

Baltalkšņa ietekme uz egļu sakņu rizosfēras mikrofloru un tās antagonismu pret *Heterobasidion annosum*

N. Arhipova, T. Gaitnieks, LVMI „Silava”, V. Nikolajeva, L. Vulfa, A. Mihailova, LU
Bioloģijas fakultāte

Kopsavilkums: Lai novērtētu baltalkšņa *Alnus incana* (L.) Moench. ietekmi uz egļu *Picea abies* (L.) Karst. sakņu rizosfēras mikrofloru, trīs parauglaukumos ievākti augsnes paraugi - attiecīgi egļu un baltalkšņu sakņu zonā. Parauglaukumi ierīkoti egļu-baltalkšņu mistrotās audzēs. Kontrolei augsnes paraugi ievākti arī blakus esošajās egļu tīraudzēs. Mikrofloras raksturošanai izmantotas atšķaidījuma, kā arī augsnes piciņu apauguma metodes. Analizēts augsnes mikrofloras antagonisms pret *Heterobasidion annosum*. Raksturots arī sakņu rizosfēras un atsevišķi izdalīto mikroskopisko sēņu antagonisms pret *H. annosum*.

Iegūtie rezultāti liecina, ka egļu sakņu rizosfērā mistrotās audzēs mikroskopisko sēņu daudzums ir lielāks [$(3,6 \pm 0,6) \times 10^3$] kvv/g] nekā egļu tīraudzēs [$(2,0 \pm 0,2) \times 10^3$] kvv/g]; $P < 0,01$. Egļu un baltalkšņu sakņu rizosfērā mistrotās audzēs salīdzinājumā ar egļu sakņu rizosfēru tīraudzēs mikroskopisko sēņu daudzveidība ir lielāka. Konstatēts, ka baltalkšņu sakņu rizosfērā sastopams vairāk *Trichoderma* spp., nekā egļu sakņu rizosfērā. No egļu un baltalkšņu sakņu rizosfēras (mistrotās audzēs) izdalīto mikroskopisko sēņu starpā bija vairāk pret *H. annosum* antagonistisku sēņu celmu, salīdzinot ar mikroskopiskajām sēnēm, kas izdalītas no egļu sakņu rizosfēras tīraudzēs.

Nozīmīgākie vārdi: antagonisms, rizosfēra, mikroflora, *Alnus incana*, *Picea abies*, *Heterobasidion annosum*.

...

N. Arhipova, T. Gaitnieks, LFRI „Silava”, V. Nikolajeva, L. Vulfa, A. Mihailova, University of Latvia. **Impact of grey alder on microflora of rhizosphere of Norway spruce and on its antagonism against *Heterobasidion annosum***

Abstract. To evaluate the impact of grey alder *Alnus incana* (L.) Moench on the microflora of root rhizosphere of *Picea abies* (L.) Karst., in mixed spruce-alder stands, there were collected soil samples in three sample plots in the root zone of grey alder and spruce, respectively. Soil samples from the adjoining stands were taken for the control. The microflora dilution as well as the soil-clot methods were used. The soil microflora antagonism against *Heterobasidion annosum* was also analysed. The antagonism of the root rhizosphere and also of some isolated microscopic fungi against *H. annosum* was also described.

The obtained data show the amount of microscopic fungi in the root rhizosphere

of spruce in mixed stands [$(3,6 \pm 0,6) \times 10^3$ cfu/g] to exceed that for pure stands of spruce [$(2,0 \pm 0,2) \times 10^3$ cfu/g]; $P < 0,01$. In mixed stands the diversity of microscopic fungi in the root rhizosphere of spruce and alder is higher than in pure stands of spruce. It was found that the presence of *Trichoderma* spp. in the rhizosphere of grey alder was more abundant as compared to that of spruce. Out of total number of microscopic fungi isolated from the rhizosphere of spruce and grey alder in mixed stands the number of fungi antagonistic against *H. annosum* was higher compared with those isolated from the root rhizosphere in pure stands of spruce.

Key words: antagonism, rhizosphere, microflora, *Alnus incana*, *Picea abies*, *Heterobasidion annosum*.

...

Архипова Н., Гайтниецс Т., АГИЛН «Силава», Николаева В., Вулфа Л., Михайлова А., ЛУ. **Влияние ольхи серой на микрофлору ризосферы ели и её антагонизм к *Heterobasidion annosum***

Резюме. Чтобы оценить воздействие ольхи серой *Alnus incana* (L.) Moench. на микрофлору ризосферы ели *Picea abies* (L.) Karst., на трех опытных участках были взяты образцы почвы (в корневой зоне ели и серой ольхи соответственно). Как экспериментальные участки были использованы смешанные насаждения ели и ольхи. Для контроля образцы почвы были взяты на соседних участках в чистом по составу еловом насаждении. Для характеристики микрофлоры использован метод разведений и метод обростания почвенных комочков.

В данной работе проанализирован антагонизм почвенной микрофлоры, а также микрофлоры ризосферы ольхи к *Heterobasidion annosum*. Дополнительно проверен антагонизм отдельных штаммов почвенных грибов к *H. annosum*.

Полученные результаты свидетельствуют, что в ризосфере ели (в смешанных насаждениях) количество микроскопических почвенных грибов существенно больше [$((3,6 \pm 0,6) \times 10^3)$ кол./г] чем в ризосфере ели, растущей в чистой культуре [$((2,0 \pm 0,2) \times 10^3)$ кол./г]; $P < 0,01$. В смешанных насаждениях (в ризосфере ели и ольхи) отмечено большее разнообразие видов микроскопических грибов по сравнению с ризосферой ели в чистом по составу еловом насаждении. Также обнаружено что *Trichoderma* spp. в большем количестве встречается в ризосфере ольхи. Среди микроскопических грибов, выделенных из корневой зоны ели и ольхи (в смешанных насаждениях) количество антагонистических к *H. annosum* штаммов грибов больше в сравнении с грибами, выделенными из ризосферы ели (растущей в чистом по составу еловом насаждении).

Ключевые слова: антагонизм, ризосфера, микрофлора, *Alnus incana*, *Picea abies*, *Heterobasidion annosum*.

Ievads

Baltalksnis *Alnus incana* (L.) Moench. mežsaimniecībā tiek sekmīgi izmantots augsnes ielabošanai, lauksaimniecības zemju apmežošanai un degradētu meža zemju atjaunošanai (Huss-Danell, Lundmark 1988, Dawson 1990, Wheeler 1990, Kärki, Maltamo, Eerikäinen 2000). Konstatēta skujkoku ražības paaugstināšanās, ja piemistojumā ir *Alnus* sp. (Tarrant 1961, Melzer 1990). Taču *Alnus* sp. ietekmē arī augsnes rizosfēru un mikrofloru (Schalin 1966, Hudson 1993). Turklāt *Alnus* sp. nomāc augsnes patogēno mikrofloru skujkoku audzēs (Tarrant, Trappe 1971, Li, Lu, Trappe, Bollen 1972). Ir norādes, ka baltalksnis samazina *Heterobasidion annosum* izplatību skujkoku audzēs (Ljunger 1959, Mikola 1966). Pētījumi liecina, ka vairums streptomicētu, kas izolētas no baltalkšņa rizosfēras, ir antagonistiskas pret *H. annosum* (Johansson, Marklund 1980). Konstatēta *Alnus rubra*

inhibējošā ietekme uz *Heterobasidion annosum* un citu patogēnu attīstību (Hutchins 1980). Citos pētījumos atzīmēts, ka liela priežu sakņu rizosfēras mikrofloras daļa ir antagonistiska pret *H. annosum* (Enikeyeva, Rudneva, Sizova 1972).

Darba mērķis - analizēt egļu sakņu rizosfēras mikrofloras izmaiņas baltalkšņu ietekmē, kā arī novērtēt mikrofloras antagonismu pret *H. annosum*.

Materiāls un metodika

Empīriskā materiāla ievākšanas vietas

Empīriskais materiāls tika ievākts 3 parauglaukumos egļu (*Picea abies* (L.) Karst.) – baltalkšņu (*Alnus incana* (L.) Moench.) mistrotās audzēs, kā arī blakus esošās egļu tīraudzēs (1.tabula).

Augsnes paraugi ievākti 10-15 cm dziļumā (vienā parauglaukumā – 3 vietās) attiecīgi egļu un baltalkšņu sakņu zonā.

1.tabula, Table 1

Parauglaukumu raksturojums
Description of sample plots

Parauglaukums, Sample plot	Mežsaimniecība/ virsmežniecība, Forestry/ forest district	Iecirknis/ mežniecība, Forest district/ forest site	Meža tips Type of forest	Kv., nog.	Audzes sastāva formula, Stand formula
Daugmale	Zemgales mežsaimniecība/ forestry	Misas iecirknis/ forest site	Vēris <i>Oxalidosa</i>	37. kv., 7. nog.	$9E_{35} 1Ba_{20}$
Embūte	Dienvidkurzemes virsmežniecība/ forest district	Skrundas mežniecība/ forest district	Vēris <i>Oxalidosa</i>	1. kv., 2.nog.	$8Ba_{35} 2E_{25}$
Viesīte	Dienvidlatgales mežsaimniecība/ forestry	Sēlpils iecirknis/ forest site	Damaksnis <i>Hylocomiosa</i>	228. kv., 14. nog.	$7E1Ba_{41} 2Ba_{31} + P, Os_{55}$

Laboratorijas darbu metodika

Augsnes mikrofloras salīdzinājums

Augsnes mikrofloras raksturošanai izmantotas šādas metodes:

1) atšķaidījumu metode. Sagatavoja augsnes suspensiju – 10 g augsnes uz 90 ml sterila destilēta ūdens (30 min. uz kratītāja KS-15). Pēc tam sagatavoja atšķaidījumu sērijas pēc vispār pieņemtās metodikas. Atšķaidījumus $1:10^5$; $1:10^4$; $1:10^3$; $1:10^2$ pa 0,2 ml uzsēja uz trim dažādām barotnēm trīs atkārtojumos (glicerīna-arginīna barotne – streptomicētēm; Torntona barotne – baktērijām un iesala barotne – mikroskopiskajām sēnēm). Kultivēja 20°C , kolonijas saskaitīja pēc septiņām dienām. Aprēķināja mikroorganismu kvv (koloniju veidojošo vienību) daudzumu vienā gramā augsnes (Alef, Nannipiri 1988).

Iesala barotne: iesala ekstrakts – 15 g, agars – 10 g, destilēts ūdens – 1000 ml.

Torntona barotne: K_2HPO_4 – 1 g; MgSO_4 – 0,2 g; CaCl_2 – 0,1 g; NaCl – 0,1 g; FeCl_3 – 0,001 g; KNO_3 – 0,5 g; asparagīns – 0,5 g; mannīts – 1,0 g; agars – 12 g; destilēts ūdens – 1000 ml.

Glicerīna-arginīna barotne: glicerīns – 12,5 g; L-arginīns – 1,0 g; NaCl – 1,0 g; K_2HPO_4 – 1,0 g; MgSO_4 – 0,5 g; $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 0,01 g; CuSO_4 – 0,001 g; ZnSO_4 – 0,001 g; MnSO_4 – 0,001 g; agars – 12 g; destilēts ūdens – 1000 ml (Vanderzant, Splittstoesser, 1992, Семенов 1990).

Dominējošās sēņu ģintis noteiktas, izmantojot mikroskopu „Leica DM4000b” (ar palielinājumu 100x – 400x) (Литвинов 1967).

2) augsnes piciņu apauguma metode (celulozi noārdošo mikroorganismu noteikšanai). Tika izmantotas 2 barotnes: Častuhina barotne (mikroskopiskajām sēnēm): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3,75 g; KH_2PO_4 – 2,5 g; MgSO_4

– 1,25 g; FeSO_4 – 0,01 g; MnSO_4 – 0,01 g; agars – 20 g; destilēts ūdens – 1000 ml; Kadota barotne (baktērijām): NaNO_3 – 0,5 g; K_2HPO_4 – 1 g; MgSO_4 – 0,5 g; FeSO_4 – 0,01 g; agars – 20 g; destilēts ūdens – 1000 ml. Barotnes pārklāja ar filtrpapīra gabaliņiem (diametrs – 7 cm). Augsni samitrināja ar sterilizētu ūdeni un mazas augsnes piciņas transformēja Petri platēs un inkubēja 10 dienas termostātā, 22°C temperatūrā (Захаров 1978, Gaitnieks, Berg, 1998).

Antagonisma pārbaude pret Heterobasidion annosum

Mikrofloras antagonisma pārbaudei pret *Heterobasidion annosum* izmantotas šādas metodes:

1) kopējās augsnes mikrofloras rezistences novērtējums (izmantojot augsnes piciņu metodi): tika izvēlētas divas viena vecuma *Heterobasidion annosum* testkultūras – Rb175 (S grupa) un 358 (P grupa) (izolāti iegūti Zviedrijas Lauksaimniecības Universitātē – R. Vasaitis). To kultivēšanai izmantoja iesala barotni. Testkultūru (*H. annosum* sporu suspensiju) uzsēja uz barotnes Petri platē un tūlīt uz tās novietoja 10 augsnes piciņas, lai pārbaudītu, vai ap piciņām izaugusi mikroflora nomāc *H. annosum* augšanu. Antagonisma novērtējums: antagonisms netika novērots, *H. annosum* kolonijas atrastas visas Petri plates laukumā; $\pm$ vājš antagonisms, *H. annosum* kolonijas aizņem apmēram 50% no Petri plates laukuma; + stiprs antagonisms, *H. annosum* kolonijas aizņem apmēram 25% no Petri plates laukuma; ++ ļoti stiprs antagonisms, *H. annosum* kolonijas netika konstatētas visā Petri plates laukumā. Atsevišķi atzīmēta *Trichoderma* spp. klātbūtne. Šīs sēnes aug ļoti ātri un pēc neilga laika aizņem visu Petri plati. *Trichoderma* spp. parazitē uz citām sēnēm un vienmēr ir antagonistiska pret *H. annosum* (Johnson, Curl, Bond, Fribourg 1965).

2) baltalkšņa sakņu rizosfēras ietekmes novērtējums uz *H. annosum* augšanu (izmantojot baltalkšņa sakņu gabaliņus): 0,5 ml *H. annosum* biezu suspensiju vienmērīgi izkliedēja uz Petri plates ar iesala barotni un platē ievietoja 5 vienāda lieluma baltalkšņa sakņu gabaliņus; inkubēja 10 dienas termostatā 20°C temperatūrā. Pēc tam novērtēja, kāda ir sakņu rizosfēras mikroorganismu ietekme uz *H. annosum* attīstību. Antagonismu novērtēja līdzīgi kā iepriekšējā metodē (Johnson, Curl, Bond, Fribourg 1965).

3) Biezo suspensiju agara bloku metode. No 7 dienu vecas *H. annosum* tīrkultūras izgriezja bloku (4x4 mm) un novietoja Petri plates vidū uz iesala barotnes, šajā pašā Petri platē abās malās uzlika divus agara blokus (4x4 mm), kas tika izgriezti no 7 dienu veca „biezā uzsējuma”, kura pagatavošanai izmantoja 5 Petri plates ar Torntona barotni un 5 - ar glicerīna-arginīna barotni. Uz šīm barotnēm tika uznestas 0,1 µl neatšķaidītas augsnes suspensijas. Atkārtojumu skaits – 20 Petri plates katrai barotnei. Inkubēja termostatā 10 dienas 20°C temperatūrā. Antagonisma novērtējums: - antagonisms netika konstatēts (*H. annosum* micēlijs uzaug virsū analizējamai kultūrai); ± vājš antagonisms (*H. annosum* micēlijs sāk augt uz analizējamās kultūras, bet veidojas antagonisma zona – *H. annosum* micēlija uzbiezīnājums); + stiprs antagonisms (starp *H. annosum* un analizējamo kultūru veidojas izteikts micēlija uzbiezīnājums); atsevišķi tika noteikts sterilās zonas platums (cm) starp analizējamo kultūru un *H. annosum* micēliju, kas liecina par antagonisma stiprumu – jo platāka sterilā zona, jo antagonisms ir izteiktāks (Johnson, Curl, Bond, Fribourg 1965).

4) mikroskopiskosēņu antagonisms pret *H. annosum*: uz iesala barotnes Petri

platē novietoja agara bloku ar *H. annosum* kultūru (7 dienas vecu, kultivētu uz iesala agara) un izvēlētās mikroskopiskās sēnes tīrkultūras (izdalītas no augsnes un audzētas tīrkultūrā 6 dienas uz iesala barotnes) agara bloku. Analizējamo sēņu agara bloki tika novietoti katrs savā Petri plates malā. Inkubēja 19°C temperatūrā 7 dienas. Antagonistiskas iedarbības gadījumā veidojas sterila zona starp abiem micēlijiem. Antagonisma novērtējums: - antagonisms netika konstatēts - *H. annosum* micēlijs uzaug virsū analizējamai sēnei; ± vājš antagonisms - *H. annosum* micēlijs sāk augt uz analizējamās sēnes micēlija, bet veidojas antagonisma zona - micēlija uzbiezīnājums; + stiprs antagonisms - starp *H. annosum* un analizējamās sēnes micēlijiem veidojas izteikts micēlija uzbiezīnājums; ++ ļoti stiprs antagonisms - sēne uzaug *H. annosum* micēlijam virsū un to pilnīgi iznīcina. Atsevišķi tika noteikts sterilās zonas platums (cm) starp analizējamās sēnes un *H. annosum* micēlijiem, kas rāda antagonisma stiprumu – jo platāka sterilā zona, jo antagonisms ir izteiktāks (Woodward, Stenlid, Karjalainen, Hüttermann 1998).

Rezultāti un diskusija

Rizosfēras mikrofloras daudzuma salīdzinājums analizētajos parauglaukumos parādīts 2. tabulā.

Novērtējot baltalkšņu un egļu sakņu rizosfēras mikrofloru mistrotās audzēs, būtiskas atšķirības nav konstatētas. Salīdzinot egļu sakņu rizosfēras mikrofloru mistrotās audzēs ar egļu sakņu rizosfēras mikrofloru tīraudzēs konstatēts, ka mistrotās audzēs mikroskopisko sēņu daudzums ir lielāks – attiecīgi $(3,6 \pm 0,6) \times 10^3$ un $(2,0 \pm 0,2) \times 10^3$; $P < 0,01$. Aktinomicētu un baktēriju skaits būtiski neatšķiras. Literatūrā atzīmēts, ka meža audzēs ar lielāku koku sugu daudzveidību augsnē ir

2. tabula, Table 2

Rizosfēras mikrofloras daudzums (kkv/g)
Quantity of microflora of rhizosphere (cfu/g)

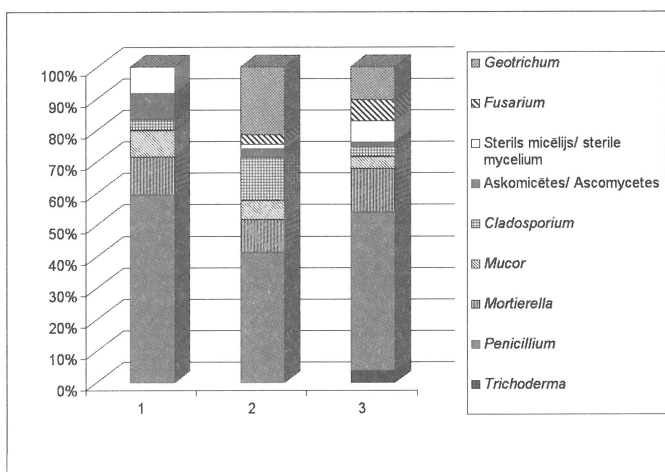
Parauglaukums <i>Sample plot</i>	Mikroskopiskās sēnes ($\times 10^3$) <i>Microscopic fungi</i> ($\times 10^3$)	Aktinomicētes ($\times 10^3$) <i>Actinomycetes</i> ($\times 10^3$)	Baktērijas ($\times 10^4$) <i>Bacteria</i> ($\times 10^4$)
Egļu rizosfērā tīraudzēs <i>Rhizosphere of spruce in spruce monoculture</i>			
Embūte	2,3 $\pm$ 0,5	4,3 $\pm$ 1,7	1,3 $\pm$ 0,3
Viesīte	1,7 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,8	10,0 $\pm$ 1,7
Daugmale	2,1 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,6
Vidēji <i>Average</i>	2,0 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,8	4,6 $\pm$ 2,9
Egļu rizosfērā mistrotās audzēs <i>Rhizosphere of spruce in mixed stand</i>			
Embūte	3,6 $\pm$ 0,2	2,7 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,2
Viesīte	2,6 $\pm$ 0,5	1,0 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,1
Daugmale	4,5 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 1,3	3,4 $\pm$ 0,6
Vidēji <i>Average</i>	3,6 $\pm$ 0,6	2,6 $\pm$ 1,0	1,7 $\pm$ 0,9
Baltalkšņa rizosfērā <i>Rhizosphere of grey alder</i>			
Embūte	2,3 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 1,0	1,9 $\pm$ 0,3
Viesīte	3,9 $\pm$ 0,8	2,5 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,1
Daugmale	1,5 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,2	3,6 $\pm$ 0,4
Vidēji <i>Average</i>	2,6 $\pm$ 0,8	2,6 $\pm$ 1,0	2,4 $\pm$ 1,4

arī vairāk mikroskopisko sēņu sugu (Wicklow, Bollen, Denison 1974). Egļu tīraudzēs rizosfērā konstatēts lielāks baktēriju daudzums nekā baltalkšņu un egļu sakņu rizosfērā mistrotās audzēs. Citu autoru pētījumi liecina, ka

skujkoku audzēs, salīdzinājumā ar *Alnus* sp. audzi, ir vairāk pārstāvētas *Streptomyces* spp. (Hutchins, Li 1981).

Egļu audzēs ar baltalkšņa piemistrojumu ir lielāka mikroskopisko sēņu

daudzveidība (1.attēls). Egļu rizosfērā tīraudzēs konstatētas *Penicillium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Oidiodendron* un *Mycogone* ģints sēnes. Egļu rizosfērā audzēs ar baltalkšņa piemistrojumu tika izdalītas *Penicillium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Geotrichum*, *Dactylella*, *Dicoccum* un *Scopulariopsis* ģints sēnes, savukārt baltalkšņu rizosfērā - *Penicillium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Acremonium*, *Oidiodendron*, *Verticillium*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Gliocladium* un *Botrytis* ģints sēnes. Literatūrā atzīmēts, ka četrus gadus vecu baltalkšņu rizosfērā *Trichoderma*, *Penicilium* un *Mucor* spp. ir vairāk nekā tāda paša vecuma egļu stādu rizosfērā (Johansson, Marklund, 1980).



1. attēls. Dominējošās sēņu ģintis (atšķaidījumā 10^3): 1 – egļu rizosfērā tīraudzēs; 2 – egļu rizosfērā mistrotās audzēs; 3 – baltalkšņu rizosfērā.

Figure 1. Occurrence of dominating groups of microscopic fungi (in dilution 10^3): 1 - rhizosphere of spruce in spruce monoculture; 2 - rhizosphere of spruce in mixed stands; 3 - rhizosphere of grey alder.

Iegūtie dati par *Aspergillus* spp. klātbūtni *Alnus incana* rizosfērā atšķiras no secinājumiem par *Alnus rubra* ietekmi uz augsnes mikrofloru skujkoku audzēs. Minētajā pētījumā atzīmēts, ka *Aspergillus* spp. nav sastopama *Alnus rubra* tīraudzē. Tomēr arī mistraudzē *Aspergillus* spp. sastāda tikai 3–5% no kopējā mikroskopisko sēņu daudzuma (Lu, Chen, Bollen 1968).

Mikrofloras atšķirības baltalkšņu piemistrojuma ietekmē varētu būt saistītas ar nobiru ietekmi uz augsnes mikrofloru.

Novērtējot augsnes mikrofloru ar augsnes piciņu apauguma metodi (celulozi noārdošo sēņu raksturošanai), konstatēts, ka egļu tīraudzēs sastopams mazāk *Trichoderma* spp. nekā mistrotās audzēs ($P < 0,01$). Lietojot

atšķaidījuma metodi, secināts, ka *Trichoderma* spp. daudzums baltalkšņu sakņu rizosfērā ir lielāks nekā egļu sakņu rizosfērā (1.attēls). Arī literatūras dati liecina, ka *Trichoderma* spp. daudz vairāk sastopama *Alnus rubra* audzē salīdzinājumā ar skujkoku tīraudzi un mistraudzi (Lu, Chen, Bollen, 1968). Savukārt citā pētījumā *Trichoderma* spp. daudzuma atšķirības egļu un baltalkšņu audzē

nav konstatētas, izņemot eksperimentu, kur novērtēta 4-gadīgu stādu rizosfēras mikroflora (Johansson, Marklund 1980).

Iegūtie rezultāti par *Trichoderma* spp. daudzuma palielināšanos augsnē baltalkšņa piemistrojuma ietekmē liecina, ka baltalkšņu stādījumi būtu izmantojami sakņu trapes (*Heterobasidion* sp. S grupa) izplatības ierobežošanai. Minētais īpaši attiecināms uz lauksaimniecības zemēm, kur nav sastopama

meža zemēm raksturīga augsnes mikroflora (Василяускас 1989).

Nosakot antagonistisko mikro-organismu daudzumu egļu sakņu rizosfērā tīraudzēs un mīstraudzēs ar trīs metodēm

(kopējās augsnes mikrofloras rezistences novērtējums; baltalkšņa sakņu rizosfēras ietekmes novērtējums; biezo suspensiju agara bloku metode), atšķirības netika konstatētas (3. tabula).

3. tabula, Table 3

Egļu un baltalkšņu sakņu rizosfēras mikrofloras antagonisma pārbaude pret *Heterobasidion annosum* S un P grupu
Antagonism of microflora of rhizosphere of spruce and grey alder against *Heterobasidion annosum* (S and P groups)

Paraug-laukums, Sample plot	Sakņu gabaliņi, Root pieces		Bieza suspensija, Microorganisms suspension				Piciņas, Soil clots	
			T'		G''			
	S grupa/ group	P grupa/ group	S grupa/ group	P grupa/ group	S grupa/ group	P grupa/ group	S grupa/ group	P grupa/ group
Egļu tīraudzē egļu sakņu zonā Rhizosphere of spruce in spruce monoculture								
Embūte	t+++	t++	++ (1,2''''')	-	++ (0,73)	±	t+	t++
Viesīte	t++	t+	+	+	±	-	t±	t+
Daugmale	t++	t++	+	+	±	-	t++	t++
Mistrotās audzēs egļu sakņu zonā Rhizosphere of spruce in mixed stand								
Embūte	-	t±	±	±	+	±	+	t++
Viesīte	t++	t+	+	+	±	-	t±	t+
Daugmale	-	t+	-	-	-	±	±	t++
Mistrotās audzēs baltalkšņa skaņu zonā Rhizosphere of grey alder								
Embūte	t++	t++	-	+	-	±	t+	t++
Viesīte	t+	t+	++ (0,87)	-	+	+	t++	t+
Daugmale	t+	t±	+	+	-	±	+	t±

T' – Torntona barotne/ *Tornton agar medium*, G'' – glicerīna – arginīna barotne/ *glycerine-arginin agar medium*

t⁺⁺⁺ - *Trichoderma* sp.;

- antagonisms netika novērots, *H. annosum* kolonijas atrastas visas Petri plates laukumā
± vājš antagonisms; *H. annosum* kolonijas aizņem apmēram 50% no Petri plates laukuma;

- + stiprs antagonisms, *H. annosum* kolonijas aizņem apmēram 25% no Petri plates laukuma.
 ++ ļoti stiprs antagonisms, *H. annosum* kolonijas netika konstatētas visā Petri plates laukumā;
 **** – sterilās zonas platums starp analizējamo mikroorganismu un *H. annosum* micēliju, kas rāda antagonisma stiprumu – jo platāka sterilā josla, jo izteiktāks ir antagonisms (cm)
 - no antagonism observed, *H. annosum* detected on 100-80% area of Petri dish
 ± weak antagonism; *H. annosum* detected on 50% area of Petri dish
 + strong antagonism, *H. annosum* detected on 25%% area of Petri dish
 ++ very strong antagonism, no *H. annosum* detected on all area of Petri dish.
 **** - width of sterile zone between analyzed microorganism and *H. annosum* mycelium (cm)

Visās augsnēs tika konstatētas pret *H. annosum* antagonistiskas mikroskopisko sēņu sugas. Tika izdalītas 34 sēnes, kurām pārbaudīts antagonisms pret *H. annosum*. Rezultāti apkopoti 4. tabulā. No baltalkšņa rizosfēras izdalītais *Mucor* sp. celms uzrādīja stipru antagonismu pret *H. annosum*. Konstatēts visu izdalīto *Mortierella* spp. celmu stiprs antagonisms pret *H. annosum*, izņemot celmus, kas tika izdalīti no egļu rizosfēras tīraudzē – minētie celmi uzrādīja vāju antagonismu pret

H. annosum. Atzīmēts visu analizēto *Penicillium* ģints sēņu stiprs antagonisms pret *H. annosum*, izņemot no sakņu rizosfēras izdalīto celmu egļu tīraudzē. (5.attēls, b). Arī citi autori konstatējuši *Penicillium* spp. antagonismu pret *H. annosum* (Enikeyeva, Rudneva, Sizova 1972., Kowalski 1974). No egļu rizosfēras (gan tīraudzes, gan audzes ar baltalkšņu piemistrojumu) izdalītās *Streptomyces* spp. uzrādīja ļoti stipru antagonismu pret abām *H. annosum* grupām (5.attēls, a).

4. tabula, Table 4

Mikroskopisko sēņu antagonisms pret *H. annosum*
Antagonism of microscopic fungi against H. annosum

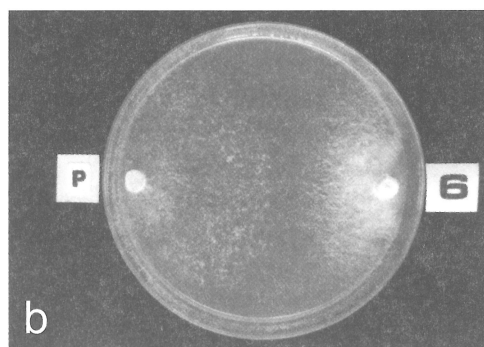
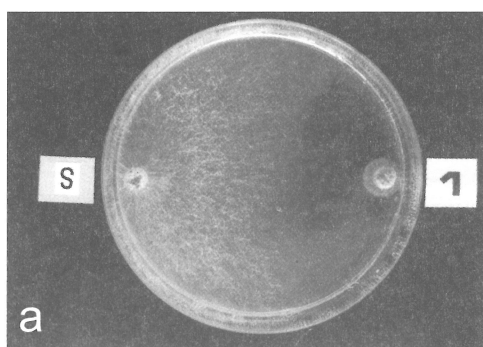
Mikroorganisms, Microorganism	Parauglaukumi, Sample plot	Antagonisms pret <i>H. Annosum</i> , <i>Antagonism against H. annosum</i>	
		S grupa/group	P grupa/group
Egļu tīraudzē egļu sakņu zonā <i>Rhizosphere of spruce in spruce monoculture</i>			
<i>Mortierella</i> sp. (tumši – zaļš micēlijs) (dark-green mycelium)	Embūte	±	±
<i>Penicillium</i> spp.	Viesīte	-	-
	Viesīte	+	±
<i>Streptomyces</i> sp.	Viesīte	0,7	+
<i>Oidiodendron citrinum</i>	Daugmale	-	-
<i>Mycogone</i> sp.	Daugmale	+	±

Mikroorganisms, <i>Microorganism</i>	Parauglaukumi, <i>Sample plot</i>	Antagonisms pret <i>H. Annosum</i> , <i>Antagonism against H. annosum</i>	
		S grupa/group	P grupa/group
Neidentificēta sēne <i>Unidentified fungi</i>	Daugmale	0,8	0,2
	Viesīte	±	+
Mistrotās audzēs egļu sakņu zonā <i>Rhizosphere of spruce in mixed stand</i>			
<i>Streptomyces</i> sp.	Embūte	2,3	1,5
<i>Mortierella</i> spp. (balts micēlijs) (white mycelium)	Embūte	1,0	1,0
	Embūte	±	±
	Viesīte	0,5	+
	Viesīte	-	±
<i>Penicillium</i> spp.	Daugmale	0,1	+
	Embūte	0,9	+
	Embūte	0,2	0,3
<i>Dicoccum</i> sp.	Viesīte	±	±
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Viesīte	+	+
<i>Cladosporium</i> sp.	Daugmale	0,9	-
<i>Cladosporium herbarum</i>	Daugmale	-	-
Neidentificēta sēne <i>Unidentified fungus</i>	Embūte	0,6	0,6
Mistrotās audzēs baltalkšņu sakņu zonā <i>Rhizosphere of grey alder</i>			
<i>Mortierella</i> spp. (balts micēlijs) (white mycelium)	Viesīte	0,4	0,5
	Viesīte	0,8	0,6
<i>Mortierella</i> sp. (krēmkrāsas micēlijs) (cream mycelium)	Embūte	1,1	0,5
<i>Mortierella</i> sp. (brūns micēlijs) (brown mycelium)	Viesīte	+	±
<i>Mucor</i> sp.	Embūte	+	+
<i>Penicillium</i> sp.	Embūte	0,1	+
<i>Fusarium</i> sp.	Embūte	0,3	+
<i>Botrytis</i> sp.	Embūte	-	-
<i>Verticillium</i> sp.	Viesīte	0,2	±
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Viesīte	+	+
<i>Aspergillus</i> sp.	Viesīte	0,2	±
Neidentificētas sēnes <i>Unidentified fungi</i>	Daugmale	-	-
	Viesīte	-	-

Antagonismu pret *H. annosum* uzrādīja arī *Verticillium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp. (no egļu–baltalkšņu mistrotas audzes) un *Mycogone* sp. (no egļu tīraudzes). *Dicoccum* sp. uzrādīja vāju antagonismu pret *H. annosum*. Pārbaudot *Oidiodendron citrinum*, *Cladosporium herbarum* un *Botrytis* ģints sēnes, antagonisms pret *H. annosum* netika konstatēts.

Iegūtie dati liecina, ka mistrotā audzē ir vairāk pret *H. annosum* antagonistisku mikroskopisko sēņu celmu nekā egļu tīraudzē.

Turpmākajos pētījumos paredzēts novērtēt augsnes mikrofloras izmaiņas dažāda vecuma baltalkšņu audzēs, kā arī novērtēt baltalkšņa piemistrojuma ietekmi uz augsnes mikrofloru priežu audzēs.



5. attēls. Dažādi antagonisma veidi:

- ļoti stiprs antagonisms pret *Heterobasidion annosum* (1 - *Streptomyces* sp. no parauglaukuma Embūte – mistrota audze);
- antagonisma pret *H. annosum* nav (6 - *Penicillium* sp. no parauglaukuma Viesīte - egļu tīraudzē).

Figure 5. Antagonism:

- very strong antagonisms against *Heterobasidion annosum* (1 – *Streptomyces* sp. from sample plot Embute – mixed stand);
- antagonism against *H. annosum* not observed (6 – *Penicillium* sp. from sample plot Viesīte – spruce monoculture).

Secinājumi

- Lielāks mikroskopisko sēņu daudzums egļu sakņu rizosfērā ir mistrotās audzēs nekā egļu sakņu rizosfērā tīraudzēs [$((3,6 \pm 0,6) \times 10^3$ mistraudzēs un $(2,0 \pm 0,2) \times 10^3$ tīraudzēs; $P < 0,01$]. Aktinomicētu skaits un baktēriju kopējais skaits būtiskas atšķirības neuzrāda.
- Mikroskopisko sēņu daudzveidība egļu un baltalkšņu sakņu rizosfērā mistrotās audzēs ir lielāka nekā egļu sakņu rizosfērā tīraudzēs.
- Baltalkšņu sakņu rizosfērā sastopams vairāk *Trichoderma* spp. nekā egļu sakņu rizosfērā.
- Egļu un baltalkšņu sakņu rizosfērā mistrotās audzēs konstatēts vairāk pret *Heterobasidion annosum* antagonistisku mikroskopisko sēņu celmu nekā egļu sakņu rizosfērā tīraudzēs.

Darbs veikts ar Valsts programmas “Lapu koku audzēšanas un racionālas izmantošanas pamatojums, jauni produkti un tehnoloģijas” finansiālu atbalstu.

Literatūra

- Alef, K., Nannipiri P.** (eds.) 1988. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Acad.Press.
- Dawson, J. O., Schwintzer C.R, Tjepkema J.D.** (eds.) (1990) Interactions among actinorhizal and associated plant species. In: The biology of *Frankia* and *Actinorhizae* Plants. Acad. Press, New York, pp. 299-316.
- Enikeyeva MG, Rudneva VL, Sizova TP** (1972). On the mycoflora of different types of pine forests. 3. Antibiotic properties of the fungi. [O mikoflore sosnyakov raznykh tipov. 3. Antibioticheskie svoistva gribov]. Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 6, Biologiya, Pochvovodenie. 1972 (3): 39-44.
- Gaitnieks T., Berg B.** 1998. A microbial index for estimation on the peaty forest soil fertility. Baltic Forestry, Vol. 2, pp. 14-20.
- Hudson, A.J.** (1993). The influence of Mountain alder on the growth, nutrition, and survival of Black spruce and Sitka spruce in an afforested Leatland near Mobile New Foundland. Can. J.For.Res. 33. pp. 742-748.
- Huss-Danell, K., Lundmark, J.-E.** (1988) Growth of nitrogen-fixing *Alnus incana* and *Lupinus* spp. for restoration of degenerated forest soil in northern Sweden. Studia Forestalia Suecica 181, pp. 1-20.
- Hutchins, A.S.** 1980. *In vitro* inhibition of root-rot pathogens *Phellinus weirii*, *Armillariella mellea*, *Fomes annosus* and *Phytophthora cinnamomi* by a newly isolated *Bacillus* sp. Microbial Ecology 6: 253-259.
- Hutchins, A.S., Li, C.Y.** 1981. Relative capacities of filamentous and non-filamentous bacteria from two forest soils to inhibit *Phellinus weirii* in culture- Northwest Science, Vol. 55, Nr. 3, 219-224.
- Johansson, M., Marklund, E.** 1980. Antagonists of *Fomes annosus* in the rhizosphere of grey alder (*Alnus incana*) and Norway spruce (*Picea abies*) Eur. J. For. Path. 10, 385-395.
- Johnson, L. F., Curl, E. A., Bond, G. H., Fribourg, H. A.** 1965. Methods for studying soil microflora – plant disease relationship. Burgess publishing company, Minneapolis.
- Kärki T., Maltamo M., Eerikäinen K.** 2000. Diameter distribution, stem volume and quality models for grey alder (*Alnus incana*) in eastern Finland. New Forests 20: 65-86.
- Kowalski, S.** 1974. The problem of root rot *Fomes annosus* (Fr.) Cke. against a background of the fungal communities in the forest soil. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 160: 25-45.
- Li, C.Y., Lu, K.C., Trappe, J.M, Bollen, W.B.** 1972. *Poria weirii*-inhibiting and other phenolic compounds in roots of red alder and Douglas-fir. Microbios 5, 65-68.
- Ljunger, Å.** 1959. Al och alförädling. Skogen 5, 1-7.
- Lu, K. C.; Chen, C. S; Bollen, W.B.,** 1968: Comparison of microbial populations between red alder and conifer soils. In: Trappe, J.M., Tarrant R., Hansen, G. M. (eds.) Biology of Alder, 173-178.
- Melzer. E. W.** 1990. Verwendung von Weißerle (*Alnus incana* [L.] Moench) zur Melioration von Kiefern-Altbeständen geringer Bonität. Forstarchiv. 61. Jahrgang. 234.-237.
- Mikola, P.** 1966. The value of alder in adding nitrogen in forest soils. Final report of research conducted under grant authorized by US Public Law 480. University of Helsinki,

Department of Silviculture, Helsinki, Finland.

- Schalin, J.** (1966) *Alnus incana* (L.) Moench in forestry practice. In Metsa ja Puu, 9, pp. 362-370.
- Tarrant R. F. Trappe J. M.** 1971. The role of *Alnus* in improving the forest environment. Plant and Soil, Special Vol. 335-348.
- Tarrant R. F.** 1961. Stand Development and Soil Fertility in a Douglas-Fir – Red Alder Plantation. Forest Science. Volume 7, Number 3. 238-246.
- Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F.** (eds) (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Third ed. American Public Health Association.
- Wheeler, C.T.; Miller I.M.** 1990. Current and potential uses of actinorhizal plants in Europe. In: Schwintzer, C.R.; Tjepkemana J.D. (eds) The Biology of *Frankia* and *Actinorhizae* Plants. New York, Academic Press: 369-389.
- Wicklow, M.C., Bollen, W.B., Denison, W.C.** 1974. Comparison of soil microfungi in 40-year-old stands of pure alder, pure conifer, and alder-conifer mixtures. - Soil. Biol. Biochem. 6, 73-78.
- Woodward, S., Stenlid J., Karjalainen R., Hüttermann A.** (eds.) (1998) *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International, Wallingford, UK, 589 pp.
- Василяускас, А.** (1989). Корневая губка и устойчивость экосистем хвойных лесов. Вильнюс, 175 с.
- Захаров И.С.** 1978. Образование гумусовых веществ целлюлозоразрушающими микроорганизмами. «ЩТИИИЦА», Кишинев, 116 с.
- Литвинов М. А.** 1967. Определитель микроскопических почвенных грибов. «Наука», 25-277 стр.
- Семенов, С. М.** 1990. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. М. Агропромиздат.