

LATVIJAS VALSTS MEŽZINĀTNES INSTITŪTS “SILAVA”  
LATVIA STATE FOREST RESEARCH INSTITUTE “SILAVA”

LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE  
LATVIA UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES AND TECHNOLOGIES

*Mg.silv. INDULIS BRAUNERS*

***HETEROBASIDION IZRAISĪTĀ SAKŅU TRUPE MAZA  
DIAMETRA SKUJKOKU CĒLMOS***

***HETEROBASIDION ROOT ROT IN SMALL DIAMETER  
CONIFER STUMPS***

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

Dr.silv. zinātniskā grāda iegūšanai

*SUMMARY OF ACADEMIC DISSERTATION  
for acquiring the Doctor's degree of Forest sciences*

Salaspils, Jelgava 2018

Promocijas darba zinātniskie vadītāji / *Supervisors*:  
*Dr.silv.* Tālis GAITNIEKS, *Dr.* Rimvydas VASAITIS

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Valsts mežzinātnes institūtā “Silava”, doktorantūras studiju Latvijas Lauksaimniecības universitātes Meža fakultātē laika periodā no 2013. līdz 2018. gadam, LVMI Silava un a/s “Latvijas valsts meži” 2011. gada 11. oktobra memoranda “Par sadarbību zinātniskajā izpētē” īstenotā pētījuma „Sakņu trupes izplatību ierobežojošo faktoru izpēte”, ERAF līdzfinansētā pētījuma “Metodes un tehnoloģijas meža kapitālvērtības palielināšanai”, Latvijas Zinātnes padomes grantu “*Heterobasidion* spp. izraisītās sakņu trupes ierobežošana, izmantojot *Phlebiopsis gigantea* – izolātu bioloģiskās aizsardzības efektivitāti ietekmējošo faktoru izvērtējums” un ”Lielās pergamentsēnes nozīme sakņu piepes micēlija izplatības ierobežošanā egļu un priežu celmos”, kā arī Valsts pētījumu programmas pētījuma ”Meža un zemes dzīļu resursu izpēte, ilgtspējīga izmantošana – jauni produkti un tehnoloģijas (ResProd) – “Vienvecuma egļu mežu audzēšanas potenciāls auglīgajās meža ekosistēmās”” ietvaros. / *The Doctoral thesis is designed at the Latvian State Forest Research Institute „Silava”, PhD studies in Latvia University of Life Sciences and Technologies, Forest Faculty in period from 2013 to 2018 and has been developed within the Joint Stock Company “Latvijas valsts meži” project “Research of limiting factors of the spread of root rot”, ERAF project “Methods and technologies for increasing the value of forest capital”, the Latvian Science Council grant projects “Restrictions of *Heterobasidion* spp. root rot infection with *Phlebiopsis gigantea* - evaluation of factors affecting the biological protection of isolates” and “Importance of *Phlebiopsis gigantea* in controlling the prevalence of *Heterobasidion* spp. spawn in spruce and pine stumps”, as well as in National research program project “Exploration of the resources of the forest and subterranean depths, sustainable use - new products and technologies (ResProd) – “The potential of growing one age spruce forests in fertile forest ecosystems””*

Oficiālie recenzenti / *Official reviewers*:

- *Dr.silv.* **Olga MIEŽĪTE**, Latvijas Lauksaimniecības universitātes profesore, Latvijas Zinātnes padomes eksperte. / *Professor of Latvia University of Life Sciences and Technologies, Expert of Latvian Council of Science, Latvia;*
- *Dr.biol.* **Guntis BRŪMELIS**, Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes profesors, LZP eksperts. / *Professor of Biology Faculty of the University of Latvia. Expert of Latvian Council of Science, Latvia;*
- *Dr.* **Vaidotas LYGIS**, Lietuvas Dabas izpētes centra, Botānikas institūta vadošais pētnieks. / *Senior researcher of the Nature Research Centre, Institute of Botany, Lithuania.*

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Latvijas Lauksaimniecības universitātes Mežzinātnes un Materiālzinātnes nozaru promocijas padomes atklātā sēdē **2018. gada 20. decembrī plkst. 10:00**, Salaspilī, Rīgas ielā 111, LVMI „Silava” sēžu zālē. *The public defence of doctoral thesis in open session of the Promotion Council of Forest Sciences and Material Sciences of Latvia University of Life Sciences and Technologies will be held on December 20, 2018 at 10:00 a.m. in Salaspils, Rīga Street 111, Latvian State Forest Research Institute „Silava” in conference room.*

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā Jelgavā Lielā ielā 2 un internetā [http://llufb.llu.lv/promoc\\_darbi.html](http://llufb.llu.lv/promoc_darbi.html). Atsauksmes sūtīt promocijas padomes sekretārei Mg.silv. Sarmītei Bernīkovai - Bondarei uz Dobeles iela 41, Jelgava, LV-3001, Latvija vai [koka@llu.lv](mailto:koka@llu.lv). / *The thesis are available at the Fundamental Library of Latvia University of Life Sciences and Technologies: Lielā Street 2, Jelgava and [http://llufb.llu.lv/promoc\\_darbi.html](http://llufb.llu.lv/promoc_darbi.html). References are welcome to be sent to Mg.silv. Sarmītei Bernīkovai - Bondarei the secretary of the Promotion Council: Dobeles iela 41, Jelgava, LV-3001, Latvia or email [koka@llu.lv](mailto:koka@llu.lv).*

## SATURS / CONTENTS

1.	DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS .....	6
1.1	Tēmas aktualitāte .....	6
1.2	Promocijas darba mērķis .....	7
1.3	Promocijas darba pētnieciskie uzdevumi: .....	7
1.4	Promocijas darba tēzes .....	7
1.5	Zinātniskā novitāte .....	7
1.6	Praktiskā nozīme .....	8
1.7	Promocijas darba struktūra un apjoms .....	8
1.8	Zinātniskā darba aprobācija .....	9
2.	MATERIĀLS UN METODES .....	11
2.1	Empīriskā materiāla raksturojums .....	11
2.2	Lauku darbu metodika .....	12
2.3	Kamerālo darbu metodika .....	13
2.4	Matemātiskās metodes .....	14
3.	REZULTĀTI UN DISKUSIJA .....	14
3.1	Parastās egles un parastās priedes mazo dimensiju celmu uzņēmība pret <i>Heterobasidion</i> spp. bazīdijsporu infekciju .....	14
3.2	<i>P. gigantea</i> sastopamība mazo dimensiju skujkoku celmos un tās nozīme <i>Heterobasidion</i> spp. ierobežošanā .....	18
3.3	Kopšanas cirtes sezonas ietekme uz mazo dimensiju celmu inficēšanos ar <i>Heterobasidion</i> spp. ....	25
3.4	<i>Heterobasidion</i> spp. micēlija attīstības dinamika mazo dimensiju parastās egles un parastās priedes celmos .....	28
	SECINĀJUMI .....	32
	PATEICĪBAS .....	33
1.	GENERAL DESCRIPTION OF THE PAPER .....	34
1.1.	Importance of the work .....	34
1.2.	The objective of the promotion paper .....	35
1.3.	Research tasks of the promotion paper .....	35

1.4. The thesis of the promotion paper.....	35
1.5. Scientific novelty .....	36
1.6. Practical impact.....	36
1.7. Structure and volume of the promotion paper .....	36
1.8. Approbation of research results .....	37
<b>2. MATERIAL AND METHODS.....</b>	<b>37</b>
2.1. Description of empirical material.....	37
2.2. Field work .....	38
2.3. Laboratory analyses .....	38
2.4. Statistical analysis .....	39
<b>3. RESULTS AND DISCUSSION .....</b>	<b>40</b>
3.1. Susceptibility of small-dimension spruce and pine stumps to infection by <i>Heterobasidion spp.</i> basidiospores.....	40
3.2. The distribution of <i>P. gigantea</i> in small-dimension conifer tree stumps and their impact on restricting <i>Heterobasidion spp.</i> ....	42
3.3. The pre-commercial thinning seasonal impact on small-dimension stump infection with <i>Heterobasidion spp.</i> .....	45
3.4. The dynamics of <i>Heterobasidion spp.</i> mycelium development within small-dimension spruce and pine stumps.....	48
<b>CONCLUSIONS .....</b>	<b>51</b>

# 1. DARBA VISPĀRĪGS RAKSTUROJUMS

## 1.1 Tēmas aktualitāte

*Heterobasidion* spp. izraisītā sakņu trupe ir ekonomiski visnozīmīgākā skujkoku slimība ziemeļu mērenajos reģionos. Sakņu piepes sugu komplekss *Heterobasidion annosum* sensu lato (s.l.) un tās radītie bojājumi pazīstami jau kopš pagājušā gadsimta, kad to gandrīz vienlaicīgi identificējuši un aprakstījuši Hartigs, Frīss un Brefelds (Stenlid, 1986). Šīs koksni noārdošās bazidiomicētes sastopamas gandrīz visos apsaimniekotajos mežos visā ziemeļu puslodē (Niemelä & Korhonen, 1998). Eiropā sastopamas trīs *Heterobasidion* spp. sugas: *H. annosum* sensu stricto (s.s.), *H. parviporum* Niemelä & Korhonen, *H. abietinum* Niemelä & Korhonen (Korhonen & Holdenrieder, 2005). Katra no sugām aizņem noteiktu Eiropas kontinenta daļu, kas ir uz dienvidiem no 64° ziemeļu platuma, atspoguļojot saimniekauga izplatības areālu (Capretti *et al.*, 1990, citēts pēc Asiegbu *et al.*, 2005; Korhonen & Stenlid, 1998b). *Heterobasidion annosum* s. l. kompleksa sēnes konstatētas gandrīz 150 - 200 saimniekaugu sugām, galvenokārt skujkokiem. Eiropas ziemeļu daļā tās galvenie saimniekaugi ir skujkoki, visbiežāk tās bojājumi tiek konstatēti parastajai priedei (*Pinus sylvestris* L.) un parastajai eglei (*Picea abies* (L.) Karst). Latvijā tupējušo egļu īpatsvars egles audzēs vidēji ir 21.8 %, bet atsevišķās audzēs šis rādītājs sasniedz pat 83 % (Arhipova *et al.*, 2011)

Noskaidrots, ka *Heterobasidion* spp. nav vienīgais skujkoku sakņu trapes izraisītājs. Pētījumos Somijā noskaidrots, ka egles audzēs 80 % gadījumu kā primārais trapes izraisītājs ir sakņu piepes sugas, aptuveni 10 % celmene *Armillaria* spp. un 5 % asinssarkanā sīkpiepe *Stereum sanguinolentum* (Korhonen & Piri, 2003).

Pamatā ar sakņu piepi iespējams inficēties divējādi: ar bazīdijsporām, ko izplata vējš, un sakņu kontaktu ceļā, izplatoties sēnes micēlijam (Anselmi & Nicolatti, 1997). Sakņu piepei raksturīga gan dzimumvairošanās (bazīdijsporas), gan arī bezdzimumvairošanās ar konīdijsporām (Redfern & Stenlid, 1998).

*Heterobasidion* spp. sporu izplatību un attīstību ietekmē dažādu apstākļu kopums. Liela nozīme ir koku sugai, celma diametram, koka vecumam, sezonai, kurā veikta koku zāģēšana (Morrison & Johnson, 1999), gaisa temperatūrai, gaisa mitrumam, vēja apstākļiem, veģetācijas blīvumam, pašu sporu dīgtspējai, citu konkurentu organismu klātbūtnei koksnē, auglķermeņu lielumam un inficējamā objekta attālumam no sakņu piepes auglķermeņa (Redfern & Stenlid, 1998).

Noskaidrots, ka cilvēka saimnieciskā darbība mežā, cērtot kokus veģetācijas perioda laikā, ir galvenais iemesls, kas veicina primāro izplatīšanos ar sporām (Kallio, 1970). Ar sporām visbiežāk infekcija tiek ienesta slimības iepriekš neskartās mežaudzēs, inficējot svaigi cirsto koku celmus. Infekcijas pakāpe ir atkarīga no citu koksni kolonizējošo sēņu konkurences (Berglund, 2005a; Redfern & Stenlid, 1998).

Līdz šim uzskatīts, ka sakņu piepe nespēj inficēt maza diametra (līdz 12 cm) celmus un ilgstoši saglabāt tanī dzīvotspēju (Dimitri *et al.*, 1971; Vollbrecht, Gemmel & Pettersson, 1995b; Bendz-Hellgren & Stenlid, 1998). Pasaulē tomēr ir veikti

atsevišķi pētījumi, kuros pierādīts pretējais (Rishbeth, 1951; Morrison, 1989; Morrison & Johnson, 1999; Gunulf *et al.*, 2009; Oliva *et al.*, 2011). Sakņu piepe nav vienīgais mazo dimensiju celmu inficētājs, tos savai attīstībai izmanto arī sakņu piepes antagonists - lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich, tādā veidā pasargājot celmu koksni no inficēšanās ar sakņu piepi (Risbeth, 1959). Jaunākos pētījumos secināts, ka Latvijā trupes izraisītais koksnes ekonomiskās vērtības pazeminājums egles audzēs galvenās cirtes aprites laikā ir 800 – 4790 eiro uz ha (Gaitnieks *et al.*, 2008). Šis fakts vēl jo vairāk liek meklēt iespējas, samazināt koku inficēšanās riskus kokaudzes attīstības sākumposmā.

## 1.2 Promocijas darba mērķis

Promocijas darba mērķis - noskaidrot parastās egles *Picea abies* (L.) H.Karst. un parastās priedes *Pinus sylvestris* L. mazo dimensiju celmu nozīmi sakņu piepes *Heterobasidion* spp. izplatībā pēc veiktas sastāva kopšanas cirtes, kā arī izvērtēt lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* dabiskās infekcijas ietekmi uz *Heterobasidion* spp. attīstību.

## 1.3 Promocijas darba pētnieciskie uzdevumi:

1. izvērtēt parastās egles *Picea abies* (L.) H.Karst. un parastās priedes *Pinus sylvestris* L. mazo dimensiju celmu (diametrs 2 – 14 cm) uzņēmību pret *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekciju,
2. analizēt *Phlebiopsis gigantea* sastopamību mazo dimensiju skujkoku celmos un *P. gigantea* nozīmi *Heterobasidion* spp. ierobežošanā,
3. analizēt kopšanas cirtes sezonas ietekmi uz mazo dimensiju celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* spp.,
4. noskaidrot *Heterobasidion* spp. micēlija attīstības dinamiku mazo dimensiju parastās egles *Picea abies* (L.) H.Karst. un parastās priedes *Pinus sylvestris* L. celmos.

## 1.4 Promocijas darba tēzes

1. Sakņu piepe inficē mazo dimensiju skujkoku celmus pēc veiktas kopšanas cirtes.
2. Lielās pergamentsēnes dabiskā infekcija samazina mazo dimensiju celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* spp..

## 1.5 Zinātniskā novitāte

Pirmais pētījums Baltijas valstīs, kur analizēta parastās egles mazo dimensiju celmu inficēšanās ar *Heterobasidion* spp. pēc veiktas kopšanas cirtes.

Pirmais pētījums pasaulē, kur:

- pētīta parastās priedes celmu inficētība, vērtējot patogēna aizņemto laukumu;
- parastās priedes un parastās egles mazo dimensiju celmos vienlaicīgi analizēta *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* infekcijas attīstības dinamika.

## 1.6 Praktiskā nozīme

Promocijas darbā sagatavotās rekomendācijas ietvertas AS “Latvijas Valsts meži” meža atjaunošanas un kopšanas vadlīnijās, nosakot, sakņu trupes jaunu infekcijas centru veidošanās ierobežošanai egles audzēs, kas augstākas par 2 m (celma diametrs lielāks par 4 cm), to kopšana plānojama gada pirmajā un/vai ceturtajā ceturksnī. Priedes celmu aizsardzība jaunaudzēs pret *Heterobasidion* spp. infekciju nav nepieciešama, jo tā celmos strauji samazinās pirmajos gados pēc veiktas jaunaudžu kopšanas cirtes, kā arī priedes celmu aizsardzību veicina dabīgā *Phlebiopsis gigantea* invāzija.

## 1.7 Promocijas darba struktūra un apjoms

Promocijas darba pirmajā nodaļā apkopotas līdzšinējo pētījumu atziņas par sakņu piepes sugu kompleksa *Heterobasidion annosum* sensu lato (s.l.) radītajiem bojājumiem, to ietekmējošiem faktoriem, kā arī ierobežošanas iespējām. Pirmajā apakšnodaļā aprakstīta *Heterobasidion* spp. sugu ģeogrāfiskā izplatība un saimniekorganismi. Otrajā apakšnodaļā raksturota *Heterobasidion* spp. bioloģija, aprakstot sēnes primārās un sekundārās izplatīšanās iespējas, apkopota informācija par *Heterobasidion* spp. izplatīšanos ar bazīdijsporām un konīdijsporām, kā arī to loma infekcijas attīstībā. Aplūkoti sporulāciju un primāro infekciju ietekmējošie faktori, kā arī sporulācijas sezonālitate un auglķermeņu sastopamība. Šajā apakšnodaļā apkopota arī informācija par sporu izplatīšanās attālumu un auglķermeņu sporulācijas produktivitāti, kā arī atziņas par sekundāro inficēšanos sakņu kontaktu ceļā un tās būtisko ietekmi uz audzē paliekošajiem kokiem. Apkopota informācija par celmu inficētības veicinošiem faktoriem un līdz šim veikto pētījumu atziņas par maza diametra celmu nozīmi sakņu trupes izplatībā. Apašnodaļas noslēgumā aprakstītas inficētas audzes pazīmes - egles un priedes atšķirīgā uzņēmība pret sakņu piepes infekciju. Trešajā apakšnodaļā apkopota informācija par *Heterobasidion* spp. radītajiem ekonomiskajiem zaudējumiem. Ceturtajā apakšnodaļā raksturotas *Heterobasidion* spp. izplatības ierobežošanas iespējas, novēršot vai mazinot primārās un sekundārās inficēšanās riskus. Savukārt piektajā apakšnodaļā aprakstīta *Heterobasidion* spp. ietekme uz vidi. Otrajā darba nodaļā aprakstīts pētījuma materiāls un metodika. Trešajā nodaļā analizēti pētījuma rezultāti. Pirmajā apakšnodaļā, novērtēta egles un priedes mazo dimensiju celmu uzņēmība pret *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekciju. Otrajā apakšnodaļā raksturota *P. gigantea* sastopamība mazo dimensiju skujkoku celmos un tās nozīme *Heterobasidion* spp. ierobežošanā. Savukārt trešajā apakšnodaļā analizēta gada sezonas ietekme uz mazo dimensiju celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* spp. pēc veiktas kopšanas cirtes. Noslēdzotajā ceturtajā apakšnodaļā raksturota *Heterobasidion* spp. micēlija attīstības dinamika mazo dimensiju egles un priedes celmos.

Promocijas darbam ir 70 lappuses, informācija apkopota 9 tabulās un vizualizēta 17 attēlos, izmantoti 156 literatūras avoti.



## 1.8 Zinātniskā darba aprobācija

Pētījuma rezultāti apkopoti 4 publikācijās:

1. Brauners, I., Bruna, L., Gaitnieks, T. (2014) *Testing the 'rotstop' biological preparation for controlling Heterobasidion root rot in Latvia*. Proceeding of Annual 20<sup>th</sup> International Scientific Conference "Research for Rural Development 2014", Jelgava, 21 – 23 May 2014, Latvia, Latvia University of Agriculture. Vol. 2, p. 97 – 102, [https://www2.llu.lv/research\\_conf/Proceedings/20th\\_volume2.pdf](https://www2.llu.lv/research_conf/Proceedings/20th_volume2.pdf).
2. Gaitnieks, T., Brauners, I., Kenigšvalde, K., Zaļuma, A., Brūna, L., Jansons, J., Burņeviča, N., Lazdiņš, A., Vasaitis, R. (2018) *Infection of pre-commercially cut stumps of Picea abies and Pinus sylvestris by Heterobasidion spp. - a comparative study*. Silva Fennica, 51(1):1-7, <https://doi.org/10.14214/sf.9911>.
3. Kenigšvalde, K., Brauners, I., Zaļuma, A., Jansons, J., Gaitnieks, T. (2017) *Biological protection of conifers against Heterobasidion infection – interaction between root-rot fungus and Phlebiopsis gigantea*. Proceedings 23rd Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2017", Jelgava 17 - 19 May 2017, Latvia, Latvia University of Agriculture. Vol. 1, p. 69 – 75, [http://www2.llu.lv/research\\_conf/proceedings2017\\_vol\\_1/docs/LatviaResRuralDev\\_23rd\\_2017\\_vol1-69-75.pdf](http://www2.llu.lv/research_conf/proceedings2017_vol_1/docs/LatviaResRuralDev_23rd_2017_vol1-69-75.pdf), DOI:10.22616/rrd.23.2017.010.
4. Kenigšvalde, K., Brauners, I., Korhonen, K., Zaļuma, A., Mihailova, A., Gaitnieks, T., (2015) *Evaluation of the biological control agent Rotstop in controlling the infection of spruce and pine stumps by Heterobasidion in Latvia*. Scandinavian Journal of Forest Research, 31(3):254-261, <http://dx.doi.org/10.1080/02827581.2015.1085081>.

Pētījuma rezultāti prezentēti 11 konferencēs 14 referātos:

1. 29.01.2014. Latvijas Universitāte, Rīga, Latvija. Referāts: Brauners, I., Kenigšvalde, K., Zaļuma, A., Kenigšvalde, A., Bezdelīga, J., Gaitnieks, T. (2014) Bioloģiskā preparāta "Rotstop" sastopamība komerciāli apstrādātos skujkoku celmos. *Latvijas Universitātes 72. zinātniskā konference*.
2. 10.04.2014. Somijas meža zinātņu institūts "Metla", Vantaa, Somija. Referāts: Kenigšvalde, K., Brauners, I., Lazdiņš, A., Korhonen, K., Gaitnieks, T. (2014) The importance of natural *Phlebiopsis gigantea* in protection of conifer stumps against *Heterobasidion*. In: *Seminar on Forest Pathology*.
3. 04.02.2015. Latvijas Universitāte, Rīga, Latvija. Referāts: Ēberliņa, A., Brauners, I., Kenigšvalde, K., Nitiša, D., Gaitnieks, T. (2015) *Heterobasidion* spp. attīstība maza diametra skuju koku celmos. *Latvijas Universitātes 73. konference*.
4. 16.-19.03.2015. Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Jelgava, Latvija. Referāti:

- Gaitnieks, T., Kenigšvalde, K., Brauners, I., Gžibovska, Z., Sisenis, L., Korhonen, K.. (2015). Saimnieciski nozīmīgāko skuju koku sugu celmu sezonālā inficēšana ar lielo pergamentsēni *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jūl. un sakņu piepi *Heterobasidion annosum* s.l.. *Zinātniski praktiskā konference: Zinātne un prakse nozares attīstībai*.
- Brauners, I., Kenigšvalde, K., Brūna, L., Zaļuma, A., Ēberliņa, A., Gaitnieks, T. (2015). Sakņu piepes *Heterobasidion* spp. primārā un sekundārā izplatība. *Zinātniski praktiskā konference: Zinātne un prakse nozares attīstībai*.
5. 16.-18.06.2015. Latvijas Universitāte, Rīga, Latvija. Referāts:  
Brauners, I., Kenigšvalde, K., Korhonen, K., Vasaitis, R., Gaitnieks, T. (2015) Efficacy of Biological Control Agent Rotstop in Controlling *Heterobasidion* infection in Spruce and Pine Stumps in Latvia. In: *25th Congress of the Nordic Association of Agricultural Scientists: Nordic View to Sustainable Rural Development*. Congress Book of Abstracts, 16 to 18 June, Riga, Latvia. Latvian National Association of NJF, p. 403.
6. 12.-18.10.2015. Suleyman Demirel universitāte un Bursa Tehniskā universitāte, Antalya, Fethiye, Bodrum, Turcija. Referāti:  
Kenigšvalde, K., Zaļuma, A., Brauners, I., Eberlina, A., Gaitnieks, T., Vasaitis, R. (2015) Natural infection of cut small *Picea abies* and *Pinus sylvestris* stumps by *Heterobasidion* and *Phlebiopsis gigantea*: case study in Latvia. In: *14th International Conference of IUFRO, Working Party 7.02.01: Root and Butt Rot of Forest Trees*. International Conference Book of Abstracts, 12 to 18 October, Antalya, Fethiye, Bodrum, Turkey. Suleyman Demirel University and Bursa Technical University, p. 55.  
Burnevica, N., Bruna, L., Brauners, I., Lazdins, A., Gaitnieks, T., Vasaitis, R. (2015) Stump removal trials in Latvia: effects on root rot: case study in Latvia. In: *14th International Conference of IUFRO, Working Party 7.02.01: Root and Butt Rot of Forest Trees*. International Conference Book of Abstracts, 12 to 18 October, Antalya, Fethiye, Bodrum, Turkey. Suleyman Demirel University and Bursa Technical University, p. 16.  
Kenigšvalde, K., Brauners, I., Eberlina, A., Bruna, L., Korhonen, K., Gaitnieks, T. (2015) Conifer stump infection by *Heterobasidion* spp. and *Phlebiopsis gigantea* in different seasons in Latvia: case study in Latvia. In: *14th International Conference of IUFRO, Working Party 7.02.01: Root and Butt Rot of Forest Trees*. International Conference Book of Abstracts, 12 to 18 October, Antalya, Fethiye, Bodrum, Turkey. Suleyman Demirel University and Bursa Technical University, p. 50.
7. 19.-24.10.2015. Baltkrievijas valsts tehnoloģiju universitāte, Minska, Baltkrievija. Referāts:  
Gaitnieks, T., Brauners, I., Zaļuma, A., Brūna, L., Kenigšvalde, K., Burņeviča, N., Gruduls, K., Korhonen, K., Vasaitis, R. (2015). A review of studies on *Heterobasidion* and its control in Latvia: case study in Latvia. In: *9<sup>th</sup> International*

- Conference: Problems of Forest Phytopathology and Mycology*. International Conference Book of Abstracts, 19 to 24 October, Minsk, Belarus. Belarus State Technological University, p. 65.
8. 15.03.2016. Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Jelgava, Latvija. Referāts: Ēberliņa, A., Nikolajeva, V., Brauners, I., Kenigšvalde, K. (2016) Lielās pergamentsēnes *Phlebiopsis gigantea* attīstība maza diametra skuju koku celmos. *Zinātniski praktiskā konference: Zinātne un prakse nozares attīstībai*.
  9. 08.-09.12.2016. Daugavpils Universitāte, Daugavpils, Latvija. Referāts: Zaļuma, A., Brūna, L., Stivriņa, B., Burņeviča, N., Kenigšvalde, K., Kenigšvalde, A., Brauners, I., Gaitnieks, T. (2016) Development of rot-causing fungi on the spruce logging debris - risks related to forest management. International scientific conference "Environment and sustainable forest management in the Baltics – problems and solutions".
  10. 01.02.2017. Latvijas Universitāte, Rīga, Latvija. Referāts: Kenigšvalde, K., Kenigšvalde, A., Brauners, I., Zaļuma, A., Brūna, L., Gžibovska, Z., Valdēna, A., Gaitnieks, T. (2017) Lielās pergamentsēnes auglķermeņu attīstības dinamika uz lielu dimensiju skuju koku mežizstrādes atliekām. *Latvijas Universitātes 75. konference*.
  11. 16.03.2017. Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Jelgava, Latvija. Referāts: Kenigšvalde, K., Brauners, I., Zaļuma, A., Jansons, J., Gaitnieks, T. (2017) Skuju koku bioloģiskā aizsardzība – *Heterobasidion* spp. un *Phlebiopsis gigantea* mijiedarbība koksnē. *Starptautiskā zinātniski praktiskā konference: Zinātne un prakse nozares attīstībai*. 12.lpp.

## 2. MATERIĀLS UN METODES

### 2.1 Empīriskā materiāla raksturojums

Pētījumam izvēlētais audzes atrodas AS "Latvijas Valsts meži" (LVM) Vidusdaugavas reģiona Kokneses iecirknī, Ziemeļlatgales reģiona Madonas iecirknī un Meža pētīšanas stacijas Kalsnavas mežu novadā.

Veicot *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* sastopamības novērtējumu skuju koku celmos, Ziemeļlatgales reģiona Madonas iecirknī un Meža pētīšanas stacijas Kalsnavas mežu novadā laika posmā no 2006. līdz 2013. gadam skujkoku audzēs ierīkotas 48 celmu koksnes paraugu ņemšanas vietas. Kopā nozāģēti 4530 koki (2309 egles un 2221 priede).

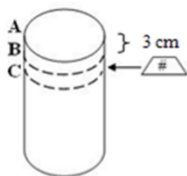
Vērtējot audzē veiktās sastāva kopšanas cirtes izpildes laika ietekmi uz mazo dimensiju celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* spp. bazīdijsporām, izvēlētas 10 mežaudzes Vidusdaugavas reģiona Kokneses meža iecirknī. Kopšanas cirtes audzēs veiktas 2013. gada martā, jūlijā un decembrī. Vienā no izvēlētajiem pētījumu objektiem ievāktas gan egles, gan priedes celmu koksnes ripas. Pārējos objektos katrā analizēta viena koku suga. Pētījumu objekti atrodas apmēram 0,6 – 12 km

viens no otra. Pavisam analizēm ievāktas 1024 skujkoku celmu ripas (568 egles un 456 priedes).

Izvērtējot *Heterobasidion* spp. micēlija attīstības dinamiku mazo dimensiju egles un priedes celmos, 14 pētījumā iekļautajās audzēs pēc 14 – 35 mēnešiem veikta atkārtota koksnes paraugu ievākšana. Koksnes paraugi ievākti no celmiem, kuros iepriekšējā vērtēšanas reizē konstatēta *Heterobasidion* spp. infekcija. Pavisam analizēti 1235 celmi. Lielākajā daļā mežaudžu koku zāģēšana veikta 23 – 25 mēnešus pirms celmu koksnes paraugu ņemšanas; divās mežaudzēs celmi eksponēti ilgāk: attiecīgi 27 un 35 mēneši, bet tikai vienā audzē celmi atkārtoti analizēti 14 mēnešus pēc koku zāģēšanas.

## 2.2 Lauku darbu metodika

*Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* sastopamības raksturošanai koki zāģēti gada siltajā periodā (jūnijs – septembris), kad abu minēto sēņu auglīķermeņi sporulē un gaisā atrodas pietiekams sporu daudzums, lai notiktu neaizsargātas koksnes inficēšanās. Zāģēšanai izvēlēti koki, kas atradās ne tuvāk kā 2 metrus no iepriekšējās ģenerācijas skujkoku celmiem un kaltošiem kokiem. Šis nosacījums ievērots, lai pēc iespējas izslēgtu gadījumus, ka koks varētu būt jau inficējies ar *Heterobasidion* spp. infekciju sakņu kontaktu ceļā (Stenlid, 1987a). Lai pārliecinātos, ka koks nav inficējies ar *Heterobasidion* spp. caur sakņu kontaktiem, pēc koka nozāģēšanas zāģējuma vietā no stumbra nozāģēta ripa, t.i., paņemts, koksnes paraugs, kas tālāk nogādāts laboratorijā LVMI “Silva” analīžu veikšanai. Lai atkārtoti būtu iespējams identificēt katru celmu jaunaudzē, pie tā virsmas pieskavota plāksnīte ar celmam piešķirto numuru. Identisku numuru ar marķieri uzraksta uz katras nozāģētās ripas augšpusēs. Celmu koksnes paraugi pētījumam izvēlētajās audzēs ievākti 7– 261 nedēļu pēc koku nozāģēšanas. Katrā celmu koksnes paraugu ņemšanas vietā no celmiem ievāktas 40 – 194 ripas. Pētījumā izmantoto celmu caurmērs svārstās robežās no 2 līdz 14 cm. Ievācot koksnes paraugus no celmiem, tiek zāģētas divas ripas (AB un BC, 2.1. attēls.), katra aptuveni 2 – 3 centimetrus bieza.



2.1. att. **Maza diametra celms pēc sastāva kopšanas cirtes – shematisks attēls/**

*Fig. 2.1. Small diameter stump after pre-commercial thinning – schematic image*

A – eksponētā virsma/*exposed surface*; AB – pirmā ripa/*first disc*;  
BC – otrā ripa/*second disc*; C – jaunā celma virsma/*new stump surface*.

Uz apakšējās ripas augšējās virsmas ar marķieri uzraksta celma identifikācijas numuru. Visas virsējās ripas (AB, 2.1. attēls.) tiek izņemtas, un uz LVMI “Silava” laboratoriju tālākam izpētes darbam nogādātas tikai apakšējās ripas (BC, 2.1. attēls.). Iegūtās ripas tiek iepakotas atsevišķos polietilēna maisos un nogādātas uz laboratoriju uzglabāšanai aukstuma kamerā.

### 2.3 Kamerālo darbu metodika.

Sagatavojot koksnes ripas *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* sastopamības novērtējumam, laboratorijā (laboratorijas darbi veikti LVMI „Silava” Meža mikoloģijas un fitopatoloģijas laboratorijā) ripas nomizotas un nomazgātas zem tekoša krāna ūdens. Pēc tam ripas stāvus (uz lokmalas) ievietotas daļēji atvērtos polietilēna maisiņos, lai nodrošinātu gaisa cirkulāciju un inkubētas septiņas dienas 20 °C temperatūrā.

*Heterobasidion* spp. infekcijas identificēšana ievāktajās celmu koksnes paraugu ripās. Pēc inkubācijas ripas analizē, izmantojot stereomikroskopu LEICA MZ 16 ar 25 reižu palielinājumu. Uz katras ripas tiek novietots un nostiprināts rūtiņu režģis ar rūtiņas malas garumu 0.7 centimetri. Ja ripas ir inficētas ar *Heterobasidion* spp., tad uz to virsmām pietiekamos mitruma apstākļos novēro konīdijnesēju veidošanos, pēc kuriem iespējams identificēt *Heterobasidion* spp. (Kallio 1970). Ja režģa rūtiņā novērots kaut viens *Heterobasidion* spp. konīdijnesējs – tā tiek atzīmēta uz ripas virsmas ar ūdensizturīgas krāsas flomāsteri. Kopējo ar *Heterobasidion* spp. inficēto laukumu uz vienas ripas izrēķina kā visu atzīmēto rūtiņu laukumu summu (vienas rūtiņas laukums 0.49 cm<sup>2</sup>). Ja uz ripas atzīmēts kaut viens punkts, tā uzskatāma par inficētu. Inficētība izteikta procentos, kā visu inficēto ripu skaita un kopējā ripu skaita dalījums. Visu inficēto ripu kontūras un uz tām atzīmētie punkti tiek pārzīmēti uz caurspīdīgām plēvēm. Ar planimetru (Tamaya Planix 10S; funkcija *Stream Area* (±1 mm<sup>2</sup>)) apvelkot uz plēves pārzīmēto ripiņas kontūru, nosaka tās laukumu  $S(D)$  un izrēķina ripas diametru  $d$ :

$$d = 2 \times \sqrt{S(D)/\pi}, \quad (2.1)$$

Alternatīvi – neinficētajām ripām diametru ( $d$ ) nosaka ar lineālu, veicot divus perpendikulārus mērījumus ( $\pm 1$  mm) un izsaka no tiem vidējo aritmētisko vērtību.

Ievāktajās celmu koksnes paraugu ripās nosaka *P. gigantea* klātbūtni pēc oranži – brūnganā krāsojuma un micēlija morfoloģiskajām pazīmēm (adatveida hifas, pārklātas ar kalcija oksalāta kristāliem), kas pēc septiņu dienu inkubācijas polietilēna maisos izveidojas uz koksnes ripām (Sun *et al.*, 2009a). Uz caurspīdīgas plēves ar marķiera palīdzību pārzīmē *P. gigantea* aizņemto laukumu un ripas virsmas kopējo laukumu. Iegūto zīmējumu uzmēra ar planimetru (Tamaya Planix 10S; funkcija *Stream Area* ( $\pm 1$  mm<sup>2</sup>)), tādējādi iegūstot kopējo *P. gigantea* aizņemto laukumu un ripas virsmas laukumu.

## 2.4 Matemātiskās metodes

Iegūtie rezultāti apstrādāti, izmantojot programmu Microsoft Excel. Rēķinātas vidējās vērtības un standartklūdas. Datu analīze veikta programmā R 2.15.0 (R Development Core Team, 2012), novērtējot korelāciju starp celma zāģējuma virsmas laukumu un *Heterobasidion* spp. vai *P. gigantea* aizņemto laukumu. Maza diametra inficēto celmu skaits starp koku sugām, *P. gigantea* un *Heterobasidion* spp. sastopamība celmos salīdzināta, izmantojot Fišera eksakto testu vai  $t$  kritēriju ( $\alpha = 0.05$ ) (salīdzināja ar teorētiskajām vērtībām (Liepa, 1974)). Sēņu aizņemtie laukumi salīdzināti, izmantojot Manna - Vitneja U testu.

Koku sugas, celma diametra, *P. gigantea* aizņemtā laukuma, paraugu ņemšanas laika pēc zāģēšanas ietekme uz *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu, analizēta izmantojot vispārinātos lineāros modeļus (ANOVA) statistikas programmā SPSS 14.0. (SPSS Inc., 2005).

Pirms analīzes veikta *Heterobasidion* spp. aizņemtā laukuma proporcijas datu arcsin transformācija.

## 3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

### 3.1 Parastās egles un parastās priedes mazo dimensiju celmu uzņēmība pret *Heterobasidion* spp. bazīdijsporu infekciju

Kopumā analizētas 4530 mazās dimensijas (2 cm līdz 14 cm) celmu koksnes ripas, no tām 2309 egles un 2221 priedes ripas.

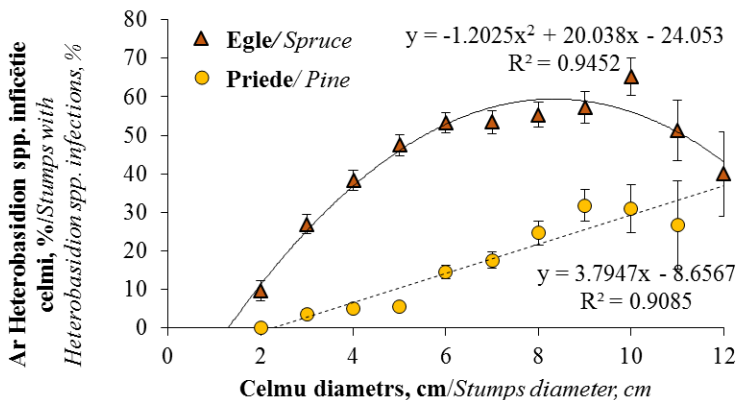
Konstatēts, ka mežaudzēs vidēji 48 % egles celmu un 12 % priedes celmu inficēti ar *Heterobasidion* spp.. Inficētība starp koku sugām atšķiras statistiski būtiski ( $p < 0.01$ ). Inficēto celmu īpatsvars priedes audzēs svārstās no 0 līdz 63.16 %, bet egles audzēs no 1.34 līdz 86.52 %. Vidējais koksnes paraugu ievākšanas laiks pēc koku zāģēšanas būtiski neatšķiras ( $p = 0.06$ ) starp priedes ( $47 \pm 10$  nedēļas) un egles ( $53 \pm 19$  nedēļas) audzēm, kas ļauj veikt šo koku sugu savstarpējo salīdzināšanu, vērtējot

*Heterobasidion* spp. infekcijas uzņēmību. Attiecībā uz egli mūsu iegūtie dati sakrīt ar A. Gunulfas pētījuma rezultātiem (Gunulf *et al.*, 2012b).

Kā minēts, analizētajām skujkoku sugām ar *Heterobasidion* bazīdijsporām inficēto mazo dimensiju celmu skaits atšķirās būtiski. Latvijā iepriekš veiktos pētījumos egles un priedes mistrotās audzēs konstatēts, ka 4 mēnešus pēc koku nozāģēšanas *Heterobasidion* sastopams 81 līdz 85 % egles celmu un 0 līdz 14 % priedes celmu. Šajā gadījumā divās audzēs koku vecums bijis attiecīgi 36 un 51 gads, bet analizēto egeles un priedes celmu vidējais diametrs – 14 līdz 17 cm (Kenigshalde *et al.*, 2015).

Lai gan labāka sporu dīdzība (analizējot nozāģētas ripas) atzīmēta priedes koksne (Dimitri *et al.*, 1971) salīdzinājumā ar egli un arī plantācijās mistrotās audzēs atrasts vairāk ar *Heterobasidion* inficētu priedes celmu salīdzinājumā ar citām skuju koku sugām (Greig, 1962), tomēr domājams, ka tas saistīts ar konkrētās *Heterobasidion* sugas inokulāta daudzumu (sporu koncentrācija gaisā, iepriekšējās koku paaudzes inficētie celmi) konkrētajā vietā, kā arī apstākļiem sakņu piepes micēlija attīstībai - sakņu kontakti, augsnes īpašības, antagonistiskas mikrofloras klātbūtne utt. Turklāt sporu dīdzība vēl neraksturo micēlija tālāko attīstību koksne. Kā secināts zviedru zinātnieku pētījumā lielākā daļa sporu infekciju celmos agrāk vai vēlāk izzūd (Swedjemark & Stenlid, 1993). Somijā veiktā pētījumā 3 mēnešus pēc kopšanas cirtes, novērtējot inficēto priedes celmu skaitu, tas bijis 5 % apjomā, bet pēc 15 mēnešiem infekcija celmos vairs netika atrasta. Minētajā pētījumā vidējais analizēto celmu diametrs 46 gadus vecā egles audzē veido 12 cm, bet priedes audzē 10 cm – audzes vecums 29 līdz 30 gadi (Lipponen, 1991). Koku sugu inficētības atšķirības varētu būt skaidrojamas ar koksnes īpašībām un tās rezistenci pret *Heterobasidion* sporu infekciju – priedes kodolkoksne ir samērā rezistenta pret *Heterobasidion annosum* infekciju, ko veicina fenolu un sveķu saturs koksne (Rishbeth, 1972; Korhonen *et al.*, 1998a; Gonthier & Thor, 2013). *Heterobasidion* infekciju, protams, ietekmē arī antagonistiskās koksni kolonizējošās sēnes (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2013).

Darbā analizējot celmu diametra ietekmi uz to inficētību, iegūtie rezultāti rāda, ka skuju koku celmu inficētība būtiski palielinās, pieaugot celma diametram ( $p < 0.001$ ) (3.1. attēls). Arī daudzos citos pētījumos apstiprināts, ka egles celmu inficētība pieaug, palielinoties celmu diametram (Paludan, 1966; Solheim, 1994; Bendz-Hellgren & Stenlid, 1998). Attiecībā uz priedes celmu inficētību J. Rizbeta pētījumā pierādīts (Rishbeth, 1951), ka diametra klasē no 5 – 7 cm inficēti 6.7 % celmu, 8 – 13 cm klasē 16.7 % celmu, bet diametra klasē 14 – 20 cm inficēti 46.7 % celmu. Promocijas pētījumā iegūtie dati arī liecina, ka, pieaugot celma diametram, būtiski ( $p < 0.001$ ) palielinās priedes celmu inficētība ar *Heterobasidion*.



3.1. att. Parastās priedes un parastās egles inficētības ar *Heterobasidion* spp. atkarība no celma diametra/

Fig 3.1. Pine and spruce infection level with *Heterobasidion* spp. depending on stump diameter

Izpētes rezultāti rāda, ka pameža/ paaugas egles celmu inficētība ir augstāka, salīdzinot ar ierīkotajās egles jaunaudzēs analizētajiem celmiem. Literatūras dati liecina, ka sakņu piepe pamatā inficē aplievu (Johnsson *et al.*, 2002; Swedjemark & Stenlid, 1993; Berglund & Rönnerberg, 2004). Eglei kodolokoksne veidojas pēc 20 līdz 30 gadu vecuma (Dimitri, 1969), un tā kā analizēto pameža/paaugas koku vecums konstatēts robežās no 35 līdz 68 gadiem (vidēji 54 gadi), tad iespējams, šis faktors arī lielā mērā ietekmēja celmu inficētību ar *Heterobasidion* sporām.

Celmu inficētību ar bazīdijsporām ietekmē gadskārtu platums. Secināts (Manka, 1974), ka vairāk tiek inficēti celmi ar platām gadskārtām. Analizētos paaugas/pameža celmus raksturoja šauras gadskārtas, taču pētījumos Somijā secināts, ka nomāktas egles ir vairāk pakļautas sekundārai infekcijai (Piri 2003a). Iespējams, ka zem priedēm augošo egles celmi arī ir vairāk uzņēmīgi pret *Heterobasidion* sporu infekciju.

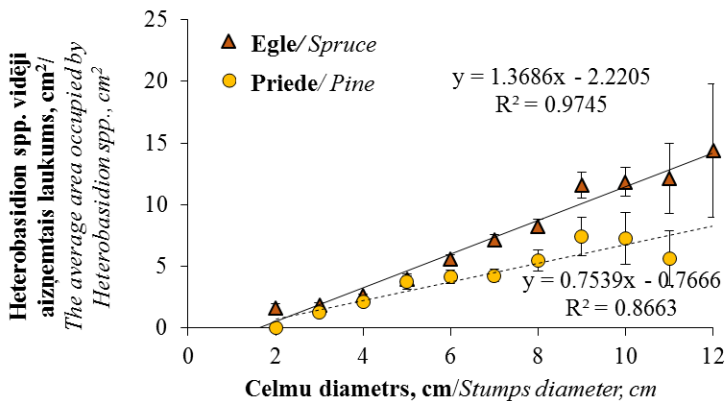
Attiecībā uz egles celmiem jaunaudzēs, domājams, ka tieši egles celmu vitalitāte ietekmēja rezistenci pret *Heterobasidion* spp. infekciju. Celmus vairākos pētījumos raksturo kā “dzīvus” 3 – 5 gadus, ja to saknes ir kontaktā ar blakus augošo koku saknēm, tādā veidā paaugstinot celmu rezistenci pret *Heterobasidion* spp. infekciju (Morrison & Johnsson, 1999). Izvēlētajās egles audzēs šādi sakņu kontakti/saaugumi noteikti izveidojās, jo vairumā gadījumu attālums starp zāģētajiem un augošajiem kokiem nepārsniedza 2 metrus. Kā jau minēts, Somijā ir pētīta zem valdaudzes klāja esošās egles loma *Heterobasidion* sekundārajā izplatībā (Piri, 2003), bet šis ir pirmais mums zināmais pētījums par pameža/paaugas egles celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* bazīdijsporām.



Savstarpēji starp sugām salīdzinot celmos konstatētās infekcijas vidējo aizņemto laukumu (eglei 6.26 cm<sup>2</sup> jeb 17.55 %, priedei 2.79 cm<sup>2</sup> jeb 8.45 %), noskaidrots, ka to vērtības arī ir būtiski atšķirīgas ( $p < 0.001$ ). Divos citos pētījumos Zviedrijā egles kontroles celmos *Heterobasidion* vidējais aizņemtais laukums konstatēts attiecīgi 1.3 cm<sup>2</sup> (Rönnerberg *et al.*, 2006a) un 21.3 cm<sup>2</sup> (Berglund *et al.*, 2005b). Minētajos pētījumos analizēto egles celmu diametrs norādīts 14 – 21 cm. Pirmajā zviedru pētījumā, kurā kontroles celmos *Heterobasidion* micēlijs konstatēts vairāk nekā 20 cm<sup>2</sup> no analizētā ripas laukuma, celmi novērtēti 9 mēnešus pēc koku zāģēšanas, bet otrā pētījumā 3 mēnešus pēc zāģēšanas. M. Berglunda un G. Rönnerberga 2004. gada pētījumā secināts, ka trīs mēnešus pēc koku zāģēšanas *Heterobasidion* vidēji aizņemtais laukums celmos ir 5.3 cm<sup>2</sup>, bet pēc 12 mēnešiem tas ir 8.8 cm<sup>2</sup>. Arī analizējot *Heterobasidion* attīstību Sitkas egles celmos, konstatēta micēlija izplatība radiālā virzienā (Redfern, 1993). Kā iemesls lielajam ar *Heterobasidion* inficētajam celmu virsmas laukumam, kas atzīmēts zviedru zinātnieku pētījumā, varētu būt arī *Heterobasidion* dabiskās infekcijas fons (Berglund *et al.*, 2005b). Jau minētajā pētījumā vienā no analizētajām audzēm konstatēti 60 % inficētu kontroles celmu, bet divās citās audzēs – katrā 100 % kontroles celmu. Lielbritānijā, analizējot Sitkas egles celmu inficētību ar *Heterobasidion* spp. un sēnes micēlija attīstību celmos, ir konstatēta ļoti liela infekcijas atšķirība gan starp audzēm (Redfern *et al.*, 2001), gan starp celmiem (Redfern *et al.*, 1997). Domājams, ka krasās dabiskā infekcijas fona atšķirības arī ietekmēja Zviedrijā veikto pētījumu rezultātus. Analizējot mazo dimensiju egles celmu inficētību ar *Heterobasidion* Zviedrijā veiktie pētījumi (Gunulf *et al.*, 2012b) liecina, ka 6 cm diametra celmos *Heterobasidion* aizņemtais laukums ir vidēji 3.4 cm<sup>2</sup>, kas tomēr ir gandrīz divas reizes mazāk nekā promocijas darba ietvaros veiktā pētījumā. Domājams, tas saistīts ar analizēto audžu vecumu - vidēji 11 gadu Zviedrijā veiktajā pētījumā; vidēji 24 gadi - Latvijā ierīkotajos eksperimentos.

Par *Heterobasidion* aizņemto laukumu inficētos priedes celmos literatūrā pieejami atsevišķi pētījumi. Zviedrijā, analizējot vidēji 19 cm diametra *Pinus sylvestris* celmus 5 – 8 mēnešus pēc kopšanas, konstatēts, ka vidējais *Heterobasidion* aizņemtais laukums veido 3.3 (0.5 – 7.2) cm<sup>2</sup> (Rönnerberg *et al.*, 2006a). Iegūtās vērtības ir samērā līdzīgas promocijas darbā iegūtajiem datiem – 4.8 cm<sup>2</sup>, tomēr jāatzīmē, ka Zviedrijā veiktajā pētījumā ar *Heterobasidion* inficēto celmu īpatsvars norādīts augstāks: 7.8 – 37.8 (vidēji 23) %. Augstāka inficētības pakāpe varētu būt skaidrojama ar lielāku analizēto celmu diametru.

Promocijas darbā secināts, ka celmu diametrs būtiski ietekmē *Heterobasidion* aizņemto laukumu abām koku sugām ( $p < 0.01$ ) (3.2. attēls).



### 3.2. att. *Heterobasidion* spp. aizņemtais relatīvais laukums atkarībā no celma diametra/

Fig. 3.2. The relative area occupied by *Heterobasidion* spp. depends on the stump diameter

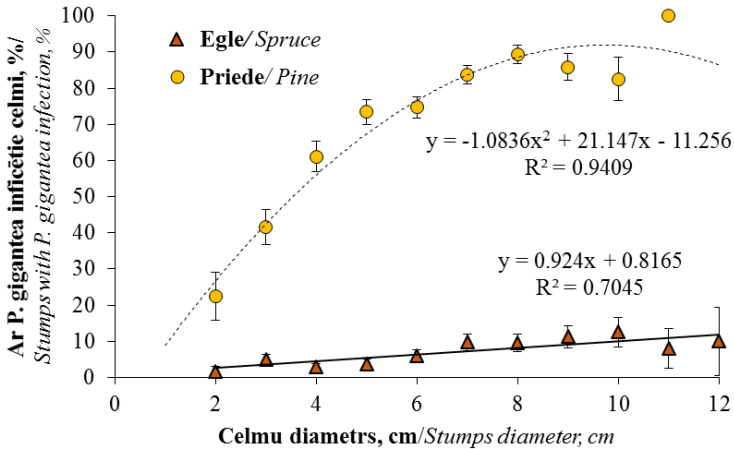
*Heterobasidion* aizņemtā laukuma palielināšanās, pieaugot celma diametram (analizēto celmu diametrs 5 – 25 cm), pierādīta arī citos pētījumos sastāva kopšanas cirtēs, analizējot dažādas skujkoku sugas: *Pseudotsuga menziesii*, *Tsuga heterophylla*, *Abies amabilis* un *Picea sitchensis* (Morrison, 1989; Morrison & Johnson, 1999).

Promocijas darba ietvaros veiktajā pētījumā koku vecumam zāģēšanas brīdī konstatēta būtiska ietekme uz *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu egles celmos ( $p = 0.001$ ), savukārt priedes celmos tā nav bijusi būtiska ( $p = 0.06$ ). Analizēto priedes audžu vecums 10 līdz 28 gadi.

### 3.2 *P. gigantea* sastopamība mazo dimensiju skujkoku celmos un tās nozīme *Heterobasidion* spp. ierobežošanā.

Vairāku autoru darbos ir atzīmēts, ka *Heterobasidion* spp. infekciju var ietekmēt arī konkurējošās, svaigu celmu virsmu kolonizējošās sēnes (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2013). Kā nozīmīgākā jāatzīmē lielā pergamentsēne *Phlebiopsis gigantea*. Šī koksni noārdošā bazīdijsēne atšķirībā no *Heterobasidion* spp. neapdraud augošus kokus un sēnes antagonistiskās īpašības tiek izmantotas, lai ražotu bioloģiskos preparātus, kuru sastāvā ir *P. gigantea* sporas (Holdenrieder & Greig, 1998; Vasiliauskas *et al.*, 2005a; Thor *et al.*, 2006). Preparāti paredzēti, lai ierobežotu *Heterobasidion* spp. izplatību pēc veiktiem mežizstrādes darbiem. Skaidrojot skujkoku mazo dimensiju celmu uzņēmību pret *P. gigantea* infekciju, 17 egles un 15 priedes celmu koksnes paraugu ņemšanas vietās novērtēta

celmus primāri kolonizējošo sēņu *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* sastopamība. Ievācot 2721 celmu ripas - 1563 egles un 1158 priedes ripas.



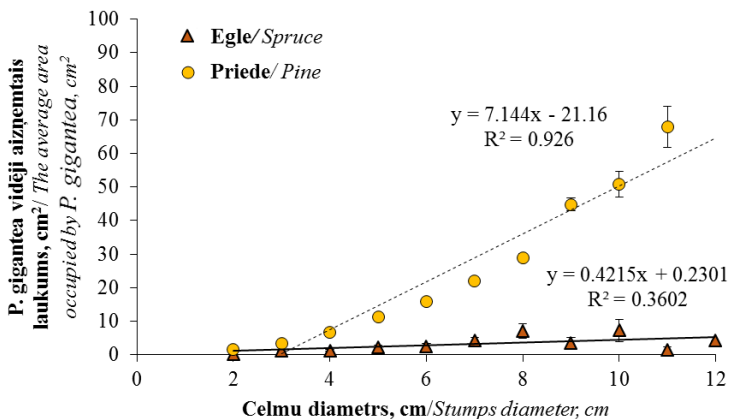
3.3. att. Ar *P. gigantea* mazo dimensiju celmu inficētības atkarība no celma diametra/

Fig. 3.3. The infection level in small dimension-stump with *P. gigantea* depending on stump diameter

Egles audzēs *P. gigantea* atrasta 0 - 35 % (vidēji 12.6 %) pārbaudīto celmu, bet priedes audzēs 7 - 100 % (vidēji 67 %) analizēto celmu. Ar *Heterobasidion* inficēto egles un priedes celmu īpatsvars abu koku sugu mežaudzēs veido attiecīgi 55 % un 13 %.

Novērtējot *P. gigantea* sastopamību skuju koku celmos atkarībā no celma diametra, secināts, ka egles celmu inficētība ar dabisko *P. gigantea*, palielinoties celma diametram, pieaug samērā nedaudz ( $r = 0.518$ ;  $p = 0.102$ ), bet priedes celmu inficētība pieaug būtiski ( $r = 0.827$ ;  $p = 0.003$ ) (3.3. attēls).

Zviedrijā, apstrādājot maza diametra egles celmus ar Rotstop (*P. gigantea* sporas saturošs preparāts), secināts, ka apstrādes efektivitāte (ietekme uz *Heterobasidion* spp. sastopamību) pieaug, palielinoties celma diametram (Gunulf *et al.*, 2012b). Lielāka diametra celmos ir stabilāks mitruma saturs, kas var ietekmēt *P. gigantea* micēlija attīstību koksne. Arī Lietuvā veiktie pētījumi liecina, ka gan *Heterobasidion* spp., gan *P. gigantea* auglīķermeņu sastopamība pieaug, palielinoties celma diametram (Vasiliauskas *et al.*, 2002). Attiecībā uz priedes celmiem jau pagājušā gadsimta 60. gados veiktajos D. Meredith (1960) pētījumos secināts, ka 4 gadus pēc koku nozāģēšanas 15 – 25 cm diametra celmos dominē *P. gigantea*, taču mazāka diametra celmos, biežāk sastopamas citas koksni kolonizējošās sēnes.



3.4. att. Ar *P. gigantea* aizņemtā relatīvā laukuma atkarība no celma diametra/  
Fig. 3.4. The relative area occupied by *P. gigantea* depending on stump diameter

*P. gigantea* aizņemtā laukums gan egles, gan priedes celmos palielinās būtiski, palielinoties celma diametram, attiecīgi abām analizētajām koku sugām:  $r = 0.695$ ;  $p < 0.05$  un  $r = 0.915$ ;  $p < 0.001$  (3.4. attēls).

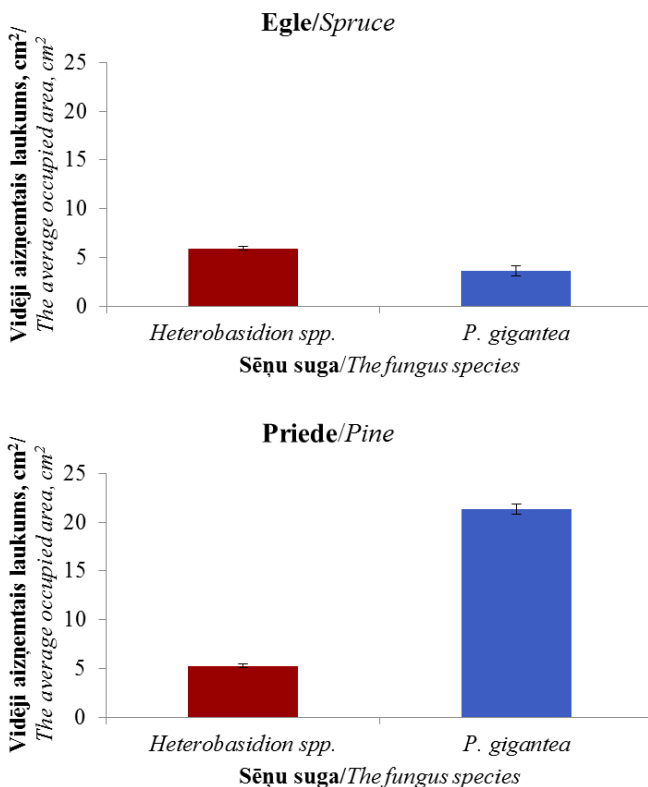
Tomēr, kā redzams, līdzīgi celmu inficētībai, palielinoties diametram, arī *P. gigantea* aizņemtā laukums atkarībā no diametra daudz straujāk palielinās priedes koksnē, kas skaidrojams ar sēnes bioloģiju – *P. gigantea* ir primāri priedes koksnē kolonizējoša sēne (Rishbeth, 1959). Tādējādi arī pētījumā iegūtie rezultāti apstiprina citu autoru atziņas (Webber & Thorpe, 2003; Korhonen, 2003). Tas, ka *P. gigantea* aizņemtā laukums abās koku sugās, pieaugot diametram, palielinās daudz straujāk salīdzinājumā ar *Heterobasidion* spp. aizņemto laukumu, skaidrojams ar *P. gigantea* micēlija attīstību radiāli uz koksnes virsmas (Tubby *et al.*, 2008). Turklāt jāatzīmē, ka *P. gigantea* sastopamība celmos atšķirībā no *Heterobasidion* spp. laika gaitā palielinās (Berglund & Rönnberg, 2004).

Vairākos darbos ir norādīts, ka dabiskās *P. gigantea* infekcija nenodrošina celmu aizsardzību pret *Heterobasidion* sporu infekciju (Annesi *et al.*, 2005; Rönnberg *et al.*, 2006a; Drenkhan *et al.*, 2008). Tomēr promocijas darba ietvaros iegūtie dati liecina, par *P. gigantea* vietējo populāciju nozīmi skujkoku celmu aizsardzībā pret *Heterobasidion* infekciju. Piemēram, vairāk ar *Heterobasidion* inficēto egles celmu sastopami audzēs, kur mazāks ar *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars.

Mežaudzē, kur pārstāvētas abas koku sugas, ar *P. gigantea* inficēti 79 % analizēto priedes celmu, bet sēne netika atrasta nevienā no pārbaudītajiem egles celmiem. Iespējams, tāpēc šajā koksnes paraugu ņemšanas vietā ar *Heterobasidion* inficēti trīs reizes vairāk egles celmu (28 %) salīdzinājumā ar priedi (8 %). Celmu inficētību ietekmē lokālie sporu avoti (gan *Heterobasidion*, gan *P. gigantea*) (Stenlid, 1994; Rishbeth, 1959), bet šajā gadījumā abu koku sugu celmi pakļauti

vienādam infekcijas fonam. *P. gigantea* vidējais aizņemtais laukums egles celmos ir 4.92 % (1.70 cm<sup>2</sup>) priedes celmos 55.39 % (20.27 cm<sup>2</sup>). Salīdzinot *P. gigantea*, kā arī *Heterobasidion* vidēji aizņemtos laukumus egles un priedes celmos, tika secināts, ka atšķirības ir būtiskas ( $p < 0.05$ ) (3.5. attēls).

Kā jau minēts iepriekš, Latvijā divās egles un priedes mistrotās audzēs jūnijā zāģētos celmos pēc 4 mēnešiem *Heterobasidion* spp. konstatēts vidēji 83 % egles celmos un 7 % priedes celmos (Kenigšvalde *et al.*, 2015). Vidējais *P. gigantea* aizņemtais laukums minētajā eksperimentā egles celmos konstatēts 39 % apmērā no celma virsmas laukuma, bet priedes celmos 67 %. Samērā lielais celmu virsmas laukums egles celmos, kur konstatēta *P. gigantea*, skaidrojams ar lielo *P. gigantea* auglķermeņu daudzumu pētījumam izvēlētajās mežaudzēs. Auglķermeņi nodrošināja ļoti augstu *P. gigantea* infekcijas fonu – *P. gigantea* konstatēta 100 % analizēto egles celmu. Tomēr sēnes aizņemtā laukuma atšķirības starp abām koku sugām liecina par dabiskās *P. gigantea* nozīmi *Heterobasidion* spp. sporu infekcijas ierobežošanā priedes celmos.



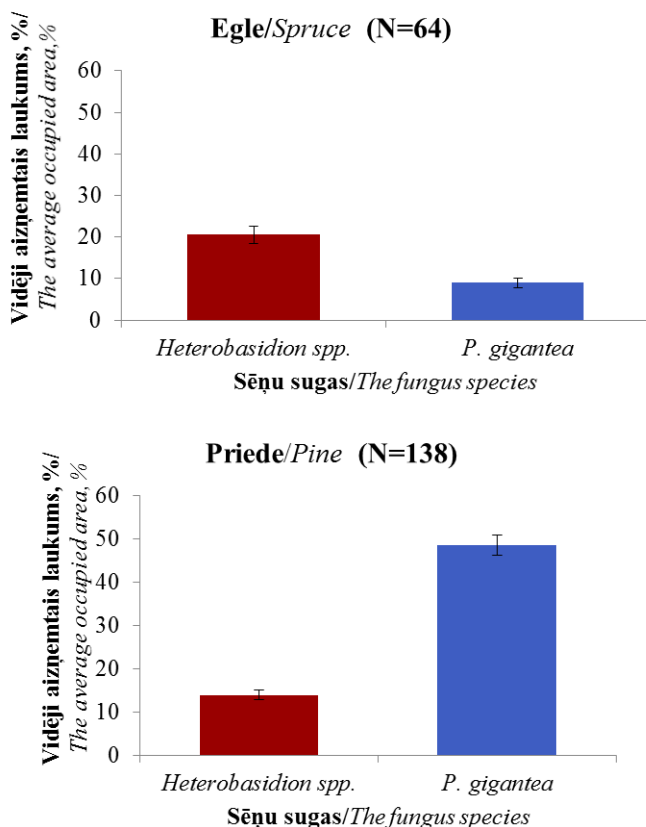
3.5. att. *Heterobasidion* un *P. gigantea* vidēji aizņemtais laukums skujkoku celmos/

Fig. 3.5. The average conifer tree stump area occupied by *Heterobasidion* and *P. gigantea*

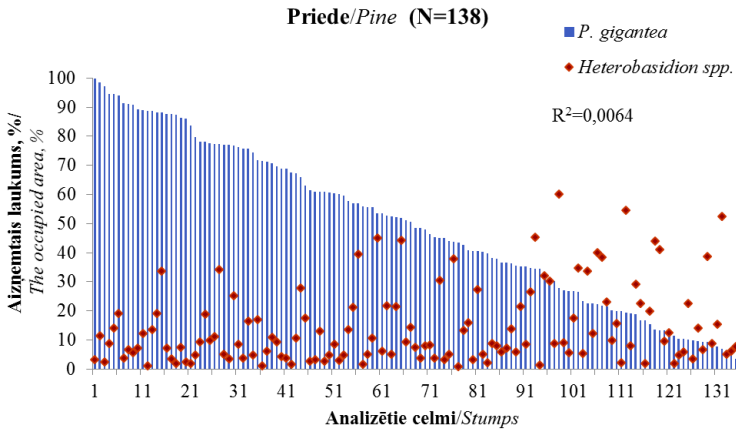
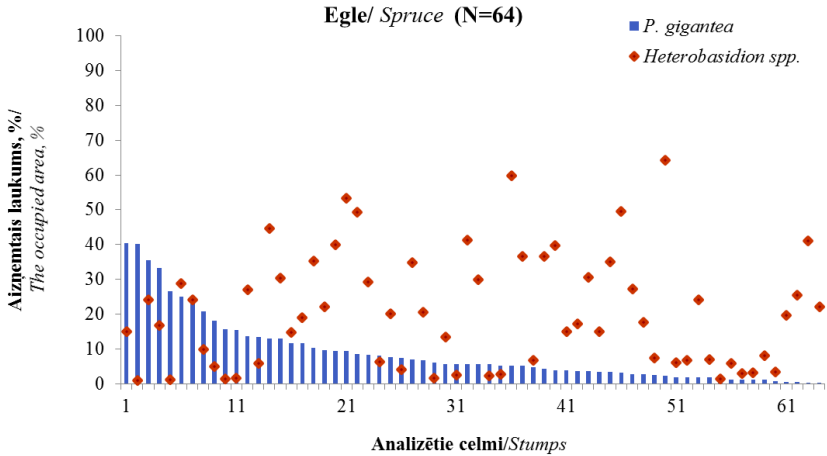
Kā liecina LVMI Silava iepriekš veiktie pētījumi, egles celmos *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* ļoti bieži sastopamas vienlaicīgi (Kenigšvalde *et al.*, 2015). Konstatēts, ka ar *Heterobasidion* stipri inficētās egles audzēs uz izgāztām eglēm un lielu dimensiju ciršanas atliekām ir liels skaits *P. gigantea* augļķermeņu. Arī analizētajās divās priedes audzēs, kur konstatēta vislielākā *Heterobasidion* infekcija (attiecīgi 48 un 63 %), ar *P. gigantea* ir inficēti 85 un 72 % celmu, turklāt šajās audzēs vidēji 44 % celmu abas sēnes sastopamas vienlaicīgi. Abām sēnēm ir līdzīgas ekoloģiskās nišas, jo gan sakņu piepe, gan lielā pergamentsēne ir primārās koksni kolonizējošās sēnes un, iespējams, koku zāģēšanas brīdī ir bijuši piemēroti apstākļi abu sēņu attīstībai (Rishbeth, 1959; Meredith, 1960). Iespējams, ka darba ietvaros

veiktos eksperimentos augstais *Heterobasidion* spp. fons veicināja konkurenci sugas līmenī, kas savukārt sekmēja celmu kolonizāciju ar *P. gigantea*, jo, kā jau iepriekš vairākkārt minēts, gan *Heterobasidion* spp., gan *P. gigantea* ir svaigu koksni primāri kolonizējošās sēnes.

Promocijas darbā veiktajā pētījumā abas sēnes vienlaikus atrastas 0 līdz 12 % (vidēji 5.3 %) analizēto egles celmu un 0 līdz 54 % (vidēji 9.2 %) priedes celmu. Abu sēņu aizņemtie laukumi, egles un priedes celmos atšķiras būtiski ( $p < 0.05$ ) (3.6. attēls).



3.6. att. *Heterobasidion* spp. un *P. gigantea* vidēji aizņemtais laukums skujkoku celmos, kuros abas sēnes sastopamas vienlaicīgi/  
 Fig. 3.6. The average conifer tree stump area occupied by *Heterobasidion* and *P. gigantea*, where are together both the fungi



3.7. att. *P. gigantea* un *Heterobasidion* aizņemtais laukums skujkoku celmos (celmi sagrupēti dilstošā secībā atkarībā no *P. gigantea* laukuma)/  
 Fig. 3.7. The area occupied by *P. gigantea* and *Heterobasidion* in conifer tree stumps (stumps are grouped in descending order based on *P. gigantea* area)

Salīdzinot *Heterobasidion* un *P. gigantea* aizņemtus laukumus uz viena un tā paša celma, iezīmējas tendence - sevišķi attiecībā uz priedi, ka, palielinoties *P. gigantea* aizņemtajam laukumam, samazinās celma virsmas daļa, ko kolonizējusi *Heterobasidion* spp. (3.7. attēls).

Tomēr nav iespējams tik precīzi definēt *P. gigantea* aizņemtā laukuma daļu, kurai palielinoties, samazinās *Heterobasidion* aizņemtais laukums, kā tas iespējams



attiecībā uz lielāku dimensiju egles celmiem (Kenigssvalde *et al.*, 2015). Aproximējot iegūtos rezultātus promocijas darbā ar pakāpes funkcijām  $y = 13.87x^{0.052}$  un  $y = 12.195x^{-0.087}$  secināts, ka korelācija ir vāja (attiecīgi eglei  $R^2=0.0032$ ; priedei  $R^2=0.0064$ ).

Protams, *Heterobasidion/ P. gigantea* micēlija attīstības struktūra celmos pēc krājas kopšanas cirtes atšķiras no micēlija attīstības mazāka diametra celmos sastāva kopšanas cirtēs. Micēlija attīstību ietekmē biotiskie un abiotiskie faktori, kuru atšķirīgā ietekme dažādu dimensiju celmos, turklāt var būt determinēta gan audzes, gan atsevišķu celmu līmenī (Stenlid, 1987a; Redfern, 1982; Berglund & Rönnerberg, 2004). Iespējams, ka mitruma saturs koksni ir nozīmīgākais faktors, kas ietekmē celmus kolonizējošo sēņu populācijas. Ja celmos koksnes lielāko daļu kolonizē *Heterobasidion*, tad šādi celmi nākotnē kļūst par potenciālu infekcijas akumulācijas vietu un reālu apdraudējumu blakus augošajiem kokiem un veselajiem celmiem. Protams, ja daļu no celma, respektīvi, pieejamā substrāta kolonizē citas ar *Heterobasidion* konkurējošas sēnes, tad mežaudžu infekcijas risks būtiski samazinās. Darbā iegūtie rezultāti gan par *Heterobasidion* un *P. gigantea* aizņemtā vidējā laukuma atšķirībām egles un priedes celmos (3.5. attēls), gan par laukuma atšķirībām celmos, kuros abas sēnes sastopamas vienlaicīgi (3.6. attēls), liecina par *P. gigantea* vietējo populāciju nozīmi skujkoku celmu aizsardzībā pret *Heterobasidion* spp..

Izvērtējot *P. gigantea* sastopamību piecās celmu koksnes paraugu ņemšanas vietās priedes celmos, kas zāģēti 2012. gada jūlijā, konstatēts, ka *P. gigantea* bija inficējusi 68-100 % (vidēji 88 %) celmu, bet trijās paraugu ņemšanas vietās no augustā zāģētajiem kokiem attiecīgi 7-73 % (vidēji 32 %) celmu. Somijā veiktā pētījumā secināts (Kallio & Hallaksela, 1979), ka celmu inficēšanās ar *P. gigantea* visintensīvāk norit pavasarī, bet strauji samazinās septembrī. Bez sezonālītātes *P. gigantea* inficētību varēja ietekmēt arī liels *Heterobasidion* sporu fons. Daudzos eksperimentos ar Rotstop autori skaidro bioloģiskā preparāta vājo efektivitāti ar lielo *Heterobasidion* dabisko infekciju (Berglund & Rönnerberg, 2004; Berglund *et al.*, 2005b). Savukārt citu autoru pētījumi liecina, ka *P. gigantea* atšķirībā no *Heterobasidion* ir vairāk jutīga pret izžūšanu (Rishbeth, 1959).

Kopumā var secināt, ka *P. gigantea* labāk attīstās priedes nekā egles mazo dimensiju celmu koksni, tāpēc, veicot jaunaudžu kopšanu gada siltajā periodā īpaši, sakņu trapes ierobežošanas pasākumi ir aktuāli tieši attiecībā uz egles celmiem.

### **3.3 Kopšanas cirtes sezonas ietekme uz mazo dimensiju celmu inficēšanos ar *Heterobasidion* spp..**

Analīzē iekļauti dati par desmit mežaudzēm, kopumā analizējot 1024 mazo dimensiju (2 cm līdz 14 cm) celmu ripas, no tām 568 egles un 456 priedes. Daudzos pētījumos ir pierādīts, ka vislielākais svaigu celmu inficēšanās risks ar *Heterobasidion* sporām ir vasaras mēnešos (Yde –Andersen, 1962; Brantberg *et al.*, 1996; Kallio, 1970). Attiecībā uz egles celmu inficētību literatūras dati liecina, ka

inficēto celmu īpatsvars audzē svārstās no 44 līdz 100 % (Berglund & Rönnerberg, 2003; Berglund *et al.*, 2005b). Tiesa, pamatā šie pētījumi attiecas uz krājas kopšanas cirtēm, bet arī egles jaunaudzēs (pēc veiktas sastāva kopšanas cirtes) var būt inficēta liela daļa mazo dimensiju celmu (Berglund *et al.*, 2007). Par priedi pētījumu datu ir daudz mazāk. J. Ronnbergs secinājis (Rönnerberg *et al.*, 2006a), ka Zviedrijā inficēto priedes celmu daudzums svārstās no 3.3 – 46.7 % (vidēji 23 %).

Veiktajā pētījumā, analizējot martā zāgēto egles/priedes celmu inficētību ar *Heterobasidion*, konstatēts, ka infekcija sastopama 1 – 4 % priedes un 6 – 7 % egles celmu. Vidējais ar *Heterobasidion* spp. aizņemtais celma virsmas laukums abām koku sugām ir 2.69 – 5.47 %. Jūlijā *Heterobasidion* ir atrasts 48 – 89 % analizēto egles celmu, bet tikai 5 – 8 % priedes celmu. Vidējais *Heterobasidion* aizņemtais laukums jūlijā zāgētajos egles celmos ir 15 %, savukārt priedes celmos – 4 %. Attiecībā uz vasarā zāgēto egles celmu inficētību, šie dati sakrīt ar citu autoru pētījumu rezultātiem (Gunulf *et al.*, 2012b).

Vērtējot *Heterobasidion* spp. infekciju audzēs atstātajos celmos, kurās kopšanas cirte veikta decembrī, tā netika konstatēta priedes audzē, bet konstatēta 0 – 4 % egles celmos. Vidējais *Heterobasidion* spp. aizņemtais celmu virsmas laukums egles celmos ir 4.74 – 14.32 %.

Iegūtie rezultāti parāda, ka ar *Heterobasidion* spp. inficēto egles un priedes celmu skaits būtiski neatšķiras martā veiktajās sastāva kopšanas cirtēs ( $p = 0.07$ ), savukārt jūlijā veiktajās kopšanas cirtēs egles celmos konstatēta būtiski augstāka ( $p < 0.05$ ) *Heterobasidion* spp. infekcija. Salīdzinot priedes un egles celmu inficētību starp martā un jūlijā veiktajām sastāva kopšanas cirtēm, konstatēta būtiski augstāka ( $p < 0.05$ ) *Heterobasidion* spp. infekcija jūlijā zāgētajos egles un priedes celmos. Salīdzinot decembrī zāgēto egles un priedes celmu inficētību, būtiskas atšķirības netika konstatētas ( $p = 0.34$ ). Egles celmu inficētība būtiski atšķiras starp visiem zāgēšanas laikiem ( $p < 0.05$ ), vislielāko inficētību sasniedzot jūlijā, vismazāko – decembrī. Savukārt, salīdzinot priedes celmu inficētību, konstatēts, ka inficētība būtiski atšķirās tikai jūlijā un decembrī ( $p < 0.05$ ). Pētījuma dati sakrīt ar citu pētnieku darbos (Delatour *et al.*, 1998) secināto, ka egles celmi ir ļoti uzņēmīgi pret *Heterobasidion* spp. infekciju. Ievērojamās atšķirības starp egles inficēšanos martā un jūlijā skaidrojamas ar *Heterobasidion* spp. sporulācijas dinamiku, kura palielinās laikā no aprīļa līdz decembrim, maksimumus sasniedzot jūnijā – jūlijā un oktobrī (Kallio, 1970; Kallio & Hallaksela, 1979; Brandtberg *et al.*, 1996; Gonthier *et al.*, 2005). Latvijā veiktajos pētījumos noskaidrots, ka *Heterobasidion* spp. sporulācija palielinās aprīļa vidū, maksimumu sasniedzot augustā un septembrī (Brauners *et al.*, 2014). Egles celmu inficētība decembrī skaidrojama ar to, ka 2013. gada decembrī, kad veikta audžu sastāva kopšana, diennakts vidējā gaisa temperatūras svārstījās robežās no mīnus 9.6 °C līdz plus 5.4 °C. (mēneša vidējā diennakts temperatūra bija +1.5 °C), un šādos apstākļos iespējama *Heterobasidion* spp. sporu izdalīšanās. Priedes celmu nelielā inficētība neatkarīgi no koku zāgēšanas laika varētu būt saistīta ar koksnes uzņēmību pret dažādām koksni kolonizējošām sēnēm, piemēram, *P.*

*gigantea*, kas vienlaicīgi arī konkurē ar *Heterobasidion* spp., tādējādi neļaujot *Heterobasidion* spp. sporām attīstīties uz celma virsmas (Meredith, 1960; Tubby *et al.*, 2008; Kallio, 1970).

Jāatzīmē, ka ar *P. gigantea* inficēto celmu īpatsvars abās analizētajās egles audzēs jūlijā ir ļoti atšķirīgs – 60 un 2 %. Iespējams, to nosaka priedes piemistrojums mežaudzē, kur atrasts vairāk ar *P. gigantea* inficēto egles celmu. Tā kā *P. gigantea* ir primāri priedes koksni kolonizējošā sēne (Tubby *et al.*, 2008), tad šajā audzē novērots lielāks *P. gigantea* sporu fons, kas saistīts ar piemērotu substrātu *P. gigantea* auglķermenī attīstībai. Būtisks faktors, kas nosaka *Heterobasidion* un *P. gigantea* mijiedarbību ir abu sēņu sezonālitate, uz ko norāda arī D. Meredita (Meredith, 1959) pētījums, novērtējot *Heterobasidion* un *P. gigantea* sastopamību priedes celmos. Citā D. Meredita (1960) pētījumā, izmantojot *Heterobasidion* un *P. gigantea* sporu maisījumu, secināts, ka abām sēnēm vienlaicīgi kolonizējot priedes celmus, izteiktas “priekšrocības” ir *P. gigantea*. Ja *H. annosum* un *P. gigantea* sporu attiecība suspensijā ir 100:1, tad pēc 12 nedēļām ar *H. annosum* un *P. gigantea* kolonizētās koksnes attiecība konstatēta 23:60, bet, ja sporu attiecība 5:1, tad sēņu aizņemtā koksnes daļa konstatēta attiecībā 3:90 par labu *P. gigantea*.

Domājams, ka celmu infekciju ar abām iepriekš minētajām sēnēm lielā mērā nosaka meža tips, veģetācija, ko, protams, ietekmē arī augsnes mitrums. Celmu inficēšanās procesu lielā mērā ietekmē koku individuālās īpašības. To pierāda Somijā veikts pētījums, pārbaudot 64 dažādu *P. gigantea* izolātu augšanu egles koksnes blukšos, kas iegūti no 4 dažādiem kokiem. Pētījumā secināts, ka sēnes augšanas ātrums dažādu koku blukšos atšķiras būtiski (Sun *et al.*, 2009b). Arī Polijā veiktais pētījums pierāda koku individuālo īpašību nozīmi infekcijas izplatībā, kur pārbaudītas egles celmu (diametrs 2 - 15 cm) kolonizācijas sekmes tos apstrādājot ar *P. gigantea* saturošu preparātu Rotstop. Eksperimentā secināts, ka 4 dažādās audzēs inficēto celmu īpatsvars svārstās no 0 - 80 % (Zolcian, 2005).

Dž. Rišbets (1959) konstatējis, ka daļa no *Heterobasidion* izdalītajām sporām tiek deponēta skujās, savukārt T. Kallio (1970) secina, ka vairāk sporu ir zemsegas līmenī. Temperatūra un mitrums ir ļoti būtiski faktori *Heterobasidion* sporu attīstībai (Gonthier *et al.*, 2005). *Heterobasidion* celmos var tikt ienests arī zāģēšanas brīdī (Gunulf *et al.*, 2016). Piemēram, vienā mežaudzē, pārbaudot celmu koksnes diskus pēc koku nozāģēšanas, *Heterobasidion* konstatēts 33 % analizēto priedes celmu, taču, vairākus celmus nozāģējot sakņu kakla līmenī, infekcija netika atrasta, kas liecināja, ka sporas uz celmiem visdrīzāk ienestas zāģēšanas brīdī no mizas. Jāatzīmē gan, ka šīs infekcijas bija samērā nelielas – atsevišķos gadījumos tikai daži konīdijnesēji, un mazām infekcijām ir mazākas iespējas izplatīties tālāk koksne (Swedjemark & Stenlid, 1993; Berglund & Rönnberg, 2004). Svarīgi, cik ilgi celmi būs uzņēmīgi pret *Heterobasidion* infekciju, jo maza diametra celmi izzūst daudz ātrāk. Attiecībā uz celmiem pēc krājas kopšanas cirtēm un galvenajām cirtēm uzskata, ka tie var inficēties ar *Heterobasidion* spp. apmēram vienu mēnesi. Tomēr citi autori uzskata, ka celmi ir uzņēmīgi pret *Heterobasidion* 1-2 nedēļas (maksimāli

vienu mēnesi) (Rishbeth, 1951; Meredith, 1960; Yde- Andersen, 1962; Brantberg *et al.*, 1996; Johnsson *et al.*, 2002). Savukārt K. Korhonens norāda, ka viskritiskākās celmu infekcijai ir pirmās četras dienas pēc zāģēšanas. Jebkurā gadījumā turpmāko *Heterobasidion*, un/vai *Phlebiopsis* attīstību celmos nosaka sēņu aizņemtie laukumi uz celma virsmas, respektīvi - primārās infekcijas laukums. Decembrī ar *Heterobasidion* inficēto celmu daudzums ir niecīgs, bet *P. gigantea* sastopama arī ziemā, kas sakrīt ar citiem LVMI Silava pētījumos iegūtajiem rezultātiem. Arī citu autoru dati liecina, ka ziemas mēnešos celmu inficēšanās risks ar *Heterobasidion* spp. ir minimāls (Yde-Andersen, 1962). Tomēr, ņemot vērā klimata izmaiņu prognozes, jārēķinās, ka patogēna izplatība mūsu platuma grādos tikai pieaugs (Burton *et al.*, 2010).

### 3.4 *Heterobasidion* spp. micēlija attīstības dinamika mazo dimensiju parastās egles un parastās priedes celmos

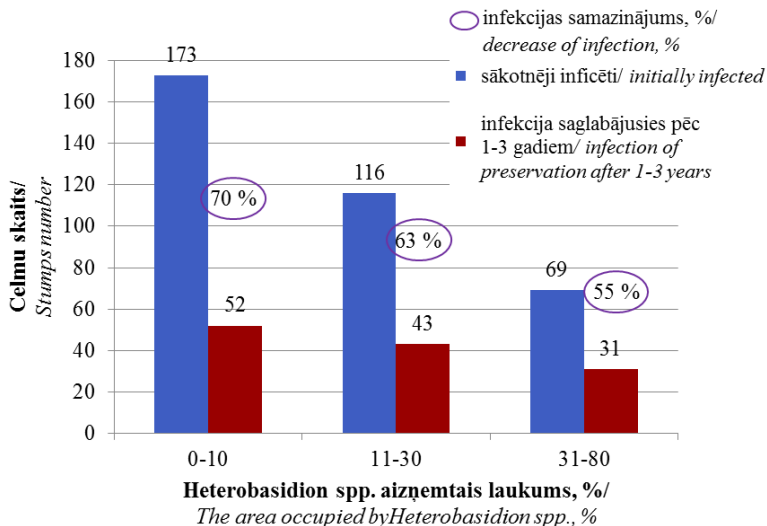
Analizē iekļauti dati par četrpadsmit mežaudzēm, kopumā analizējot 1235 mazo dimensiju celmu ripas, no tām 781 egles un 454 priedes.

Analizējot *Heterobasidion* attīstības dinamiku egles celmos, secināts, ka dzīvotspējīgs micēlijs saglabājies 5 – 33 % (vidēji 16.5 %) pārbaudīto celmu. Savukārt piecās analizētajās priedes audzēs, celmos, kuros sākotnēji konstatēta *Heterobasidion* spp. infekcija, sakņu piepes micēlijs netika konstatēts. Tomēr jāatzīmē, ka arī sākotnējā *Heterobasidion* spp. infekcija priedes celmos bija būtiski zemāka (vidēji 11.0 %), to salīdzinot ar egles celmiem (vidēji 45.7 %). Arī citu autoru veiktajos pētījumos iegūti līdzīgi rezultāti par *Heterobasidion* spp. micēlija saglabāšanos egles celmos. Vācijā 16–20 gadus vecās egles audzēs trīs gadus pēc krājas kopšanas cirtes inficēto celmu daudzums konstatēts 16 % apmērā (Schönhar, 1975). S. Solheims (1994) konstatējis, ka 1 - 2 gadus pēc zāģēšanas inficēto egles celmu īpatsvars bijis 20 % (diametrs 5 – 10 cm). Arī F. Paludans (1966) novērojis līdzīgu inficētību egles celmos, kuru diametrs bijis 3 cm. Savukārt M. Berglunda u.c. (2007) pētījumā konstatēts, ka pēc līdzīga laika perioda 40 % egles celmu (diametrs 5 – 7 cm) inficēti ar *Heterobasidion* spp.. Promocijas darba ietvaros pēc 14 – 35 mēnešiem atkārtoti pārbaudot tikai iepriekš inficētos egles celmus (358 gab.), infekcija konstatēta 126 celmos. Dati liecina, ka infekcijas samazinājums ir 20 – 80 % (59 %). Citā pētījumā (Berglund & Rönnerberg, 2004), salīdzinot 15 – 19 cm diametra egles celmu inficētību ar *Heterobasidion* 3 un 12 mēnešus pēc koku zāģēšanas, secināts, ka infekcijas samazinājums minētajā laika periodā 7 audzēs bija 5 – 50 % (vidēji 18 %). Vācijā iegūtie rezultāti liecina, ka trīs mēnešus pēc koku zāģēšanas *Heterobasidion* konstatēts 70 % egles celmu, bet sešus mēnešus vēlāk sēnes micēlijs atrasts vairs tikai aptuveni 20 % celmu (Dimitri *et al.*, 1971).

Iemesls infekcijas samazinājumam varētu būt antagonistiskas mikrofloras klātbūtne (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2014). Sēnes micēlija attīstību celmos var ietekmēt nokrišņu daudzums (Morrison &

Johnson, 1999) un augsnes mitrums (Redfern, 1993). Mazo dimensiju celmi ir pakļauti straujākai izzūšanai (Hellgren & Stenlid, 1998). Taču arī pārlietu liels mitruma saturs celmos ietekmē *Heterobasidion* attīstību, par ko liecina D. Redferna (1993) pētījumi, analizējot Sitkas egles apļievas un kodolkoksnes inficēšanos ar *Heterobasidion*.

Jāatzīmē, ka promocijas pētījumā egles celmos atzīmēta samērā liela *Heterobasidion* aizņemtā laukuma variācija: 0.49 – 55.37 cm<sup>2</sup>. Arī citu autoru darbos atzīmēta ļoti atšķirīga celmu uzņēmība pret *Heterobasidion* sporu infekciju. Piemēram, analizējot ar *Heterobasidion* bazidijsporām mākslīgi inficētus Sitkas egles celmus, konstatēts, ka *Heterobasidion* laukums 14 celmos svārstās no < 1 līdz 95 %, savukārt četros mākslīgi inficētos Klinškalnu priedes celmos *Heterobasidion* aizņemtais laukums veido 3 – 96 % (Redfern, 1982). Uzskata, ka vairums sporu infekciju celmos ar laiku izzūd (Swedjemark & Stenlid, 1993). Somijā veiktā pētījumā secināts, ka ir nepieciešamas vismaz divas ģenētiski saderīgas homokatiotiskas *Heterobasidion* kolonijas, lai nodrošinātu micēlija attīstību celma koksņē (Möykkynen & Kontiokari, 2001). Literatūrā viena *Heterobasidion* kolonija tiek definēta kā micēlijs, kas attīstījies no vienas sporas (Möykkynen *et al.*, 1997). Tātad nepieciešamas vismaz divas sporas, lai nodrošinātu *Heterobasidion* micēlija izaugšanu koksņē. Protams, celmu inficēšanās process ir daudz sarežģītāks. Kā liecina pētījumi, tikai daļa no *Heterobasidion* izdalītajām sporām var uzdīgt pēc nokļūšanas uz piemērota substrāta, kas tiek skaidrots ar to, ka atšķirīgi auglķermeņi izdala dažādas dīdžības sporas (Redfern, 1982). Savukārt no daudzajām uz celma virsmas izdīgušajām sporām, kas, pārstāv dažādus genotipus, tālāk koksņē parasti izaug tikai viens konkurētspējīgākā genotipa micēlijs (Korhonen & Holdenrieder, 2005). Sākotnēji inficētais koksnes daudzums, protams, ļoti būtiski var ietekmēt patogēna tālāko attīstību koksņē (Morrison & Redfern, 1994; Berglund & Rönnberg, 2004). Promocijas darba pētījumā secināts, ka *Heterobasidion* infekcija visvairāk (70 %) samazinājusies egles celmos, kur sākotnēji *Heterobasidion* aizņemtais laukums ir bijis mazāks par 10 % (3.8. attēls).



3.8. att. ***Heterobasidion* infekcijas samazinājums parastās egles celmos/**  
**Fig. 3.8. *Decrease of Heterobasidion* infection in spruce stumps**

Celmos, kur sākotnēji *Heterobasidion* micēlijs aizņēma 11 – 30 % virsmas laukuma, infekcijas samazinājums ir 63 %, bet vismazākais infekcijas samazinājums (55 %) ir celmos ar sākotnēji aizņemto laukumu 31 – 80 %. Infekcijas samazinājums starp izdalītajām klasēm “0-10 %” un “31 – 80 %” ir būtisks ( $p=0.04$ ). Tomēr jāatzīmē, ka *Heterobasidion* ir saglabājies samērā daudz celmos, kur infekcijas sākotnēji aizņemtais laukums sākotnēji novērots mazāks par 10%. Savukārt lielā daļā celmu (55 %) infekcija atkārtotā celmu pārbaudē nav konstatēta, neraugoties uz sākotnēji samērā lielu inficētā celma daļu (31 – 80 %). Citu autoru pētījumos ir pierādīts, ka tālāko micēlija attīstību ietekmē arī *Heterobasidion* genotipu “agresivitāte”, un dažkārt ļoti mazas kolonijas pēc ilgāka laika perioda var aizņemt samērā lielu celma daļu, bet lielas kolonijas var iet bojā (Redfern *et al.*, 2001).

Micēlija saglabāšanos koksne nosaka arī *Heterobasidion* sākotnējais sporu daudzums, kas nokļūst uz svaigu celmu virsmas. Eksperimentos ar dažādas koncentrācijas *Heterobasidion* bazīdijsporu suspensiju Sitkas egles celmos noskaidrots, ka pie mazas sporu koncentrācijas uz celma virsmas veidojas neliels skaits, bet samērā lielu koloniju. Savukārt pie augstas sporu koncentrācijas veidojas daudz mazu koloniju, un šajā gadījumā starp atsevišķiem *Heterobasidion* genotipiem pastāv lielāka savstarpēja konkurence (Redfern *et al.*, 1997).

Micēlija tālāko saglabāšanos nosaka arī *Heterobasidion* sākotnējā infekcijas lokalizācijas vieta. Lai gan abām analizētajām skuju kokū sugām *Heterobasidion* infekcija pamatā konstatēta aplievā (Johnsson *et al.*, 2002), tomēr jaunāki pētījumi

liecina, ka egles celmos kodolkoksne ir vairāk uzņēmīga pret *Heterobasidion* infekciju. Iespējams, ka tieši kodolkoksnes infekcija ietekmē patogēna turpmāko attīstību dziļāk celmu saknēs (Oliva *et al.*, 2013). Egli var inficēt abas Latvijā sastopamās *Heterobasidion* sugas – *H. annosum* un *H. parviporum*, taču, attīstoties tālāk celmā, priekšrocības būs *H. parviporum*, kas ir labāk adaptējusies attīstībai egles koksne (Vasiliauskas *et al.*, 1998). Līdzīgi priedes celmus arī var inficēt gan *H. annosum*, gan *H. parviporum*, taču, no celmu saknēm izdalītā *H. annosum* īpatsvars ir 93 %, bet *H. parviporum* tikai 7 % (Rönnberg *et al.*, 2006a). Tāad svarīgs faktors celmu inficēšanās procesā ir ne tikai sākotnējais *Heterobasidion* sporu fons, ko nosaka auglķermeņu klātbūtne (Rishbeth, 1951, 1959; Yde-Andersen, 1962; Greig, 1962; Stenlid, 1994; Redfern *et al.*, 1994; ), bet arī *Heterobasidion* suga. *Heterobasidion* micēlija “izžušana” priedes celmos varētu būt saistīta, ar *Heterobasidion* sākotnēji mazāku inficēto celmu skaitu/ virsmas laukumu salīdzinājumā ar egli, kā arī ar antagonistiskās sēnes *P. gigantea* bioloģiju. Kā jau minēts iepriekš, ir pierādīts, ka *P. gigantea* īpatsvars skuju koku celmos laika gaitā palielinās (Berglund & Rönnberg, 2004).

Darba pētījumos atzīmēts, ka mazo dimensiju priedes celmi sadalās daudz ātrāk salīdzinājumā ar egles celmiem, kas arī var ietekmēt sēnes turpmāko attīstību koksne. *Heterobasidion* micēliju priedes celmos varēja ietekmēt arī eksperimentos izmantoto celmu augstums (aptuveni 50 cm). Turpmākajos pētījumos būtu nepieciešams analizēt *Heterobasidion* micēlija attīstību skuju koku celmu saknēs.

## SECINĀJUMI

1. Noskaidrots, ka egle ir uzņēmīgāka par priedi pret *Heterobasidion* spp infekciju, jo vidēji 48 % egles un 12 % priedes mazo dimensiju (2 cm – 14 cm) celmu ir sakņu piepes inficēti. Inficētība starp koku sugām atšķiras statistiski būtiski.
2. Skujkoku celma diametrs būtiski ietekmē celmu inficētību ar *Heterobasidion* spp., uzrādot, abām sugām ciešu, bet eglei nedaudz vājāku korelāciju nekā priedei. Noskaidrots, ka, pieaugot celma diametram, palielinās arī sēnes aizņemtais relatīvais laukums uz celma virsmas, abām koku sugām uzrādot ciešu korelāciju.
3. *P. gigantea* dabiskā infekcija būtiski ietekmē priedes celmu aizsardzību pret *Heterobasidion* spp infekciju, jo *P. gigantea* dabiskā infekcija konstatēta 7 % egles un 73 % priedes celmu. Inficētība starp koku sugām atšķiras statistiski būtiski.
4. Palielinoties celma diametram inficētība ar *P.gigantea* būtiski palielinās tikai priedei, kas apliecina faktu, ka *P.gigantea* primāri ir priedes koksni kolonizējoša sēne.
5. Celma diametram ir būtiska ietekme uz *P. gigantea* aizņemto laukumu egles un priedes celmos. Palielinoties celma diametram *P. gigantea* kolonizētā daļa straujāk pieaug priedes celmos, tas liecina, ka *P.gigantea* dabiskā infekcija nodrošina labāku priedes mazo dimensiju celmu aizsardzību pret *Heterobasidion* spp. infekciju salīdzinājumā ar egli.
6. Salīdzinot sezonas ietekmi uz *Heterobasidion* spp. sporu infekciju, noskaidrots, ka martā veiktajās sastāva kopšanas cirtēs inficēti 7 % egles celmu un 2 % priedes celmu, jūlijā konstatēti 63 % inficētu egles celmu un 7 % priedes celmu. Decembrī zāgēto koku celmu inficētība starp abām sugām būtiski neatšķiras: *Heterobasidion* spp. netika atrasta priedes celmos, bet sakņu piepes infekcija konstatēta, 2 % analizēto egles celmu. Celmi būtiskam sporu infekcijas riskam pakļauti pavasara - rudens sezonā, kad diennakts vidējā gaisa temperatūra ir augstāka par 5 °C.
7. Atkārtoti pārbaudot iepriekš ar *Heterobasidion* spp. inficētos celmus, konstatēts, ka vidēji pēc 2 gadiem mazo dimensiju egles celmos infekcijas samazinājums ir 60 %, bet priedes celmos infekcija netika konstatēta.



## PATEICĪBAS

Autors izsaka pateicību AS “Latvijas Valsts meži” par iespēju veikt darba izstrādi paralēli tiešo darba pienākumu veikšanai, kā arī par iespēju darba izstrādē izmantot tās finansētā projekta “Sakņu trapes izplatību ierobežojošo faktoru izpēte” Nr. 5.5-5.1/000s/101/11/12 ietvaros iegūtos datus.

Autors izsaka pateicību promocijas darba vadītājam Dr. silv. Tālim Gaitniekam par atbalstu darba struktūras izstrādāšanā, lauka un kamerālo darbu organizēšanā un veikšanā, kā arī darba manuskripta kvalitātes pilnveidošanā. Pateicos Dr. Rymvidas Vasaitis par palīdzību datu apstrādē un rezultātu interpretācijā.

Pateicos Kristīnei Kenigsvaldei par neatsveramu atbalstu lauka darbu veikšanā, empīriskā materiāla apstrādē un analīzē, kā arī rezultātu interpretācijā.

Autors izsaka pateicību LVMI Silava Meža mikoloģijas un fitopatoloģijas laboratorijas kolēģu komandai Dinai Nitišai, Kari Korhonenam, Laumai Brūna, Astrai Zaļumai, Agritai Kenigsvaldei, Dārtai Kļaviņai, Natālijai Burņevičiai, Anetei Ēberliņai, Dacei Saulītei, Arnim Siliņam, Kasparam Polmanim par atbalstu un nesavtīgu darbu, veicot lauka un kamerālos darbus, kā arī ievākto datu apstrādi.

Visbeidzot paldies manai ģimenei par atbalstu un veselīgo ironiju darba izstrādes laikā.

Šo darbu veltu saviem vecākiem Olgai un Jurim Brauneriem, kā arī kā piemēru saviem dēliem Rūdfam un Francim Brauneriem.

# 1. GENERAL DESCRIPTION OF THE PAPER

## 1.1. Importance of the work

Economically, the root rot caused by *Heterobasidion* spp. is the most significant disease attacking coniferous trees in the North Temperate Zone. The complex of *Heterobasidion* species *Heterobasidion annosum* sensu lato (s.l.) and damage caused by it is known since the last century when it was almost simultaneously identified and described by Hartig, Fries and Brefeld (Stenlid, 1986). These wood-degrading basidiomycetes occur in almost every commercial forest in the whole Northern hemisphere. There are three *Heterobasidion* spp. species found in Europe: *H. annosum* sensu stricto (s.s.), *H. parviporum* Niemelä & Korhonen, *H. abietinum* Niemelä & Korhonen (Korhonen & Holdenrieder, 2005). Each of these species is found in a specific part of the European continent from 64° North latitude to the South, thus representing the area where hosts are distributed (Capretti *et al.*, 1990 quoted in Asiegbu *et al.*, 2005; Korhonen & Stenlid, 1998). Fungi in the *Heterobasidion annosum* s. l. complex are present on almost 150 - 200 host species, mainly on coniferous trees. In the Northern part of Europe, its main hosts are coniferous trees, and damage caused by the fungi is mainly on pine (*Pinus sylvestris* L.) and spruce (*Picea abies* (L.) Karst). In Latvia, the proportion of rotten spruce in stands is up to 21.8 %, and up to 83 % in some individual stands (Arhipova *et al.*, 2011).

It has been found that *Heterobasidion* spp. is not the only cause of root rot on coniferous trees. Research conducted in Finland has shown that in 80 % of cases, the primary cause of rot in spruce stands is *Heterobasidion* species, in 10 % of cases it is caused by *Armillaria* spp., and in 5 % by *Stereum sanguinolentum* (Korhonen & Piri, 2003).

There are two ways of infection with *Heterobasidion*: either by basidiospores distributed by wind and through root contact, or by fungi mycelium (Anselmi & Nicolatti, 1997). *Heterobasidion* has both sexual reproduction (basidiospores) and asexual reproduction through conidiospores (Redfern & Stenlid, 1998).

The distribution and development of *Heterobasidion* spp. spores is affected by species of the trees, stump diameter, tree age, season when the trees are cut (Morrison & Johnson, 1999), as well as temperature, humidity, wind, density of vegetation, germination success of the spores, presence of other rival organisms within the wood, size of fruit bodies, and the distance between the target and *Heterobasidion* fruit body (Redfern & Stenlid, 1998).

It has been found that forest management activities like harvest during the vegetation period are the primary facilitator of spore distribution (Kallio, 1970). The infection is commonly distributed in previously uninfected forest stands by infecting freshly cut stumps with spores. The infection level depends on competition with other fungi colonizing the wood (Berglund, 2005a; Redfern & Stenlid, 1998).

Until now, it had been assumed that *Heterobasidion* cannot infect stumps with small diameter (up to 14 cm) and sustain a long-term vital capacity (Dimitri *et al.*, 1971; Vollbrecht, Gemmel & Pettersson, 1995b; Bendz-Hellgren & Stenlid, 1998). There are several studies conducted in the world that have shown the opposite (Rishbeth, 1951; Morrison, 1989; Morrison & Johnson 1999; Gunulf *et al.*, 2009; Oliva *et al.*, 2011). *Heterobasidion* is not the only cause of infection in small-dimension stumps. Stumps are also exploited by *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich, an antagonist of *Heterobasidion*, which protects stump wood from infection by *Heterobasidion* (Risbeth, 1959). The latest studies have reported a decrease of economic value of timber in spruce stands in Latvia caused by root rot rounds up to 800 – 4790 EUR per ha during general thinning (Gaitnieks *et al.*, 2008). Thus there is need to examine additional options for decreasing the infection risk during the initial development period of forest stands.

## **1.2. The objective of the promotion paper**

To determine the role played by small stumps of spruce *Picea abies* and pine *Pinus sylvestris* in the distribution of *Heterobasidion* spp. after commercial thinning; to evaluate the impact of natural *Phlebiopsis gigantea* infection on the development of *Heterobasidion* spp.

## **1.3. Research tasks of the promotion paper**

1. To evaluate the susceptibility of small-dimension spruce and pine stumps (diameter 2 – 14 cm) against *Heterobasidion* spp. basidiospore infection.
2. To determine the density of *Phlebiopsis gigantea* in small-dimension conifer tree stumps and the role *P. gigantea* plays in restricting *Heterobasidion* spp.
3. To determine the pre-commercial thinning seasonal effect on *Heterobasidion* spp. infection in small-dimension stumps.
4. To determine the development dynamics of *Heterobasidion* spp. in small-dimension spruce and pine stumps.

## **1.4. The thesis of the promotion paper**

1. *Heterobasidion* can infect small-dimension conifer tree stumps after pre-commercial thinning.
2. Natural infection caused by *Phlebiopsis* decreases the risk of small-dimension stumps infection with *Heterobasidion* spp.

### **1.5. Scientific novelty**

The first study conducted in the Baltic States on *Heterobasidion* infection in small-dimension spruce stumps after thinning.

The first study in the world assessing the infection of pine stumps by evaluating the mycelial area of the pathogen.

The first study in the world simultaneously analysing the development dynamics of *Heterobasidion* and *P. gigantea* infection in small-dimension spruce and pine stumps.

### **1.6. Practical impact**

The recommendations presented by this promotion paper have been included in forest regeneration and tending guidelines issued by JSC “AS Latvijas valsts meži”, stating that, in order to limit infection of new root rot clusters in spruce stands higher than 2m being, their tending should be planned within the first and/or the fourth annual quartiles. Protection of pine stumps against *Heterobasidion* infection in young stands is not necessary because it rapidly decreases during the first years after commercial thinning in young stands; additionally, the protection of pine stumps is facilitated by *Phlebiopsis gigantea* invasion.

### **1.7. Structure and volume of the promotion paper**

The first chapter of the promotion paper deals with summary of research conclusions on damage caused by *Heterobasidion* complex species *Heterobasidion annosum* sensu lato (s.l.), factors affecting the damage, and options to limit the damage. The first sub-chapter describes the geographical distribution and hosts of *Heterobasidion* spp. species. The second sub-chapter describes biological qualities of *H. annosum* by describing its primary and secondary distribution channels, summarizing information on distribution of *H. annosum* via basidiospores and conidiospores, and their role in development of infection. It describes factors like seasonality of sporulation and occurrence of fruit-bodies and their influence on sporulation and primary infection. This sub-chapter also summarizes information on the distance of spore distribution and the productivity of sporulation of fruit-bodies, as well as it contains conclusions on secondary infection caused by root contact and its significant impact on the remaining trees within the stand. It summarizes information on facilitating factors of stump infection and conclusions of studies done on the importance of small diameter stumps in the spread of root rot. The final part of the sub-chapter describes the features of infected stands - the difference between spruce and pine and their susceptibility against *Heterobasidion*. The third sub-chapter summarizes information on the economic losses caused by *Heterobasidion* spp. The fourth sub-chapter describes options on restricting *Heterobasidion* spp. establishment by preventing of limiting the primary and secondary risks of infection.

The fifth sub-chapter describes the environmental impact of *Heterobasidion* spp. The second chapter describes the research material and methods. The third chapter analyses the research results. Its first sub-chapter evaluates the susceptibility of small dimension spruce and pine stumps against infection of *H. annosum* basidiospores. The second sub-chapter characterizes the distribution of *P. gigantea* in small dimension conifer tree stumps and their impact on restricting *Heterobasidion* spp.. The third sub-chapter analyses the seasonal impact on small-dimension stump infection with *Heterobasidion* spp. after commercial thinning. The fourth and final sub-chapter characterizes the development dynamics of *Heterobasidion* spp. in small-dimension stumps.

The promotion work consists of 79 pages, the information is gathered in 9 tables and visualized in 17 figures; 156 sources of literature have been used.

## **1.8. Approbation of research results**

The research results have been summarised in five publications and presented in eleven scientific conferences.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

### **2.1. Description of empirical material**

The sampling plots chosen for the research are located in Koknese district, Vidusdaugava region, in Madona district, Ziemeļlatgale region, and in forest observation station in Kalsnava forest district, all belonging to JSC “AS Latvijas valsts meži” (LVM).

To describe the distribution of *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea* in conifer tree stumps located in Madona district, Ziemeļlatgale region and forest observation station in Kalsnava forest district, a total of 48 sampling plots were established in conifer stands during the period from 2006 to 2013. A total of 5554 trees (2877 spruce and 2677 pine) were cut in the sampling plots.

In order to assess the impact of pre-commercial thinning time on small-dimension stump infection with *Heterobasidion* spp. basidiospores, 10 forest stands in Koknese district, Vidusdaugava region were selected. Commercial thinning in these stands was done in March, July, and December, 2013. Discs from spruce and pine stumps were obtained in one of the selected studied stands. One tree species was analysed in each of the other stands. The research stands were located within 0.6 - 12 km distance from one another. A total of 1024 discs from conifer tree stumps (568 spruce and 456 pine stumps) were obtained.

To assess the development dynamics of *Heterobasidion* spp. mycelium in small dimension spruce and pine stumps, repeated sampling of stumps was done in 14 sampling plots after 14 - 35 months. Wood samples were obtained from stumps where *Heterobasidion* spp. infection was observed during the previous assessment.

A total of 1235 stumps were analysed. In most sampling plots, thinning was done 23-25 months prior to collection of wood samples; in two sampling plots, the stumps were exposed for longer periods (27 and 35 months, respectively) and in only one sampling plot the stumps were analysed repeatedly after 14 months of thinning.

## 2.2. Field work

To characterize the distribution of *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea*, the trees were cut during the warmth period of the year (June - September) when the fruit-bodies of the fungi sporulate, when there is a sufficient amount of spores present in the air for infection of unprotected wood. Trees that were located at distance > 2m from the conifer tree stumps of previous generation and dead standing were selected for cutting. This was done to prevent cases when trees might have been infected by *Heterobasidion* spp. infection via root contact (Stenlid 1987a). To make sure that sampled trees had not been infected by *Heterobasidion* spp. via root contact, a disc, t.i., a wood sample, sawn from the stump after thinning, was obtained which was further sent to LVMI "Silava" laboratory for analysis. To be able to repeatedly identify each stump within the young stands, a number plate was stapled to the surface of each stump. This number was written on the top side of each disc taken. Stump wood samples from the sampling plots were obtained 7 - 261 weeks after thinning. About 40 - 194 discs were obtained from each sampling plot. The average diameter of stumps used in this study was from 2 to 14 cm. At sampling times, two discs were sawn from the stumps (AB and BC, Fig. 2.1.), each of 2 - 3 cm width. A stump identification number on the top surface of the second disc was written using a marker. All the upper discs were discarded (AB, Fig. 2.1.) and only the bottom discs were sent to LVMI "Silava" laboratory for further analysis (BC, Fig. 2.1.).

The obtained discs were packed in separate polyethylene bags and delivered to the laboratory, where they were stored in a cold room.

## 2.3. Laboratory analyses

To prepare the discs for assessment of *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea* distribution, the discs were peeled and washed under running tap water in the Laboratory of forest mycology and phytopathology (LVMI "Silava"). Then the discs were placed vertically on their edges, placed in partly open polyethylene bags to ensure air circulation, and then incubated for seven days at temperature 20 °C.

**Identification of *Heterobasidion* spp. infection in the obtained stump wood sample discs.** After the incubation period, the discs were analysed by using a stereo microscope LEICA MZ 16 with 25x magnification. A grid with mesh size 0.7 cm was placed and secured on each disc. Infection of discs by *Heterobasidion* spp. was identified by *Heterobasidion* spp. conidiophore development on their surface at a sufficient humidity level (Kallio, 1970). If at least one *Heterobasidion* spp.

conidiophore was observed in a grid cell, it was marked on the disc surface by a waterproof marker. The total number of squares infected by *Heterobasidion* spp. on a single disc was calculated as the sum of the area of all marked cells (the area of one cell was 0.49 cm<sup>2</sup>). Even if a single cell was marked on the disc, it was considered as being infected. Infection was expressed as percentage of infected discs. The contours of all infected discs and the marked dots on them were copied on a transparent membrane. Disc area  $S(D)$  and diameter  $d$  were calculated by from the disc contour drawn on the membrane by a planimeter (Tamaya Planix 10S; function *Stream Area* ( $\pm 1$  mm<sup>2</sup>)):

$$d = 2 \times \sqrt{S(D)/\pi} , \tag{2.1}$$

Alternatively, the diameter ( $d$ ) of the uninfected discs was determined by average value of two perpendicular measurements ( $\pm 1$  mm) made with a ruler.

**Determination of *P. gigantea* occurrence in wood sample discs.** The presence of *P. gigantea* was determined by orange-brown colour and morphological characteristics of mycelium (needle-shaped hypha covered with calcium oxalate crystals) on the wood discs after a seven-day incubation period in polyethylene bags. The area occupied by *P. gigantea* and the total area of the disc was outlined on a transparent membrane using a marker. The area occupied by *P. gigantea* and the total disc area were measured using a planimeter (Tamaya Planix 10S; function *Stream Area* ( $\pm 1$  mm<sup>2</sup>)).

**2.4. Statistical analysis**

The obtained results were processed in Microsoft Excel software. The average values and standard errors were calculated. The data analysis was done using program R 2.15.0 (R Development Core Team, 2012). Correlation between the area of sawn stump surface and the area occupied by *Heterobasidion* spp. or *P. gigantea* was calculated. The occurrence of *P. gigantea* and *Heterobasidion* spp. in small diameter infected stumps of different tree species was compared using Fisher’s exact test or t criterion ( $\alpha = 0.05$ ) (compared with theoretical values). The areas occupied by fungi were compared using the Mann - Whitney U test.

Effect of tree species, stump diameter, and area occupied by *P. gigantea*, and also effect of time when samples were obtained, on the area occupied by *Heterobasidion* spp after thinning, was tested using Analysis of Varivance in the statistical software SPSS 14.0. (SPSS Inc., 2005).

Before analysis, the data on area occupied by *Heterobasidion* spp. was arcsin transformed.

### 3. RESULTS AND DISCUSION

#### 3.1. Susceptibility of small-dimension spruce and pine stumps to infection by *Heterobasidion* spp. basidiospores

In total, 4530 small dimension (2 cm to 14 cm) stump wood discs were analysed, including 2309 spruce and 2221 pine discs.

It was found that 48 % of spruce stumps and 12 % of pine stumps were infected by *Heterobasidion* spp. in the sampling plots. The infection frequency significantly differed between the tree species ( $p < 0.01$ ). The frequency of infected stumps in pine sampling plots ranged between 0 and 63.16 %, and in in spruce sampling plots range between 1.34 and 86.52 %. The average wood sampling period after thinning did not significantly differ ( $p = 0.06$ ) between pine ( $47 \pm 10$  weeks) and spruce ( $53 \pm 19$  weeks) sampling plots, which allowed to compare susceptibility of tree species to *Heterobasidion* spp. infection. Our results for spruce were similar to those of Gunulf *et al.* (2012b).

The number of small-dimension stumps infected by *Heterobasidion* basidiospores significantly differed between the two conifer species. Previous research conducted in Latvia in mixed stands of spruce and pine found that 4 months after thinning, *Heterobasidion* was present in 81 % to 85 % of spruce stumps and in 0 % to 14 % of pine stumps. In that study, tree age in the two studied sampling plots was 36 and 51 years respectively, and the average diameter of analysed spruce and pine stumps was 14 and 17 cm (Kenigvalde *et al.*, 2015).

Better spore germination on sawn discs was observed in pine wood (Dimitri *et al.*, 1971) compared with spruce, and more pine stumps infected by *Heterobasidion* were found in mixed stands compared to other conifer species (Greig, 1962), which can be explained by the *Heterobasidion* species inoculum (spore concentration in the air, infected stumps of the previous generation) in a particular stand, as well as by suitable environment for the development of *Heterobasidion* mycelium - root contact, soil characteristics, presence of antagonistic microflora, etc. However, successful spore germination does not characterize further mycelium development in the soil. In a study in Finland it was observed that most of the infection spores in stumps sooner or later disappeared (Swedjemark & Stenlid, 1993). In Finland, 15 months after commercial thinning, the ratio of infected stumps in spruce and pine stands was 4 % and 2 % respectively. The that study, spruce stump diameter was 12 cm in a 46-year-old stand and pine stump diameter was 10 cm in a 29-30-year old stand (Lipponen, 1991). Fungi presence in this stand was not observed before and after thinning. Differences in the infection level of tree species could be explained by wood characteristics and their resistance against *Heterobasidion* spore infection - pine stem wood is rather resistant against *Heterobasidion annosum* infection due to phenol and resin content in the wood (Rishbeth, 1972; Korhonen *et al.*, 1998a; Gonthier & Thor 2013). *Heterobasidion* infection is also affected by antagonistic,



wood-colonizing fungi (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2013).

A significant effect of stump diameter on infection level ( $p < 0.001$ ) was shown (Fig. 3.1.), as in other studies (Paludan, 1966; Solheim, 1994; Bendz-Hellgren & Stenlid, 1998). It was observed (Rishbeth, 1951) that the infection level was 6.7 % of pine stumps in the diameter class 5 - 7 cm, 16.7 % stumps in the class 8 – 13 cm, and 46.7 % stumps in the class 14 – 20 cm. The data obtained during the promotion research also showed that the level of stump infection with *Heterobasidion* significantly increased ( $p < 0.001$ ) with stump diameter.

The infection level of spruce stumps in advance growth has been observed to be higher than on stumps in young spruce stands. *Heterobasidion* mainly infects sapwood (Johnsson *et al.*, 2002; Swedjemark & Stenlid, 1993; Berglund & Rönnberg, 2004). The trunk wood in a spruce tree develops after 20-30 years of age (Dimitri, 1969), and, since the age of analysed trees in advance growth was 35 – 68 years (average 54 years), it is possible that this aspect has a large impact on the stump infection level with *Heterobasidion* spores.

Stump infection with basidiospores is affected by the width of annual rings. Manka (1974) observed greater incidence of infection on stumps with wider annual rings. The analysed stumps in advance growth had narrow annual rings. However, studies conducted in Finland have shown that understory spruce is more susceptible to secondary infection (Piri dissertation and quoted literature). It is possible that stumps of spruce grown under pine are more susceptible against *Heterobasidion* spore infection.

It is considered that the vitality of spruce stumps in young stands has effect on resistance against *Heterobasidion annosum* infection. Several studies have characterized stumps as “alive” for 3 - 5 years in conditions when their roots are in contact with those of nearby trees, thus facilitating their resistance against *Heterobasidion annosum* infection (Morrison & Johnsson, 1999). Such root contacts/coalescence definitely had formed in the selected spruce stands, because in most cases the distance between the cut and growing trees was less than 2 meters. A previous Finnish study (Piri, 2003) examined the secondary distribution of *Heterobasidion* on spruce growing under a dominant tree layer. Our study was the first to determine infection of spruce stumps of advance growth with *Heterobasidion* basidiospores. The average area occupied by infection in stumps significantly differed ( $p < 0.001$ ) between tree species (spruce - 6.26 cm<sup>2</sup> or 17.55 %, pine - 2.79 cm<sup>2</sup> or 8.45 %). In studies conducted in Sweden the average area in spruce control stumps occupied by *Heterobasidion* was estimated to be 1.3 cm<sup>2</sup> (Rönnberg *et al.*, 2006) and 21.3 cm<sup>2</sup> (Berglund *et al.*, 2005b) respectively. The diameter of spruce stumps in the those studies was 14 - 21 cm. The two studies differed in time of assessment after thinning: *Heterobasidion* mycelium covered more than 20 cm<sup>2</sup> of the analysed disc area in control stumps were assessed 9 months after thinning, while in the other study stumps were assessed 3 months after thinning. Berglund and

Rönnerberg (2004) estimated that three months after thinning, the average stump area occupied by *Heterobasidion* was 5.3 cm<sup>2</sup> and the area after 12 months was 8.8 cm<sup>2</sup>. The distribution of the mycelium of *Heterobasidion* in Sitka spruce stumps was observed to occur in a radial direction (Redfern, 1993). The observed large stump surface area infected by *Heterobasidion* described in Sweden might be due to large *Heterobasidion* natural infection (Berglund *et al.*, 2005b), as in one of the analysed stands 60 % of the stumps were infected, and in the two other stands 100 % of the control stumps were infected. Significant difference between stands (Redfern *et al.*, 2001) and stumps (Redfern *et al.*, 1997) was found in frequency of *H. annosum* and fungi mycelium development in Sitka spruce in stumps in Great Britain. It is believed that such rapid differences affected the results of the study in Sweden. In small-dimension spruce stumps in Sweden, the area occupied by *Heterobasidion* in 6 cm stumps was on average 3.4 cm<sup>2</sup> (Gunulf *et al.*, 2012b), which is almost twice less than in the present research conducted in Latvia. This difference can be explained by age of the analysed stands - average 11 years in the Swedish study and average 24 years in the Latvian study.

There have been few studies available in the literature in which the area occupied by *Heterobasidion* in infected pine stumps was estimated. In Sweden, on stumps of *Pinus sylvestris* with average diameter of 19 cm, 5 - 8 months after thinning, the average area occupied by *Heterobasidion* 3.3 was (0.5 – 7.2) cm<sup>2</sup> (Rönnerberg *et al.*, 2006a). This level of infection was rather similar to estimates made in the present study – 4.8 cm<sup>2</sup>, but the frequency of stumps infected by *Heterobasidion* was much higher in Sweden (7.8 % – 37.8 %, average 23 %), which can be explained by the larger diameter of studied stumps.

A conclusion of the present study was that stump diameter significantly affects the area occupied by *Heterobasidion* for both spruce and pine species ( $p < 0.01$ ) (Fig. 3.2.).

The increase of the area occupied by *Heterobasidion* with increasing stump diameter (the diameter of analysed stumps was 5 - 25 cm) was verified in other studies on conifer species in pre-commercial thinning areas: *Pseudotsuga menziesii*, *Tsuga heterophylla*, *Abies amabilis* and *Picea sitchensis* (Morrison, 1989; Morrison & Johnson, 1999). The present study found a significant effect of tree age at time thinning on the area occupied by *Heterobasidion* spp. in spruce stumps ( $p = 0.001$ ), whereas the effect was not significant in pine stumps ( $p = 0.06$ ). The age of the analysed pine stands was 10 to 28 years.

### **3.2. The distribution of *P. gigantea* in small-dimension conifer tree stumps and their impact on restricting *Heterobasidion* spp.**

Many authors have described an effect of competitive fungi colonizing fresh stump surfaces on *H. annosum* infection (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2013). Of these, *Phlebiopsis gigantea* must be noted as the most

significant. In contrast with *H. annosum*, this wood-degrading basidiomycete does not endanger growing trees and the antagonistic features of the fungus are used to produce biological preparations containing *P. gigantea* spores (Holdenrieder & Greig, 1998; Vasiliauskas *et al.*, 2005a; Thor *et al.*, 2006). The preparations are made to restrict the distribution of *H. annosum* after thinning. In the assessment of the susceptibility of small-dimension conifer tree stumps against *P. gigantea* infection, the distribution of *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea* – the fungi primarily colonizing stumps - was evaluated in 17 spruce and 15 pine sampling plots. In total of 2721 stump discs - 1563 spruce and 1158 pine discs - were obtained in the sampling plots.

*P. gigantea* was found in 0 - 35 % (average of 12.6 %) stumps assessed in spruce sampling plots, and in 7 - 100 % (average on 67 %) stumps assessed in pine sampling plots. The proportion of spruce and pine stumps infected by *Heterobasidion* in sampling plots of both species was 55 % and 13 % respectively.

*P. gigantea* infection in spruce stumps was observed to slightly increase with stump diameter and to increase significantly ( $r = 0.518$ ;  $p = 0.102$ ), in pine stumps ( $r = 0.827$ ;  $p = 0.003$ ) (Fig.3.3.).

In Sweden, the efficiency of processing small diameter stumps with Rotstop (preparation containing *P. gigantea* spores), estimated by effect on *H. annosum*, increased with stump diameter (Gunulf *et al.*, 2012b), which might be explained by a more suitable and stable moisture level in larger stumps for development of *P. gigantea* mycelium. It was also observed in Lithuania that the area of *H. annosum* and *P. gigantea* fruit-bodies increased with stump diameter (Vasiliauskas *et al.*, 2002). Already in the 1960ies, Meredith (1960) concluded that 4 years after tending, *P. gigantea* dominates in pine stumps of diameter of 15 - 25 cm, while other wood-colonizing fungi were more common in smaller stumps.

The area occupied by *P. gigantea* in spruce and pine stumps was found to significantly increase with stump diameter:  $r = 0.695$ ;  $p < 0.05$  and  $r = 0.915$ ;  $p < 0.001$ , respectively (Fig.3.4.).

The present study found that the stump infection level with *P. gigantea* and *H. annosum* increased with stump diameter, but more rapidly for *P. gigantea*, which can be explained by its preference for pine wood (Rishbeth, 1959). Thus, our results verify conclusions drawn by other authors (Webber & Thorpe, 2003; Korhonen, 2003). The more rapid increase of area occupied by *P. gigantea* with stump diameter in both tree species, compared to that of *H. annosum*, can be explained by the radial development of *P. gigantea* mycelium on the wood surface (Tubby *et al.*, 2008). The occurrence of *P. gigantea* in stumps also increases over time, in contrast to that of *H. annosum* (Berglund & Rönnberg, 2004).

The presence of natural *P. gigantea* infection does not guarantee stump resistance against *Heterobasidion* spore infection (Annesi *et al.*, 2005; Rönnberg *et al.*, 2006a; Drenkhan *et al.*, 2008). However, our study showed that the local population of *P. gigantea* had a protective effect against *Heterobasidion* infection of conifer tree

stumps. For example, more spruce stumps infected by *Heterobasidion* occurred in sampling plots with lower occurrence of stumps infected by *P. gigantea*.

In the sampling plot where both tree species were present, 79 % of pine stumps were infected by *P. gigantea*, but the fungi was not found in spruce stumps. This might be explained by the three times higher infection rate of spruce stumps (28 %) by *Heterobasidion*, compared to that of pine stumps (8 %). The infection level in stumps is affected by local spore sources of *Heterobasidion* and *P. gigantea* (Stenlid, 1994; Rishbeth, 1959), but in this case, stumps of both tree species were exposed to identical infection background. The average area infected by *P. gigantea* in spruce stumps was 4.92 % (1.70 cm<sup>2</sup>) and 55.39 % (20.27 cm<sup>2</sup>) in pine stumps. The average area occupied by *P. gigantea* and *Heterobasidion* in spruce and pine stumps significantly differed between fungal species ( $p < 0.05$ ) (Fig.3.5.).

In two mixed spruce and pine stands in Latvia, *H. annosum* was observed on average in 83 % spruce stumps and 7 % pine stumps, 4 months after thinning conducted in June (Kenigvalde *et al.*, 2015). The average area occupied by *P. gigantea* in that experiment was 39 % of surface area in spruce stumps and 67 % in pine stumps. The observed rather large surface area in spruce stumps with presence of *P. gigantea* can be explained by the large number of *P. gigantea* fruit-bodies in the sampling plots. The fruit-bodies ensured a very high background level of *P. gigantea* infection - *P. gigantea* was present in 100 % of the analysed spruce stumps. However, the differences between the area occupied by the fungi in the tree species indicates the role of *P. gigantea* in limiting *H. annosum* spore infection in pine stumps.

Previous studies conducted at LVMI “Silava” showed that *Heterobasidion* spp. and *P. gigantea* are often simultaneously present in spruce stumps (Kenigvalde *et al.* 2015). High occurrence of *P. gigantea* fruit-bodies has been found on cut spruce and large dimension thinning products in spruce stands that were heavily infected by *Heterobasidion*. The studied two pine stands with high occurrence of *Heterobasidion* infection (48 % and 63 %), 85 % and 72 % stumps were also contained infected by *P. gigantea* and 44 % stumps contained both fungi. *Heterobasidion* and *Phlebiopsis* share similar ecological niches, as both are primary wood-colonizing fungi, and at the time of thinning, suitable substrate and environment likely exists for development of both fungi (Rishbeth, 1959; Meredith, 1960). In the present study, a high background of *H. annosum* infection might have facilitated competition on the species level, which subsequently affected stump colonization with *P. gigantea*, as both species are primary wood-colonizing fungi.

In the present study both *Heterobasidion* and *Phlebiopsis* were found in 0 – 12 % (average 5.3 %) of studied spruce stumps, and 0 - 54 % (average 9.2 %) of pine stumps. The area occupied by *Heterobasidion* and *Phlebiopsis* in spruce and pine stumps significantly differed between fungal species ( $p < 0.05$ ) (Fig.3.6.).

In pine, increase of the area occupied by *P. gigantea* was associated with decrease of the area colonized by *Heterobasidion annosum* (Fig.3.7.). However, it was not

possible to precisely define the area occupied by *P. gigantea*, which might have affected these results, as it is known that area of both species increases with stump diameter (Kenigvalde *et al.*, 2015). In the present work the relationship between area of *Heterobasidion* and *Phlebiopsis* was modelled as weakly significant exponential functions  $y = 13.87x^{-0.052}$  ( $R^2 = 0.0032$  for spruce) and  $y = 12.195x^{-0.087}$  ( $R^2 = 0.0064$ ) for pine.

Of course, the development structure of *Heterobasidion*/*P. gigantea* mycelium in stumps after commercial thinning differs from mycelium development in smaller diameter stumps after pre-commercial thinning. The development of mycelium is affected by biotic and abiotic factors that vary with stump dimension and at stand and stump levels (Stenlid, 1987a; Redfern, 1982; Berglund & Rönnerberg, 2004). The moisture level in wood is likely the most significant factor affecting populations of stump-colonizing fungi. Stumps that have been colonized to a very large degree by *Heterobasidion* are potential infection sources in the future and a real threat to nearby growing trees and uninfected stumps. Of course, if a part of the respective substrate available to stumps is colonized by other fungi competing with *Heterobasidion*, the infection risk for forest stands significantly decreases. The results obtained by the paper on the differences of area occupied by *Heterobasidion* and *P. gigantea* in spruce and pine stumps (Fig.3.5.) and differences of area in stumps where both fungi were present simultaneously (Fig.3.6.) indicated the role of local *P. gigantea* populations on protection of conifer tree stumps against *H. annosum*.

Survey of the occurrence of *P. gigantea* in stumps in five sampling plots cut in July of 2012 showed that *P. gigantea* had infected 68-100 % (average of 88 %) stumps, and 7-73 % (average of 32 %) stumps in three sampling plots cut in August. In Finland it was reported (Kallio & Hallaksela, 1979) that stumps were more intensively infected by *P. gigantea* in spring, and that the infection level decreased in September. Apart from seasonality, the *P. gigantea* infection level observed in Latvia might have been affected by a high *Heterobasidion* spore background; poor efficiency of Rotstop against high natural *Heterobasidion* infection has been noted in several studies (Berglund & Rönnerberg, 2004; Berglund *et al.*, 2005b). However, in comparison with *Heterobasidion*, *P. gigantea* is more susceptible to desiccation (Rishbeth, 1959).

In general, it can be concluded that *P. gigantea* develops better in small-dimension pine stumps than in small-dimension spruce stumps, thus preventive actions against root rot after thinning in young stands during the warm period of the year is especially crucial for spruce stumps.

### **3.3. The pre-commercial thinning seasonal impact on small-dimension stump infection with *Heterobasidion* spp.**

Within ten sampling plots, a total of 1024 stump discs were obtained from small-dimension stumps (2 cm to 14 cm), including 568 spruce and 456 pine discs. Many

studies have shown that the highest risk of stump infection by *Heterobasidion* spores is during summer months (Yde –Andersen, 1962; Brantberg *et al.*, 1996; Kallio, 1970). The proportion of infected spruce stumps within stands ranges from 44 % to 100 % (Berglund & Rönnerberg, 2003; Berglund *et al.*, 2005b). However, these estimates have been made mostly after commercial thinning, while a large part of small-dimension spruce stumps can be infected in young stands (after pre-commercial thinning) (Berglund *et al.*, 2007). There is less information of infection of small-diameter pine. Rönnerberg estimated that (Rönnerberg *et al.*, 2006a) that the proportion of infected pine stumps in Sweden was 3.3 % – 46.7 % (average 23 %).

The present study showed that the *Heterobasidion* infection level in spruce/pine stumps cut in March was 1 % – 4 % pine stumps and 6 % – 7 % spruce stumps, and the average stump surface area occupied by *H. annosum* was 2.69 % – 5.47 % for both species. After cutting in July, *Heterobasidion* was found in 48 % – 89 % spruce stumps and only in 5 % – 8 % pine stumps; the average area occupied by *Heterobasidion* was 15 % in spruce stumps and 4 % in pine stumps. The observed infection levels after cutting in summer are similar to those reported in other studies (Gunulf *et al.*, 2012b).

*Heterobasidion* spp. infection in stumps located in stands where the commercial thinning was done in December was estimated to be 0 % in pine stands, 0-4 % in spruce stands. The average spruce stump surface area occupied by *Heterobasidion* spp. was 4.74 % – 14.32 %.

The obtained results show that proportion of stumps infected by *Heterobasidion* spp. did not differ between spruce and pine stands when pre-commercial thinning was done in March ( $p = 0.07$ ), but the *Heterobasidion* spp. infection level was significantly higher in spruce stumps when pre-commercial thinning was performed in July ( $p < 0.05$ ). Comparing the infection level in spruce and pine stumps between pre-commercial thinnings done in March and July, the *Heterobasidion* spp. infection level was higher in spruce and pine stumps cut in July ( $p < 0.05$ ). The infection level in stumps sawn in December was similar for spruce and pine ( $p = 0.34$ ). The infection level in spruce stumps significantly differed among all three thinning times ( $p < 0.05$ ), with the highest infection level after cutting in July, and the lowest in December. For pine, the infection level significantly differed between stands cut in July and December ( $p < 0.05$ ). Delatour *et al.* (1998) also reported that spruce stumps are highly susceptible against *Heterobasidion* spp. infection. The significant differences between spruce infection level in March and July can be explained by the dynamics of *Heterobasidion* spp. sporulation, which increases in the period from April to December, reaching peaks in June-July and in October (Kallio, 1970; Kallio & Hallaksela, 1979; Brandtberg *et al.*, 1996; Gonthier *et al.*, 2005). A study conducted in Latvia showed that *Heterobasidion* spp. sporulation increases in the middle of April and reaches maxima in August and September (Brauners *et al.*, 2014). The infection level in spruce stumps can be explained by the mild average temperature in December 2013(-9.6 °C to 5.4 °C; (average +1.5 °C) when the pre-

commercial thinning was conducted, as such conditions make *Heterobasidion* spp. spore distribution possible. The small infection level in pine stumps regardless of thinning period might be associated with wood susceptibility against various wood-colonizing fungi, for example, *P. gigantea*, which competes with *Heterobasidion* spp. by not allowing *Heterobasidion* spp. spores to develop on stump surface (Meredith, 1960; Tubby *et al.*, 2008; Kallio, 1970).

It must be pointed out that the ratio of stumps infected by *P. gigantea* in the two surveyed spruce stands was very different in July - 60 % and 2 %. This can be explained by presence of pines in the sampling plot with higher infection rate of spruce stumps infected by *P. gigantea*. Since *P. gigantea* primarily is a pine-colonizing fungus (Tubby *et al.*, 2008), this sampling plot had a larger background of *P. gigantea* spores due to availability of substrate suitable for development of *P. gigantea* fruit-bodies. A major aspect that determines the interaction between *Heterobasidion* and *P. gigantea* is the seasonality of these fungi, as also described by Meterdith (1959). Experimental study using mixtures of *Heterobasidion* and *P. gigantea* spores (Meredith, 1960) showed that when these fungi simultaneously colonize pine stumps and that *P. gigantea* has an explicit “advantage”. When the proportion of *H. annosum* and *P. gigantea* in the suspension was 100:1, after two weeks, the proportion of wood colonized by *H. annosum* and *P. gigantea* was 23:60; when the spore proportion was 5:1, the ratio reversed in the wood area occupied by the fungi (3:90) giving *P. gigantea* an advantage.

It is believed that stump infection by *Heterobasidion* and *P. gigantea* is largely determined by forest type and vegetation, which of course is affected by soil moisture level. The stump infection process is largely affected by individual characteristics of trees. In a Finnish study, the growth of 64 *P. gigantea* isolates was surveyed in spruce blocks obtained from 4 different trees. The study showed that the speed of fungal growth significantly differed among blocks from different trees (Sun *et al.*, 2009b). A study conducted in Poland on colonization success in spruce stumps (diameter 2 - 15 cm) after processing the stumps with Rotstop showed the importance of individual characteristics of trees on the distribution of infection. The experiment concluded that the number of infected stumps in 4 different stands was from 0 - 85 % (Zolcian, 2005).

Some *Heterobasidion* spores are deposited on needles (Rishbeth, 1959), but more spores are present in ground cover (Kallio, 1970). Temperature and humidity are crucial aspects in development of *Heterobasidion* spores (Gonthier *et al.*, 2005). *Heterobasidion* can be introduced in stumps during thinning (Gunulf *et al.*, 2016). Survey of stump discs after thinning in one sampling plot showed that *Heterobasidion* was present in 33 % of the analysed pine stumps; as infection was not found in discs cut at root level, it is likely that spores were deposited on the stumps from the bark during thinning. However, these infections were rather minor - in separate cases with only a few conidiophores, and small infections have lower chance to spread further in the wood (Swedjemark & Stenlid, 1993; Berglund &

Rönnerberg, 2004). An important aspect is the duration of susceptibility of stumps to *Heterobasidion* infection, as small diameter stumps desiccate quicker. It is considered that stumps can become infected by *H. annosum* for approximately a month after commercial thinning and general thinning. However, some authors believe that the stumps are susceptible against *Heterobasidion* for 1-2 weeks (maximum one month) (Rishbeth, 1951; Meredith, 1960; Yde-Andersen, 1962; Brantberg *et al.*, 1996; Johnsson *et al.*, 2002). Dr. Kari Korhonen stated that the most critical days for stump infection are the first four days after thinning (personal consultation). In any case, further development of *Heterobasidion* and/or *Phlebiopsis* in stumps will be determined by the stump surface area occupied by fungi, t.i., the primary infection area. The number of stumps infected by *Heterobasidion* was lower in December, but *P. gigantea* occurs also in winter, which is consistent with results obtained in other studies conducted by LVMI “Silava” Data obtained by other authors also verify that the risk of stump getting infected by *Heterobasidion annosum* during winter is lower (Yde-Andersen, 1962). However, taking into account the predicted climate change, one must bear in mind that the distribution of pathogen in our region will only increase (Burton *et al.*, 2010).

#### **3.4. The dynamics of *Heterobasidion* spp. mycelium development within small-dimension spruce and pine stumps**

The analysis includes data about fourteen sampling plots in which a total of 1235 stump discs were obtained from small-dimension stumps, including 781 spruces and 454 pine discs.

Analysis of the dynamics of *Heterobasidion* development in spruce stumps showed that mycelium retained its vitality in 5 % – 33 % (average 16.5 %) of analysed stumps. In 5 pine stumps in sampling plots where *Heterobasidion* spp. was initially found, *Heterobasidion* mycelium was no longer present. However, the initial infection level of *Heterobasidion* spp. in the pine stumps was significantly lower (average 11.0 %) in comparison with spruce stumps (average 45.7 %). Research conducted by other authors showed similar results regarding continued presence of *Heterobasidion* spp. mycelium in spruce stumps. In Germany, three years after commercial thinning in 16 - 20 years old spruce stands, the occurrence of infected stumps was 16 % (Schönhar, 1975). Solheim (1994) found that 1 - 2 years after thinning the ratio of occurrence of spruce stumps was 20 % (diameter 5 - 10 cm). Paludan (1966) also observed a similar infection level in spruce stumps with diameter of 3 cm. Berglund *et al.* (2007) found that after a similar period of time, 40 % of spruce stumps (diameter 5 - 7 cm) were infected by *Heterobasidion* spp. In studies conducted for the promotion paper, infection was found in 126 stumps after repeated analysis of previously infected stumps (358 pcs) after 14 - 35 months. The reduction of infection was by 20 – 80 stumps (59 %). Other studies (Berglund & Rönnerberg, 2004) that compared the *Heterobasidion* infection level in spruce stumps with



diameter of 15 - 19 cm in the period 3 and 12 months after thinning showed a decrease of infection level by 5 % – 50 % (average 18 %) in 7 stands. In Germany, three months after thinning *Heterobasidion* was present in 70 % of spruce stumps, but six months later the fungal mycelium was found only in about 20 % of stumps (Dimitri *et al.*, 1971).

The reason for decrease of infection occurrence might be due to the presence of antagonistic fungi as well as micro-organisms (Meredith, 1960; Dimitri *et al.*, 1971; Tubby *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2014). The development of fungal mycelium in stumps could be affected by precipitation (Morrison & Johnson, 1999) and soil moisture (Redfern, 1993). Small-dimension stumps are more exposed to desiccation (Hellgren & Stenlid, 1998). However, a very high moisture level in stumps can also affect development of *Heterobasidion* (Redfern, 1993), shown in a study on Sitka spruce sapwood and trunk wood infection with *Heterobasidion*.

In our study, the area occupied by *Heterobasidion* was extremely variable: 0.49 – 55.37 cm<sup>2</sup>, as previously shown by other authors who described stump susceptibility against *Heterobasidion* spore infection. For example, in Sitka spruce stumps artificially infected by *Heterobasidion* basidiospores, it was observed that the *Heterobasidion* area in 14 stumps varied from < 1 % to 95 %, whereas the *Heterobasidion* area in four artificially infected lodge-pole pine stumps was 3 % – 96 % (Redfern, 1982). It is believed that over time, most of the spore infection in stumps disappears (Swedjemark & Stenlid, 1993). Studies in Finland showed that it takes at least two genetically compatible homocatiotic *Heterobasidion* colonies to ensure mycelium development in stump wood (Möykkynen & Kontiokari, 2001). Literature defines one *Heterobasidion* colony as mycelium that has developed from one spore (Möykkynen *et al.*, 1997). Therefore, at least two spores are needed to ensure *Heterobasidion* mycelium growth in wood. Of course, the stump infection process is much more difficult. Only a part of spores distributed by *Heterobasidion* can grow after coming into contact with suitable substrate, which can be explained by different germination success of spores from different fruit-bodies (Redfern, 1982). Of the many spores that germinate on stump surface, usually only the mycelium of the most competitive genotype will grow in the wood (Korhonen & Holdenrieder, 2005). Of course, the amount of wood that was initially infected can significantly affect further development of pathogen in wood (Morrison & Redfern, 1994; Berglund & Rönnberg, 2004). The data collected in the promotion paper indicated that *Heterobasidion* infection mostly decreased (70 %) in spruce stumps where the area occupied by *Heterobasidion* initially was smaller than 10 % (Fig.3.8.).

In stumps with 11 % – 30 % surface area covered by *Heterobasidion* mycelium, the decrease of infection was 63 %; the smallest decrease of infection (55 %) was in stumps with initial infected area of 31 % – 80 %. Decrease of infection between the surface area classes “0 %-10 %” and “31 % – 80 %” significantly differed ( $p = 0.04$ ). However, *Heterobasidion* infection continued in a large number of stumps where the

initial area of infection was less than 10 %. In a large number of stumps (55 %), the infection was not found in repeated survey, even when a rather large stump area was initially infected (31 % – 80 % surface area). Continued development of mycelium is affected also by the “aggressiveness” of the *Heterobasidion* genotype, and sometimes very small colonies can occupy a rather large stump area after a longer period of time, and larger colonies can perish (Redfern *et al.*, 2001).

The continued presence of mycelium in wood is also determined by the initial amount of *Heterobasidion* spores reaching the surface of fresh stumps. Experiments with addition of suspension containing different concentration of *Heterobasidion* basidiospores to Sitka spruce stumps have shown that when the spore concentration on the stump surface is poor, a few but rather large colonies form. However, if the spore concentration is high, many small colonies form, and in such circumstances greater competition among different *Heterobasidion* genotypes can be observed (Redfern *et al.*, 1997).

Further continued growth of mycelium is also determined by the localization of the initial *Heterobasidion* infection. Most studies on conifer tree species showed *Heterobasidion* infection mainly in sapwood (Johnsson *et al.*, 2002), but more recent studies showed that trunk wood is more susceptible to *Heterobasidion* infection. It is possible that trunk wood infection affects further development of pathogen deeper in stump roots (Oliva *et al.*, 2013). Spruce can be infected by both *Heterobasidion* species found in Latvia - *H. annosum* and *H. parviporum*; however, when developing further in the stump, *H. parviporum* will have advantage as it has been adapted to development in spruce wood (Vasiliauskas *et al.*, 1998). Similarly, pine stumps can be infected by both *H. annosum* and *H. parviporu*; however, the proportion of *H. annosum* found in stumps was observed to be 93 %, while *H. parviporum* was found only in 7 % of stumps (Rönnberg *et al.*, 2006a). Therefore, not only the background of *Heterobasidion* spores determined by the presence of fruit-bodies is a crucial aspect in stump infection process (Yde-Andersen, 1962; Stenlid, 1994; Redfern *et al.*, 1994; Greig, 1962; Rishbeth, 1951, 1959), but *Heterobasidion* species is also a crucial factor. The disappearance of *Heterobasidion* mycelium in pine stumps can be connected with small number of initially infected stumps / infected area, compared to that in spruce stumps, and it also can be connected with the biological characteristics of antagonistic *P. gigantea*. As mentioned before, it has been verified that the proportion of *P. gigantea* in conifer tree stumps increases over time (Berglund & Rönnberg, 2004).

The studies conducted in the promotion paper found that small-dimension pine stumps decompose quicker than spruce stumps which might affect further fungi development in wood. *Heterobasidion* mycelium present in pine stumps can also be affected by the height of stumps used in experiments (approximately 50 cm). Further research should examine development of *Heterobasidion* mycelium in conifer tree stump roots.

## CONCLUSIONS

1. It was determined that spruce is more susceptible to *Heterobasidion* spp infection than pine, because on average 48 % of spruce and 12 % of pine small stumps (2 cm-14 cm) are infected with root rot. The difference in infection between tree species is statistically significant.
2. The diameter of conifer stumps significantly influences stump infection with *Heterobasidion* spp., with a high correlation in both species, but the correlation is slightly lower in spruce compared to pine. It was determined that with increasing stump diameter, the relative area occupied by the fungus on the stump surface also increases, with a close correlation between diameter and area in both tree species.
3. Natural *P. gigantea* infection has a significant protective effect against *Heterobasidion* spp infection in pine stumps, as natural *P. gigantea* infection was found in 7 % of spruce and 73 % of pine stumps. Differences in infection levels between tree species is statistically significant.
4. With increasing stump diameter, *P gigantea* infection increases significantly only in pine, confirming that *P gigantea* is primarily a pine wood colonizing fungus.
5. The diameter of the stump has a significant effect on the area occupied by *P. gigantea* in spruce and pine stumps. With increasing stump diameter, the area colonized by *P. gigantea* increases more rapidly in pine stumps, suggesting that natural *P. gigantea* infection provides better protection against of *Heterobasidion* spp. infections for pine small dimension stumps compared to spruce.
6. Comparing seasonal effects on *Heterobasidion* spp. spore infection, it was found that 7 % of spruce stumps and 2 % of pine stumps were infected after pre- commercial thinning done in March, while 63 % of spruce stumps and 7% of pine stumps were infected after pre-commercial thinning in July. In December, the infection of the harvested tree stumps between the two species was not significantly different: *Heterobasidion* spp. infected pine stumps were not found, but 2 % of spruce stumps were infected. Stumps are exposed to a significant risk of spore infection in spring-autumn, when the daily mean air temperature is above 5 °C.
7. Repeated observations of stumps that were previously infected by *Heterobasidion* spp. showed that on average, after 2 years, the infection level in small dimension spruce stumps decreased by 60 %, but in pine stumps infection was not detected.