz bijušām lauksaimniecības zemēm, var nokalst vienas sezonas laikā (īpaši priedes) (Greig, 1998; Cram, 2003).

### 1.3. *Heterobasidion annosum* bioloģiskā kontrole.

Organisma spēju eksistēt noteiktā vidē daļēji nosaka tā ekoloģiskās attiecības ar citiem organismiem, kuri bieži var būt antagonisti. Tādēļ ir iespējams šādus organismus lietot patogēnu bioloģiskajā kontrolē (Holdenrieder and Greig, 1998).

Vienīgā suga starp bazidiomicētēm, kas plaši tiek pielietota *H. annosum* bioloģiskajā kontrolē, ir *P. gigantea*.

*P. gigantea*, līdzīgi *H. annosum*, spēj inficēt vēl dzīvus, svaigi cirstu celmu audus. Straujas celma kolonizācijas rezultātā tā neļauj attīstīties *H. annosum* (Holdenrieder and Greig, 1998). Starp šīm divām sēnēm, laboratorijas apstākļos, tiek novērots antagonisms hīfu kontakta vietā. Saskaroties ar *P. gigantea* hīfām, *H. annosum* hīfas strauji noārdās (Deacon, 1998).

*H. annosum* augšana ir daudz lēnāka kā *P. gigantea*. *H. annosum* vidējais augšanas ātrums dzīvās saknēs var būt no 9.5 - 25.0 cm gadā. *P. gigantea* vidējai augšanas ātrums var būt vairāk nekā 20 cm trīs mēnešos (Pettersson and Rönnerberg, 2001).

*P. gigantea* veģetatīvi izplatās ar oīdijām. Tās ir pietiekoši rezistentas pret izžūšanu, tiek producētas lielā skaitā un ir viegli uzglabājamās. Eiropas Savienības valstīs plaši tiek pielietots *P. gigantea* oīdiju pulveris *H. annosum* izraisītās sakņu trapes kontrolē.

Šāds *P. gigantea* oīdiju pulveris Skandināvijā ir reģistrēts kā bioloģiskās kontroles preparāts „Rotstop”, Polijā – kā preparāts PgIBL, Lielbritānijā – kā PG Suspension (Thor, 1997). Eiropā *P. gigantea* ir visplašāk lietotais *H. annosum* bioloģiskās kontroles līdzeklis. Ar to katru gadu tiek apstrādāti apmēram 210 000 ha mežu (Thor, 2001).

Somijā, Īrijā, Skotijā, Polijā, Norvēģijā, Francijā, Dānijā un Zviedrijā celmu apstrāde pēc kailcirtes vai audžu retināšanas tiek veikta 90 % no visas platības. Pētījumos konstatēts, ka egļu celmu apstrāde pēc mežizstrādes samazina svaigu neinficētu celmu inficēšanos par 90 – 95 %. Inficētās audzēs rezultāti ir atšķirīgi. Eiropas Savienības valstīs gadā investē 13 miljonus eiro celmu apstrādei, tajā skaitā arī ķīmiskajai apstrādei. Lai nodrošinātu veselu audžu īpatsvara palielināšanos nākotnē, Polijā un Lielbritānijā celmu apstrāde ir obligāta (Thor, 2001).

Celmu apstrāde pavasarī un rudenī palielina apstrādes efektivitāti pat līdz 100%, ja vien celmi ir atbilstoši apstrādāti. Celmu apstrāde palielina izmaksas par 10%. Tomēr nākotnē tās atmaksājas gan ekonomiski, gan ekoloģiski (Sierota, 2001).

Izmantojot *P. gigantea*, tiek panākta *H. annosum* izplatības samazināšana skujkoku audzēs. Šādas bioloģiskās kontroles rezultātā samazinās skujkoku mirstība un pieaugu produkcijas apjomi. Celmu apstrāde Polijā ar šo preparātu pirmās paaudzes priežu audzēs, kas izveidotas uz lauksaimniecības zemēm, ir obligāta kopš 1984. gada (Sierota, 2001).

#### 1.4. Bioloģiskās kontroles blakusefekti un ietekme uz vidi

Bioloģiskā kontrole, salīdzinot ar ķīmikāliju pielietojumu, bieži ir jūtīgāka attiecībā uz klimatiskajiem apstākļiem un, adekvāts tās pielietojums, prasa atbilstošas zināšanas. Izmantojot *P. gigantea* celmu apstrādē mežā, skujkoku zāģmateriāliem sēne var izraisīt sarkanās svītras (Holdenrieder and Greig, 1998).

Dabisko sēņu populāciju struktūru gan skuju koku, gan lapu koku celmos, būtiski ietekmē celmu apstrāde ar ķīmiskajiem aģentiem. Zinātnieki ir pierādījuši, ka celmu apstrāde ar *P. gigantea* un citu sēņu sporu suspensijām ietekmē citu celmu sēņu sugu daudzveidību (Lipponen, 1991). Bioloģisko preparātu pielietošanas efekts ir ilgstošs, tādēļ nevar droši apgalvot, ka celmu apstrāde neizraisīs nopietnas izmaiņas meža ekosistēmā (Varese et al., 2003).

Pētījumi Zviedrijā pierāda, ka pirmo sešu gadu laikā pēc apstrādes preparāts „Rotstop” samazina celmos sastopamo sēņu sugu daudzveidību. Četrus gadus vecos analizētajos celmos daudzveidība ir samazinājusies par 32%, bet sešus gadus vecos celmos par 46%. Dominējošā sēne četrus gadus vecos apstrādātajos celmos bija *P. gigantea* („Rotstop” genotips), kontroles celmos tika novērota liela dabiskās *P. gigantea* ģenētiskā daudzveidība. Sešus gadus vecos celmos gan apstrādes, gan kontroles variantā *P. gigantea* jau bija reti sastopama. Šī vecuma celmos tika novērota citu sēņu sugu sastopamība, piemēram, *Hypholoma capnoides*, *Resinicium bicolor*, *Sistotrema brinkmannii*. Pētījuma rezultātā tika pierādīts, ka pēc „Rotstop” preparāta pielietošanas *Heterobasidion annosum* bija vienīga bazidiomicēte, kuras sastopamība tika būtiski samazināta (Vasiliauskas et al., 2002).

Nopietnākas bažas rada efekts uz nemērķa organismiem. Negatīvi ietekmēti var būt celmus apdzīvojošie mikofloras organismi, tajā skaitā *P. gigantea* dabiskās populācijas, kas var novest pie nevēlamām bioloģiskās daudzveidības izmaiņām ekosistēmā (Holdenrieder and Greig, 1998). Tomēr ārvalstu zinātnieku pētījumos tiek minēts, ka

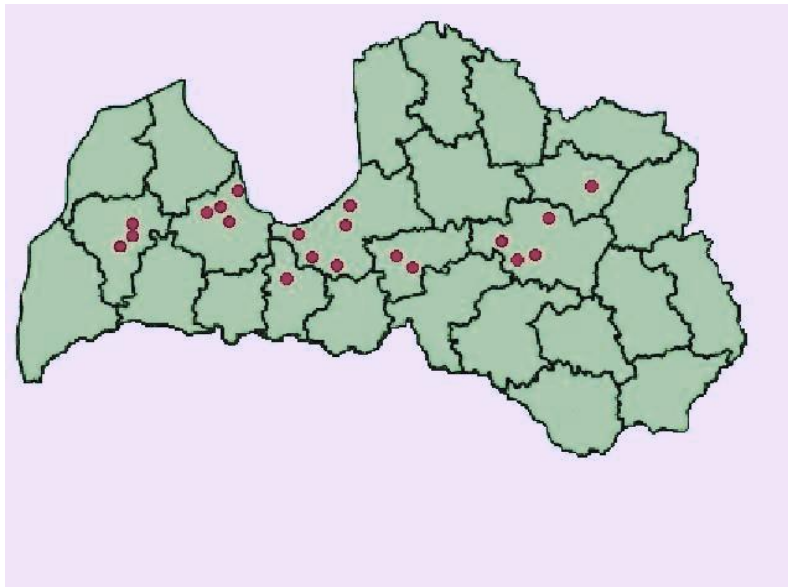
preparāts „Rotstop” neizraisa būtisku dabiskās *P. gigantea* ģenētiskās daudzveidības samazināšanos ( Vainio et al., 2001).

Pētījumi liecina, ka negatīvi tiek ietekmēta veģētācijas daudzveidība ap celmiem un augsnes īpašības, ja tiek izmantoti ķīmiskās kontroles līdzekļi. Tādi ķīmiskie aģenti, kā urīnviela un borāti, izraisa strauju sūnu un vaskulāro augu bojāeju. Salīdzinot celmu apstrādi ar ķīmiskās kontroles līdzekļiem, preparāts „Rotstop” neizraisīja būtiskus veģētācijas bojājumus un neietekmēja augsnes pH (Westlund and Nohrstedt, 2000).

## 2. MATERIĀLS UN METODIKA

Dažādi Latvijas izcelsmes *Phlebiopsis gigantea* izolāti tika ievākti laikā no 2007. gada jūlija līdz novembra mēnesim Ziemeļkurzemes, Dienvidkurzemes, Zemgales, Vidusdaugavas, Austrumvidzemes, Rietumvidzemes un Ziemeļlatgales mežsaimniecībās. Pavisam tika ievākti 96 paraugi no priedes koksnes un 36 no egles koksnes. Līdz šim laboratorijā izolēti 55 *P. gigantea* celmi: 47 no priedes un 8 no egles koksnes. Pētījumā tika izmantoti arī 2006. gadā ievāktie izolāti.

Ievākto izolātu nosaukumi veidoti no izcelsmes vietas nosaukuma viena vai diviem burtiem. Eksperimentā izmantoti 29 *P. gigantea* celmi: seši no Kalsnavas (K1, K2, K3, K4, K5, K6), seši no Jelgavas (J1, J2, J3, J4, J5, J6), deviņi no Kuldīgas (Kd1, Kd2, Kd3, Kd4, Kd5, Kd6, Kd7, Kd8, Kd9), trīs no Cesvaines (C1, C2, C3), divi no Ogres (O1, O2), viens no Gulbenes (G1), viens no Plakanciema (P1) un viens no Kandavas (Kn1). *P. gigantea* izolātu ievākšanas rajoni atzīmēti 7. attēlā.



7. attēls. *P.gigantea* izolātu ievākšanas vietas (K. Pārums shēma).

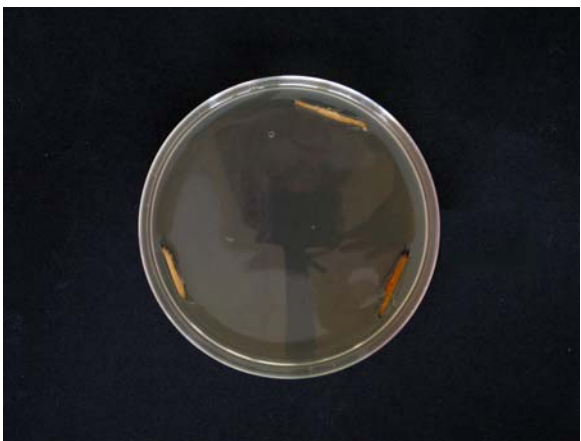
## 2.1. Lauka darbu metodika *Phlebiopsis gigantea* izolātu ievākšanai

*Phlebiopsis gigantea* sēne tika meklēta uz divus-četrus gadus veciem priežu un egļu celmiem, kā arī uz nogāztiem kokiem un mežā atstātām ciršanas atliekām. Sēne parasti tiek atrasta uz tās koksnes daļas, kas ir vērsta pret zemi, kā arī uz baļķu galiem. Ar cirvja palīdzību paņēma nelielus (5 x 10 cm) paraugus. Iegūtos paraugus ievietoja polietilēna maisos. Katrā maisā pievienoja etiķeti ar izcelsmes vietas nosaukumu. Paraugus uzglabāja aukstajā kamerā (+ 4 °C).

## 2.2. Laboratorijas darbu metodika *Phlebiopsis gigantea* izolātu efektivitātes novērtēšanai

### *Phlebiopsis gigantea* kultūru iegūšana

Ar naža vai skalpeļa palīdzību no ievāktajiem koksnes paraugiem izgriezta 20-25 mazus koka gabaliņus (0,2 - 0,5 x 2 cm). Pirms novietošanas Petri platēs uz sterilas iesala-agara barotnes, iegūtos koksnes gabaliņus virspusēji sterilizēja virs atklātas liesmas. Katrā Petri platē ievietoja divus līdz trīs koksnes gabaliņus pēc iespējas tālāk vienu no otra (8. attēls). Petri plates uzglabāja termostatā (*Lovibond* – Thermostat Cabinet) vienu līdz divas nedēļas 20 °C temperatūrā un regulāri novēroja sēnes koloniju attīstību (9. attēls).



8. attēls. Petri plate ar koksnes gabaliņiem *P. gigantea* izolēšanai (A. Mihailovas foto).



9. attēls. *P. gigantea* micēlijs (A. Mihailovas foto).

### **Iesala-agara barotne:**

Maltozes ekstrakts (SIGMA „Malt extract”, Steinheim, Germany)

15 g

Agars (Difco Laboratories „Agar”, Detroit, Michigan, USA)

12 g

Ūdens

1000 ml

Barotni autoklāvēja 20 min 121°C temperatūrā.

### ***Phlebiopsis gigantea* kultūru identifikācija**

*Phlebiopsis gigantea* kultūras identificēja pēc to makroskopiskajām un mikroskopiskajām pazīmēm, izmantojot Leica DM 4000B mikroskopu.

#### Makroskopiskās pazīmes:

Micēlija krāsa: balta;

Micēlija virsma: gluda, matēta;

Micēlija apmale: gluda;

Micēlija konsistence: sīkgraudaina.

#### Mikroskopiskās pazīmes:

Gaisa micēlijs sadalīts tipiskās oīdiju virknēs;

Oīdijas cilindriskas, ar noapaļotiem galiem;

Micēlijs inkrustēts ar kalcija oksalāta kristāliem;

Micēlijā bieži sastopamas sprādzes un dubultās sprādzes.

### ***Phlebiopsis gigantea* tīrkultūru iegūšana**

Izmantojot nosterilizētu metāla cilindru (diametrs 5 mm) un preparējamo adatu, no *P. gigantea* kultūras ieguva vienādus micēlija gabaliņus, kurus pa vienam novietoja atsevišķās Petri platēs ar iesala-agara barotni un inkubēja termostatā 20 °C temperatūrā. Iegūtās tīrkultūras glabāja termostatā pie tādas pašas temperatūras.

### ***Phlebiopsis gigantea* micēlija augšanas ātruma noteikšana**

*Phlebiopsis gigantea* tīrkultūras micēlija gabaliņu novietoja uz iesala-agara barotnes pie pašas Petri plates malas. Petri plates novietoja termostatā 20 °C temperatūrā un katru dienu vienā un tajā pašā laikā ar lineālu izmērīja augoša micēlija rādiusu virzienā no micēlija gabaliņa uz Petri plates malām. Micēlija augšanas robežas atzīmēja uz Petri plates apakšējās virsmas ar pildspalvu (10. attēls). Augšanas ātrumu mērīja deviņu dienu laikā. Mērījumus veica trīs atkārtojumos. Pēc iegūtajiem rezultātiem izrēķināja katra *Phlebiopsis gigantea* izolāta micēlija vidējo augšanas ātrumu dienā.

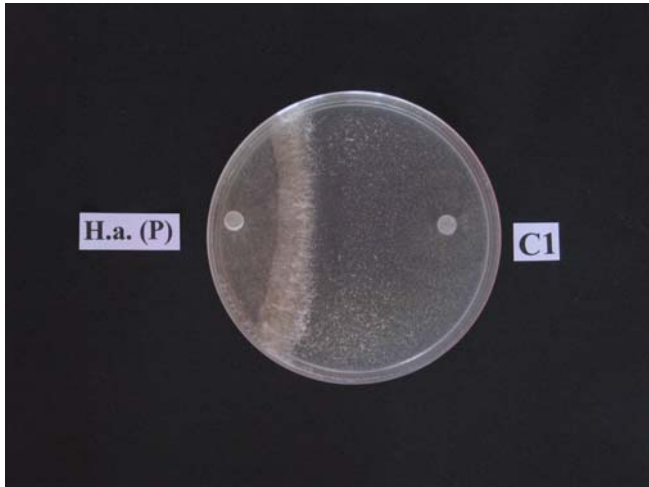


10. attēls. *P. gigantea* micēlija augšanas ātruma mērīšana (A. Mihailovas foto).



## ***Phlebiopsis gigantea* antagonisma pārbaude pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām**

Katru *P. gigantea* izolāta micēlija gabaliņu pārnesa atsevišķā Petri platē uz sterilas iesala-agara barotnes, izmantojot nosterilizētu pipeti. Pēc tam uz šīs pašas Petri plates pārnesa agara gabaliņu ar *H. annosum* S intersterilitātes grupas (Zviedrijas izolāts *Rb 175*) kultūru un novietoja 5-6 cm attālumā no pārbaudāmās kultūras. Petri plates inkubēja termostatā 20 °C temperatūrā. Regulāri novēroja abu sēņu koloniju augšanu un attīstību. Pēc 10 un 20 dienām kopš sēņu uzlikšanas uz platēm mērīja *P. gigantea* pārauguma zonas platumu (11. attēls). Identiskus mērījumus veica, izmantojot *H. annosum* P intersterilitātes grupu (Zviedrijas izolāts 358).



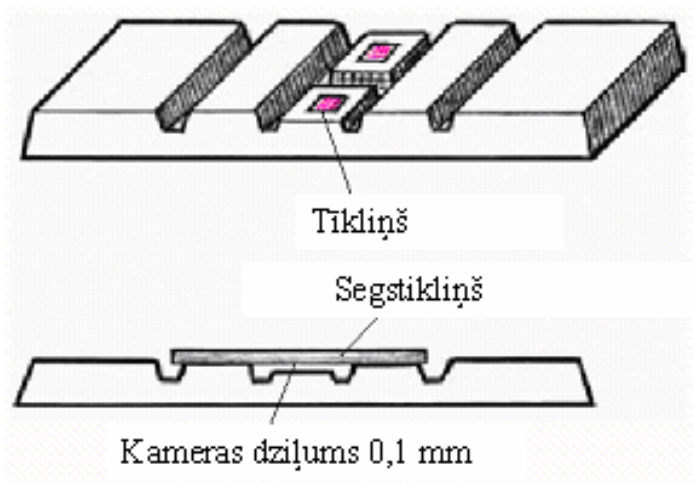
11. attēls. *P. gigantea* C1 izolāta antagonisms pret *H. annosum* P intersterilitātes grupu – labi saskatāma pārauguma zona (K. Pārumas foto).

***Phlebiopsis gigantea* oīdiju (veģetatīvo sporu) produkcijas noteikšana izmantojot Gorjajeva kameru**

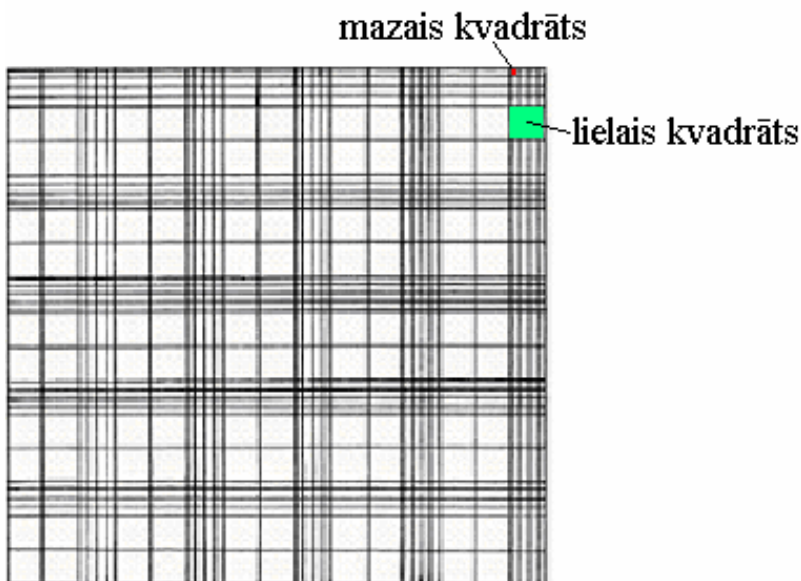
No katra *Phlebiopsis gigantea* izolāta tīrkultūras pagatavoja suspensiju. Izmantojot sterilu pipeti, Petri platē pievienoja 1ml ūdens un ar nosterilizēto špateli vienmērīgi izkliedēja pa visu virsmu. Ar pipeti iegūto suspensiju iesūca un pārnesa Ependorfa mēģenē.

Lai noteiktu oīdiju skaitu iegūtajā suspensijā, tika izmantota Gorjajeva kamera (12. attēls).

Gorjajeva kamera ir biezs priekšmeta stikls, kura vidusdaļā šķērsām izdobtas četras renītes, izveidojot piecas taisnstūrveida plāksnītes. Vidējā plāksnīte, ko īpaša renīte perpendikulāri pārdala uz pusēm, ir par 0,1 mm zemāka nekā divas blakusesošās. Tāpēc, pārsedzot kameru ar segstikliņu, izveidojas mikrotelpa, kuras dziļums ir 0,1 mm (12. attēls).



12. attēls. Gorjajeva kamera (Ройтберг, Струтынский, 1999).



13. attēls. Gorjajeva kameras tīkliņš (Ройтберг, Струтынский, 1999).

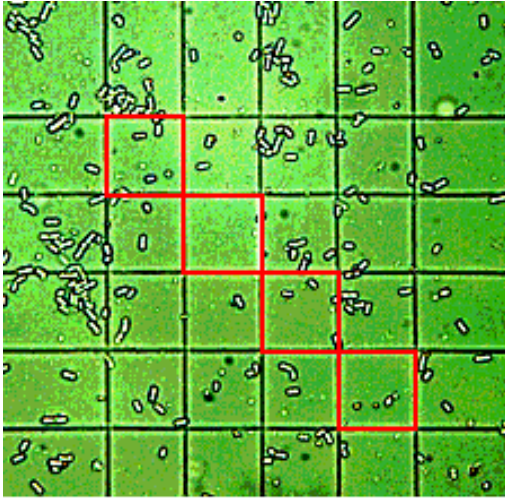
Uz vidējās plāksnītes abu pušu virsmām stiklā iegravēts tīkliņš (13. attēls). Tīkliņš sastāv no 225 lielajiem kvadrātiem, no kuriem 25 kvadrāti ir sadalīti katrs vēl 16 mazajos kvadrātiņos. Lielā kvadrāta malas garums ir 0,2 mm (laukums atbilstoši ir 0,04 mm<sup>2</sup>), mazā kvadrāta malas garums ir četras reizes mazāks (0,05 mm) (laukums atbilstoši ir 0,0025 mm<sup>2</sup>) (1. tabula).

1. tabula. Gorjajeva kameras tehniskais raksturojums

Kameras parametri	Parametru raksturlielumi
Lielā kvadrāta malas garums, mm	0,2 ± 0,0015
Mazā kvadrāta malas garums, mm	0,05 ± 0,001
Tīkliņa malas garums, mm	3 ± 0,003
Tīkliņa laukums, mm <sup>2</sup>	9
Kameras dziļums, mm	0,1 ± 0,003
Kameras masa, g	4

Kameru apstrādāja ar 70% etilspirtu. Uz kameras vidējās plāksnītes uzlika segstikliņu un to pieslīpēja tā, lai uz segstikliņa malas kļūtu redzami varavīksnes gredzeni (tā tika precīzi ievērots kameras tilpums). Ar sterilu pipeti paņēma 100 µl suspensijas un ievadīja Gorjajeva kamerā, uzpilnot to uz kameras vidējās plāksnītes līdzās segstikliņa malai. Pēc 1-2 minūtēm, kad izbeidzās šķidrums plūsma kamerā, to uzlika uz mikroskopa galdiņa.

Izmantojot 100 x palielinājumu, *P. gigantea* oīdijas tika saskaitītas 20 mazajos kvadrātos. Šim nolūkam redzes lauka kreisajā augšējā stūrī atrada lielo sadalīto kvadrātu un saskaitīja oīdijas četros mazajos kvadrātiņos pa lielā kvadrāta diagonāli (15. attēls). Pēc tam pārbīdīja kameru pa diagonāli uz leju un atrada nākamo sadalīto kvadrātu, līdzīgi saskaitīja oīdijas četros mazajos kvadrātos un tā tālāk (14. attēls).



14. attēls. *P. gigantea* oīdijas Gorjajeva kameras lielajā kvadrātā (A. Mihailovas foto).

Ja oīdijas atradās uz mazā kvadrāta malas, tad pieskaitīja tikai uz divām malām (uz kreisās un apakšējās malas) esošās, ja vismaz puse šūnas atradās kvadrātā. Pēc tam aprēķināja vidējo oīdiju skaitu vienā mazajā kvadrātā. Ievērojot mazā kvadrāta laukumu, noteica vidējo oīdiju skaitu  $1\text{mm}^2$ . Skaitījumus veica trīs atkārtojumos divas reizes (1 un 2,5 mēneši) pēc kultūru uzsēšanas.

### **2.3. Datu matemātiskā analīze *P. gigantea* izolātu efektivitātes novērtēšanai**

Iegūtie rezultāti apstrādāti, izmantojot programmu *Microsoft Excel*. Rēķināja vidējās vērtības un standartnovirzes, kā arī korelāciju starp visiem iespējamiem efektivitātes rādītājiem. Korelācijas koeficienta būtiskumu pārbaudīja, salīdzinot ar kritisko vērtību pie  $\alpha = 0,05$  (Liepa, 1974).

Izolātu efektivitātes rādītāju vērtību salīdzināšanai izmantota dispersijas analīze (ANOVA).

### 3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Līdz 2007. gada novembra mēnesim pavisam tika ievākti 132 *P. gigantea* paraugi. No egles koksnes ievākti 36 un no priedes koksnes 96 paraugi. Līdz šim laboratorijā ir izdalīti 47 *P. gigantea* izolāti no priedes koksnes un 8 izolāti no egles koksnes. Laboratorijā ir izanalizēti 28 *P. gigantea* izolāti no priedes koksnes un viens no egles koksnes.

#### 3.1. *Phlebiopsis gigantea* izolātu efektivitātes analīze

Laboratorijas apstākļos tika mērīts *P. gigantea* izolātu micēlija augšanas ātrums. Sēnes *P. gigantea* izolātu micēlija vidējais pieaugums deviņu dienu laikā ir attēlots 2. tabulā.

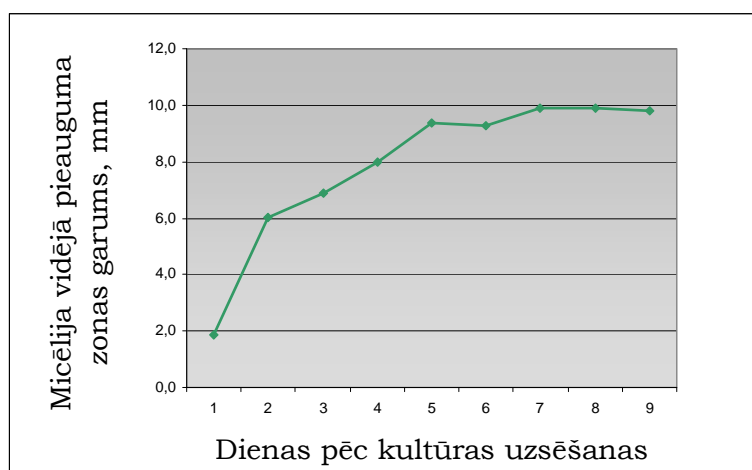
2. tabula.  
*P. gigantea* izolātu micēlija vidējais pieaugums deviņu dienu laikā.

<i>P. gigantea</i> celma nosaukums	<i>P. gigantea</i> kultūru micēlija vidējais (pēc 3 atkārtojumiem) pieauguma zonas garums, mm									
	Dienu skaits pēc kultūras uzsēšanas									Vidēja vērtība
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
K1	2,0	4,7	5,0	7,2	9,5	9,5	9,7	10,0	10,0	7,50
K2	1,0	6,0	7,5	8,0	9,7	10,0	10,3	10,5	10,0	8,11
K3	1,5	5,2	6,3	8,0	10,1	9,0	10,5	10,2	10,0	7,87
K4	2,3	6,7	7,0	8,8	10,0	10,0	10,8	10,3	11,0	8,56
K5	2,2	4,2	5,3	6,3	9,3	8,8	10,3	10,3	10,3	7,46
K6	1,8	4,5	6,3	8,5	10,3	9,2	10,2	10,0	10,2	7,89
J1	1,0	5,3	6,2	8,0	10,0	9,5	10,0	9,7	10,0	7,74
J2	1,8	7,3	7,8	8,7	10,5	9,7	9,8	10,2	9,7	8,39
J3	1,2	6,3	6,2	7,7	9,8	9,0	10,5	9,7	10,0	7,81
J4	2,0	5,7	6,2	8,0	9,3	9,7	10,5	10,8	10,0	8,02
J5	2,0	8,8	8,0	8,0	9,8	8,8	10,8	9,5	10,0	8,43
J6	2,0	7,8	7,5	7,3	10,0	9,2	10,2	10,3	11,5	8,43
Kd1	0,5	5,2	6,5	7,7	10,5	9,8	10,0	10,0	10,0	7,80
Kd2	0,8	5,8	6,0	7,8	9,8	9,8	10,0	10,0	10,2	7,81
Kd3	2,3	7,0	8,0	8,7	10,2	8,5	9,7	9,5	10,0	8,20
Kd4	1,2	6,0	5,5	7,2	9,7	8,0	9,3	8,3	9,0	7,13
Kd5	0,8	6,3	7,7	9,5	10,3	9,7	10,0	10,5	10,5	8,37
Kd6	4,3	6,2	8,5	8,3	8,8	9,5	9,7	10,0	10,0	8,37

2. tabulas turpinājums.

Kd7	2,0	7,0	8,7	9,2	9,7	9,8	10,8	9,3	10,0	8,50
Kd8	1,8	6,3	6,5	6,8	8,8	8,5	9,0	9,3	8,0	7,24
Kd9	1,7	6,8	6,3	5,8	8,5	8,5	8,7	10,2	8,5	7,22
C1	2,7	6,8	7,8	8,0	8,5	9,8	10,0	10,0	10,0	8,19
C2	5,0	7,5	9,3	8,8	9,0	9,3	10,2	10,2	10,2	8,83
C3	3,0	6,0	7,3	8,0	8,5	9,8	10,2	10,0	10,2	8,11
G1	0,8	4,8	5,0	6,7	8,7	9,2	9,3	10,0	9,2	7,07
Pl	0,5	4,7	7,5	8,2	10,2	9,3	8,0	10,2	10,2	7,63
Kn1	1,2	4,3	6,3	8,3	8,2	8,3	9,8	10,0	9,5	7,33
O1	2,3	6,7	5,8	8,3	7,5	8,8	10,0	9,2	9,2	7,54
O2	2,2	7,2	6,5	8,5	8,2	9,0	9,8	9,0	9,0	7,70
ROTSTOP	2,7	5,3	9,0	9,0	9,0	10,0	10,0	10,0	10,0	8,33
<b><i>P. gigantea</i> izolātu vidējais pieaugums</b>	<b>1,9</b>	<b>6,1</b>	<b>6,8</b>	<b>7,9</b>	<b>9,4</b>	<b>9,2</b>	<b>9,9</b>	<b>9,9</b>	<b>9,8</b>	

Deviņu dienu laikā vidējais izolātu micēlija pieaugums ir nevienmērīgs: vismazākais tas ir pirmajā dienā pēc kultūras uzsēšanas (1,9 mm), vislielākais septītajā un astotajā dienā (9,9 mm). Izolātu micēlija augšanas ātruma izmaiņas atspoguļo augšanas līkne (15. attēls). Lielākais micēlija vidējais pieaugums dienā ir izolātam C2 (8,83 mm), K4 (8,56 mm) un Kd7 (8,50 mm). Preparāta „Rotstop” sastāvā esošās *P. gigantea* micēlija vidējais pieaugums dienā ir 8,33 mm. Viszemākais micēlija vidējais pieaugums dienā ir G1 izolātam 7,07 mm.

15. attēls. *P. gigantea* izolātu micēlija augšanas līkne.

Attēlā ir redzams, ka izolātu pieauguma eksponenciālā fāze ir sākot no pirmās līdz piektajai dienai. Vismazākais *P. gigantea* micēlija vidējais pieaugums ir pirmajā dienā (1,9 mm). Piektajā dienā vidējais micēlija pieaugums sasniedz 9,4 mm (15. attēls).

Iegūtie rezultāti par *P. gigantea* antagonismu pret *H. annosum* atšķiras starp dažādiem *P. gigantea* izolātiem. Rezultātu atšķirības ir vērojamas arī viena izolāta robežās pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām.

3. tabula.

*P. gigantea* izolātu antagonisms pret *H. annosum* S intersterilitātes grupu.

<i>P. gigantea</i> celma nosaukums	Demarkācijas līnijas platums, mm		Vidējā vērtība	Pārauguma zonas vidējais pieaugums mm/dienā
	Dienu skaits pēc kultūru uzsēšanas			
	10	20		
K1	8,5	23	15,75	1,00
K2	9	26	17,50	1,10
K3	9	29	19,00	1,18
K4	9	30	19,50	1,20
K5	8	25	16,50	1,03
K6	9	31	20,00	1,23
J1	8,5	35	21,75	1,30
J2	7	22	14,50	0,90
J3	10	27	18,50	1,18
J4	10	37	23,50	1,43
J5	8	31	19,50	1,18
J6	9	25	17,00	1,08
Kd1	8,5	29	18,75	1,15
Kd2	8	27	17,50	1,08
Kd3	10	35	22,50	1,38
Kd4	8	29	18,50	1,13
Kd5	7	28	17,50	1,05
Kd6	8	28	18,00	1,10
Kd7	7	22	14,50	0,90
Kd8	9	24	16,50	1,05
Kd9	5,5	19	12,25	0,75
C1	6	16	11,00	0,70
C2	9	27	18,00	1,13
C3	9	32	20,50	1,25
G1	10,5	35	22,75	1,40
Pl	8	28	18,00	1,10
Kn1	8,5	31	19,75	1,20
O1	9	23	16,00	1,03
O2	8,5	24	16,25	1,03
ROTSTOP	8,5	30	19,25	1,18

Vidējais *P. gigantea* pārauguma zonas pieaugums pret *H. annosum* S intersterilitātes grupas izolātiem variē no 0,7 mm/dienā (C1 izolāts) līdz 1,43 mm/dienā (J4 izolāts) (3. tabula). Lielāko *P. gigantea* vidējo pārauguma zonu veido izolāti J4 (1,43mm/dienā), G1 (1,40 mm/dienā), Kd3 (1,38 mm/dienā) un J1 (1,30 mm/dienā) izolāti. Preparāta „Rotstop” sastāvā esot *P. gigantea* pārauguma zonas pieaugums ir 1,18 mm/dienā.

Vidējais *P. gigantea* pārauguma zonas pieaugums pret *H. annosum* P intersterilitātes grupas izolātiem variē no 0,65 mm/dienā (C1, C2 izolāti) līdz 1,15 mm/ dienā (P1, Kd2 izolāti) (4. tabula). Analizējot antagonismu pret *H. annosum* P grupu, konstatēts, ka labākos rezultātus uzrāda *P. gigantea* izolāti Kd2 (1,15 mm/ dienā), P1 (1,15 mm/ dienā) un J1 (1,10 mm/ dienā). Preparāta „Rotstop” vidējais pārauguma zonas platums dienā pret *H. annosum* P interseterilitātes grupu ir 0,9 mm/dienā.

4. tabula.

*P. gigantea* izolātu antagonisms pret *H. annosum* P intersterilitātes grupu.

<i>P. gigantea</i> celma nosaukums	Demarkācijas līnijas platums, mm			Pārauguma zonas vidējais pieaugums mm/dienā
	Dienu skaits pēc kultūru uzsēšanas		Vidējā vērtība	
	10	20		
K1	10	17	13,5	0,93
K2	10	19	14,5	0,98
K3	9	15	12	0,83
K4	9	17	13	0,88
K5	7	17	12	0,78
K6	11	21	16	1,08
J1	12,5	19	15,75	1,10
J2	8	12,5	10,25	0,71
J3	10	18	14	0,95
J4	9,5	17	13,25	0,90
J5	9,5	18	13,75	0,93
J6	9	17	13	0,88
Kd1	9	18	13,5	0,90
Kd2	12	22	17	1,15
Kd3	9	19	14	0,93
Kd4	12	19	15,5	1,08
Kd5	10	19	14,5	0,98
Kd6	8	17	12,5	0,83
Kd7	6	16	11	0,70
Kd8	9	16	12,5	0,85



## 4. tabulas turpinājums.

Kd9	9,5	16	12,75	0,88
C1	6	14	10	0,65
C2	7	12	9,5	0,65
C3	8	13	10,5	0,73
G1	10	17	13,5	0,93
Pl	12	22	17	1,15
Kn1	7,5	12	9,75	0,68
O1	8,5	20	14,25	0,93
O2	7,5	21	14,25	0,90
ROTSTOP	8	20	14	0,90

*P. gigantea* izolātu oīdiju produkciju mērīja pēc viena un diviem ar pusi mēnešiem pēc kultūras uzsēšanas. Vidējais *P. gigantea* izolātu oīdiju skaits Gorjajeva kameras 0,0025 mm<sup>2</sup> un 1 mm<sup>2</sup> ir redzams 5. tabulā. Vislielākā oīdiju produkcija starp analizētajiem *P. gigantea* izolātiem konstatēta izolātiem J2: 13x10<sup>3</sup> sporas/mm<sup>2</sup> un I3: 8x10<sup>3</sup> sporas/mm<sup>2</sup>. Viszemākā sporu produkcija atzīmēta izolātam K1: 0,1x10<sup>3</sup> sporas/mm<sup>2</sup> un C1 izolātam - 0,1x10<sup>3</sup> sporas/mm<sup>2</sup>. Preparāta „Rotstop” sastāvā esošā *P. gigantea* sporu produkcija ir 4x10<sup>3</sup> sporas/mm<sup>2</sup> (5. tabula).

5. tabula.  
*P. gigantea* izolātu vidējā oīdiju produkcija.

<i>P. gigantea</i> celma nosaukums	Vidējais oīdiju skaits Gorjajeva kameras mazajā kvadrātā (0,0025 mm <sup>2</sup> )	Vidējais oīdiju skaits 1 mm <sup>2</sup> , x10 <sup>3</sup>
K1	1	0,1
K2	2	1
K3	3	1
K4	5	2
K5	2	1
K6	2	1
J1	10	4
J2	31	13
J3	20	8
J4	3	1
J5	4	2
J6	3	1
Kd1	5	2
Kd2	10	4

## 5. tabulas turpinājums.

Kd3	2	1
Kd4	3	1
Kd5	2	1
Kd6	12	5
Kd7	11	4
Kd8	2	1
Kd9	5	2
C1	0	0,1
C2	9	4
C3	4	2
G1	12	5
Pl	2	1
Kn1	5	2
O1	2	1
O2	5	2
ROTSTOP	10	4

Tālākajā datu analizē tika pārbaudīta korelācija starp *P. gigantea* izolātu efektivitātes rādītājiem. Korelācijas analīze parāda, ka izolātu efektivitātes rādītāji savā starpā nekorelē (6. tabula).

6. tabula  
*P. gigantea* izolātu efektivitātes rādītāju korelācijas analīzes rezultāti.

	Micēlija augšanas ātrums	Antagonisms pret <i>H. annosum</i> S intersterilitātes grupu	Antagonisms pret <i>H. annosum</i> P intersterilitātes grupu	Oīdiju produkcija
Micēlija augšanas ātrums	1	-0,23	-0,22	0,26
Antagonisms pret <i>H. annosum</i> S intersterilitātes grupu	-0,23	1	0,45	0,05
Antagonisms pret <i>H. annosum</i> P intersterilitātes grupu	-0,22	0,45	1	-0,21
Oīdiju produkcija	0,26	0,05	-0,21	1

Korelācija tika rēķināta pie  $\alpha = 0,05$ .

Korelācijas koeficienta kritiskā vērtība: 0,497 (Liepa, 1974).

Analizējot *P. gigantea* izolātu efektivitāti pēc visiem četriem parametriem – micēlija augšanas ātruma, antagonisma pret *H. annosum* S un P intersterilitātes grupām, oīdiju produkcijas, secināts, ka preparāta „Rotstop” sastāvā esošās *P. gigantea* izolāts ir starp desmit labākajiem pēc visiem efektivitātes rādītājiem. Lai izdalītu efektīvākos *P. gigantea* izolātus, tika izvēlēti pieci sēnes izolāti, kas pēc efektivitātes rādītājiem uzrādīja augstākās vērtības, kā arī „Rotstop” izolāts (7. tabula).

7. tabula  
*P. gigantea* efektīvāko izolātu satīdzinājums ar „Rotstop”.

Augšanas ātrums		Antagonisms pret H.a. S intersterilitātes grupu		Antagonisms pret H.a. P intersterilitātes grupu		Oīdiju produkcija	
<i>P. gigantea</i> izolāti	<i>P. gigantea</i> izolātu micēlija vidējais augšanas ātrums, mm/dienā	<i>P. gigantea</i> izolāti	Pārauguma zonas vidējais pieaugums, mm/dienā	<i>P. gigantea</i> izolāti	Pārauguma zonas vidējais pieaugums, mm/dienā	<i>P. gigantea</i> izolāti	Vidējais oīdiju skaits/ 1 mm <sup>2</sup> , x 10 <sup>3</sup>
C2	8,83	J4	1,43	P1	1,15	J2	13
K4	8,56	G1	1,40	Kd2	1,15	J3	8
Kd7	8,50	Kd3	1,38	J1	1,10	G1	5
J5	8,43	J1	1,30	K6	1,08	Kd6	5
J6	8,43	C3	1,25	Kd4	1,08	C2	4
<b>ROTSTOP</b>	8,33	<b>ROTSTOP</b>	1,18	<b>ROTSTOP</b>	0,98	<b>ROTSTOP</b>	4

Veicot dispersijas analīzi starp analizētajiem izolātiem, konstatēts, ka efektīvāko izolātu vidējie micēlija augšanas ātrumi būtiski neatšķiras ( $p=0,09>0,05$ ). Salīdzinot ar „Rotstop” nav būtisku atšķirību, novērtējot arī to antagonismu gan pret *H. annosum* S, gan P intersterilitātes grupu. S intersterilitātes grupa:  $p=0,35$  un P intersterilitātes grupa  $p=0,37$ . Toties pastāv būtiskas atšķirības starp izolātu sporu produkcijas rādītājiem ( $p<0,001$ ). Vislielāko sporu produkciju uzrādīja izolāti J3 un J2 (attiecīgi  $8 \times 10^3$  un  $13 \times 10^3$  oīdijas/mm<sup>2</sup>) (8. tabula).

8. tabula  
 Dispersijas analīzes tabula - izolātu efektivitātes rādītāju novērtējums.

<b>Statistiskie rādītāji</b>					
Izolātu efektivitātes rādītāji	SS (kvadrātu summa)	df (brīvības pakāpju skaits)	MS (vidējais kvadrāts)	F(Fkritērijs)	p (p-vērtība)
Vidējais micēlija augšanas ātrums	0,979	5	0,196	2,478	0,092
Antagonisms pret H.a. S intersterilitātes grupu	0,07	5	0,013	1,429	0,353
Antagonisms pret H.a. P intersterilitātes grupu	0,074	5	0,015	1,369	0,369
Oīdiju produkcija	$36 \cdot 10^7$	5	$7 \cdot 10^7$	157,223	$2 \cdot 10^{-17}$

Novērtējot efektivitātes rādītājus, var secināt, ka Latvijas izcelsmes *P. gigantea* izolāti: J1, K4, J3, J5, Kd2 laboratorijas apstākļos ir tik pat efektīvi kā „Rotstop” izolāts. Attiecībā uz oīdiju produkciju, divi Latvijas izolāti: J2 un J3 uzrāda būtiski augstākas vērtības, kas ir ļoti svarīgi no bioloģisko preparātu ražošanas aspekta.

Turpmākajā darbā laboratorijā ievāktu *Phlebiopsis gigantea* izolātu J1, K4, J3, J5 un Kd2 efektivitāte tiks pārbaudīta lauka apstākļos.

## SECINĀJUMI

1. No 29 analizētajiem Latvijas *Phlebiopsis gigantea* izolātiem, astoņi izolāti (C2, K4, Kd7, J5, J6, J2, Kd6, K5) uzrādīja lielāku micēlija augšanas ātrumu: 8,37 - 8,83 mm/dienā, salīdzinot ar preparāta „Rotstop” sastāvā esošo izolātu: 8,33mm/dienā.

2. Iegūtie rezultāti liecina, ka Latvijas izolāti J4, G1, Kd3 ir efektīvāki pret *Heterobasidion annosum* S intersterilitātes grupu (pārauguma zonas vidējais pieaugums: 1,38 – 1,43 mm/dienā), salīdzinot ar preparāta „Rotstop” sastāvā esošo izolātu: 1,25 mm/dienā.

3. Novērtējot antagonismu pret *Heterobasidion annosum* P intersterilitātes grupu, secināts, ka Latvijas izolāti Kd2, Pl, J1 ir efektīvāki (pārauguma zonas vidējais pieaugums: 1,10 – 1,15 mm/dienā) par preparāta „Rotstop” sastāvā esošo izolātu: 0,98 mm/dienā.

4. Konstatēts, ka Latvijas *P. gigantea* izolāti: J2, J3, Kd6, G1 uzrāda būtiski augstāku oīdiju produkciju ( $5 \times 10^3 \dots 13 \times 10^3$  oīdijas/ $1\text{mm}^2$ ), salīdzinājumā ar „Rotstop” izolātu ( $4 \times 10^3$  oīdijas/ $1\text{mm}^2$ ).

## LITERATŪRA

1. Berglund M., Rönnerberg J., Holmer L., Stenlid J. 2005. Comparison of five strains of *Phlebiopsis gigantea* and two *Trichoderma* formulations for treatment against natural *Heterobasidion* spore infections on Norway spruce stumps. – Scandinavian Journal of Forest research, 20: 12-17.
2. Breitenbach J., Kränzlin F. 1986. Fungi of Switzerland. Vol. 2. Switzerland: 314 pp.
3. Cram M. 2003. Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America. [http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/p\\_gigantea.html](http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/p_gigantea.html)
4. Deacon J.W. 1998. Profiles of Microorganisms - Biological Control: *Bacillus popilliae*. <http://helios.bto.ed.ac.uk/bto/microbes/control.html>
5. Eglītis M., Gailītis L. 1930. Mežu kaites un kaitēkļi. Rīga: Mežu departamenta izd., 133 lpp.
6. Eriksson J., Hjortstam K. and Ryvarden L. 1981. The Corticiaceae of North Europe. Vol.6. Fungiflora, Oslo: 1051-1276.
7. Fiodorov N. 1998. Eastern Europe and Baltic Countries. In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 387- 404.
8. Gaitnieks T., Sica L., Indriksons A., Grantina L. 2004. Root rot detection in Norway spruce stands using pulse electronic tool. In: Proceedings of 11th IUFRO Conference on Root and Butt Rots, august 16-22, 2004. Poland: 379-385.
9. Greig B. J. W. 1998. Field Recognition and Diagnosis of *Heterobasidion annosum*. In: Woodward, S., J. Stenlid, R. Karjalainen, A. Hüttermann (ed.) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 35 - 41.
10. Hodges C. S. 1969. Modes of infection and spread of *Fomes annosus*. – Annual Review of Phytopathology, 7: 247-266.
11. 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.
12. Käärrik A. and Rennerfelt E. 1957. Investigations on the fungal flora of spruce and pine stumps. – Statens Skogsforskningsinstitut, 47 (7): 15.
13. Kaarna-Vuorinen L. 2000. Rot frequency and the ensuring economic losses, and the causes of butt-rot in final fellings of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) stands in south-eastern Finland. University of Helsinki, Dept. of Forest Economics. Publications (8), 82 pp.
14. Korhonen K., Piri T. 1993. The main hosts and distribution of the 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.
15. 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.
  16. Laflamme G. 1994. Annosus root rot caused by *Heterobasidion annosum*. Quebec Region, Information Leaflet LFC 27, Canadian Forest Service, Sainte-Foy, Quebec, 12 pp.
  17. Liepa I. 1974. „Biometrija”, Rīga: Zvaigzne, 336 lpp.
  18. Lipponen K. 1991. Juurikäävän kantotartunta ja sen torjunta enshiharvennusemetsiköissä (Stump infection by *Heterobasidion annosum* and its control in stands at the first thinning stage). – Folia Forestali, 770, 12 pp.
  19. Mugnai L., Capretti P. 1989. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.: some morphological differences in the basidiocarps. – Micologia Italiana, 1989 (3): 87-94.
  20. Pettersson M. and Rönnerberg J. 2001. Growth of inoculated *Heterobasidion annosum* in roots of *Picea abies* – effects of thinning and stump treatment with *Phlebiopsis gigantea*. In: Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 155 – 159.
  21. Rishbeth J. 1975. Stump inoculation: a biological control of *Fomes annosus*. In: Bruehl G.W. (ed.), Biology and Control of Soilborne Pathogens. American Phytopathological Society, Minnesota, USA: 158-162.
  22. Sierota Z. H. 2001. Costs and effects of biological control of root rot in Poland. In: Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 194 – 196.
  23. Tamminen P. 1985. Butt rot in Norway spruce in southern Finland. Coommun. – Instituti Forestalis Fenniae, 127: 1-52.
  24. Thor M. and Stenlid J. 2005. *Heterobasidion annosum* infection of *Picea abies* following manual or mechanized stump treatment. – Scandinavian Journal of Forest Research, 20: 154-164.
  25. Thor M. 1997. Stump treatment against *Heterobasidion annosum* - techniques and biological effect in practical forestry. Licentiate's thesis. Department of Forest Mycology and Pathology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden: 21 pp.
  26. Thor M. 2001. Operational stump treatment against *Heterobasidion annosum* in European forestry – current situation. In: Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 170-175.

27. Vainio E., 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: 285-295.
28. Varese G. C., Gonthier P., Nicolotti G. 2003. Impact of biological and chemical stump treatments against *Heterobasidion annosum* on non-target microorganisms. In: Laflamme G, Bérubé JA, Bussièrès G (eds.) *Root and butt rots of forest trees: Proceedings of the IUFRO Working Party 7.02.01*, Quebec, Canada, September 16-22, 2001, Laurentian Forestry Centre, Quebec: 145-154.
29. Vasilauskas R., Juska E., Vasilauskas A., Stenlid J. 2002. Community of Aphyllophorales and root rot in stumps of *Picea abies* on clear-felled forest sites in Lithuania. – *Scandinavian Journal of Forest Research*, 17: 398-407.
30. Webber J., Thorpe K. 2001. Potential for biological control of *Heterobasidion annosum* in the UK using Rotstop. In: *Proceedings of 10th IUFRO Conference on Root and Butt Rots*. Quebec City. September 16-22, 2001. Canada: 221 – 225.
31. Westlund A., Nohrstedt H.-Ö. 2000. Effects of stump-treatment substances for root-rot control on some ground-vegetation species and soil properties in a *Picea abies* forest in Sweden. – *Scandinavian Journal of Forest Research*, 15: 550-560.
32. Woodward S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A. 1998. *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK: 589 pp.
33. Ройтберг Г. Е., Струтынский А. В. 1999. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов. Москва, Изд. Бином: 622 стр.
34. Шевченко А., Цилюрик М. 1986. Лесная фитопатология. Киев, Вища шк. Головн. Изд., 334 стр.