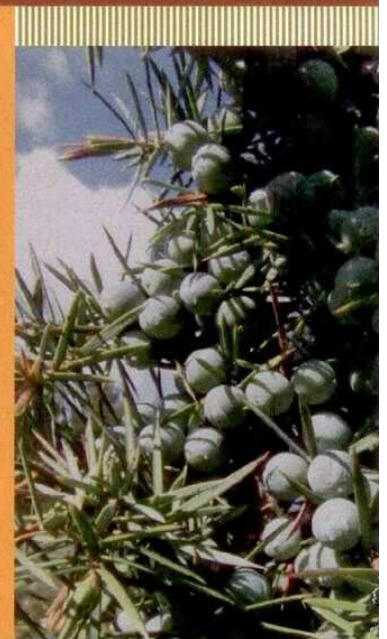




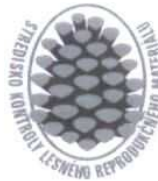
Dagmar Bednářová

**NÁRODNÉ
LESNÍCKE
CENTRUM**

**AKTUÁLNE PROBLÉMY
V ZAKLADANÍ
A PESTOVANÍ LEŠA**



2014



Táto publikácia bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0889-11 – *This publication was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-0889-11*

Recenzenti: prof. Ing. Vladimír Čaboun, CSc.
 Ing. Martin Kamenský, CSc.
 Ing. Andrej Kunca, PhD.
 doc. Ing. Rudolf Petráš, CSc.
 doc. Ing. Ivan Repáč, PhD.
 doc. Ing. Igor Štefančík, CSc.
 Ing. Anna Tučeková, PhD.

Zostavovateľ: Ing. Dagmar Bednárová, PhD.
Vydavateľ: Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný
 ústav Zvolen
Náklad: 85 kusov
Rozsah: 128 strán
Vydanie: Prvé
Tlač: Národné lesnícke centrum vo Zvolene

Copyright © Národné lesnícke centrum, Zvolen 2014
ISBN 978 - 80 - 8093 - 189 - 6

OBSAH

Jankovič, Jaroslav – Bednárová, Dagmar:

Úvod 7

Recenzované príspevky

Martiník, Antonín – Dobrovolný, Lumír – Hurt, Václav – Bureš, Michal:

Možnosti uplatnění neceloplošné obnovy buku na kalamitní holině –
experiment Vranov 9

Sychra, David – Mauer, Oldřich:

Vliv termínu výsadby, založení, expozice a zkracování kořenového
systému na růst sazenic douglasky tisolisté (*Pseudotsuga menziesii* /Mirb./
Franco) 18

Vaněk, Petr – Mauer, Oldřich – Urban, Martin:

Vliv buřene a škod zvěří na růst douglasky tisolisté 28

Repáč, Ivan:

Výsledky aplikácie komerčného prípravku Ectovit v škôlkarských
a výsadbových experimentoch malého rozsahu 37

Longauerová, Valéria – Maľová, Miriam – Tučeková, Anna:

Testovanie kontroly podpňoviek antagonistickými hubami
v laboratórnych podmienkach 47

Takáčová, Elena – Bednárová, Dagmar:

Vplyv klimatických zmien na kvantitu a kvalitu semena smreka
obyčajného (*Picea abies* [L.] Karst.) 53

Bošela, Michal – Petráš, Rudolf – Mecko, Julián – Šebeň, Vladimír:

Ekologický a produkčný potenciál jedle na Slovensku 61

Štefančík, Igor – Róth, Tibor: Vplyv rozdielnej výchovy bukového porastu na finančné zhodnotenie jeho sortimentov	67
Kamenský, Martin – Jankovič, Jaroslav – Tučeková, Anna – Strmeň, Slavomír: Treba vysádzať prípravné dreviny na kalamitné holiny po rozpade smrekových porastov v oblasti Kysúc?	77
Tučeková, Anna – Takáčová, Elena: Aktuálne výsledky umelej obnovy na demonštračnom objekte Husárik na Kysuciach	86
Šebeň, Vladimír – Kulla, Ladislav: Analýza stavu obnovy lesa v rozpadajúcich sa smrekových lesoch na výskumno-demonštračnom objekte Kysuce	96

Nerecenzované príspevky

Jančok, Tibor: Novela zákona o lesoch a jej dopad na povinnosti pri obnove lesa	106
Bednárová, Dagmar: Analýza stavu a vývoja uznaných zdrojov na Slovensku	111
LaiPen LP100 Leaf Area Analyzer / <i>LaiPen LP100 – Analyzátor indexu listové plochy</i>	125

TESTOVANIE KONTROLY PODPŇOVIEK ANTAGONISTICKÝMI HUBAMI V LABORATÓRNYCH PODMIENKACH

Valéria Longauerová • Miriam Maľová
• Anna Tučeková

Abstrakt: V práci sme sa zamerali na laboratórne testovanie alternatívnych metód na potlačenie a kontrolu rastu štyroch druhov podpňoviek *Armillaria mellea*, *Armillaria ostoyae*, *Armillaria cepistipes*, *Armillaria gallica*. Testované boli antagonistické huby *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* a *Phlebiopsis gigantea*, ktoré sú súčasťou komerčne vyrábaných prípravkov Trichomil a Rotstop® (u nás registrovaný len Trichomil). Vyššia schopnosť potlačiť rast a usmrtiť mycéliá a rhizomorfy podpňoviek sa potvrdila u *Trichoderma harzianum* aj *Trichoderma viride*. *Phlebiopsis gigantea* spomalil rast mycélií aj rhizomorf, ale neusmrtil ich.

Kľúčové slová: *Armillaria*, antagonistické huby, biokontrola

Úvod

Vo svete je známych okolo 40 druhov podpňoviek, ktoré napádajú lesné dreviny, poľnohospodárske plodiny a mestskú zeleň. Popísané druhy podpňoviek sú prevažne fakultatívne parazity, spôsobujúce bielu hnilobu koreňov a koreňových územkov a sú charakteristické produkciou rhizomorf (Burdshall a Volk 1993).

V Európe je (Korhonen 1978) rozšírených sedem druhov podpňoviek s rôznym stupňom patogenity.

Tradičné metódy ochrany a obrany pred škodami spôsobenými podpňovkou sú nedostatočné, s nízkou účinnosťou bez možnosti ich trvalého potlačenia. Chemická obrana je účinná len v lesných škôlkach, okrasných výsadbách a parkoch.

Ochrana drevín pred hnilobou spôsobenou rodom *Armillaria* sa v súčasnosti sústreďuje najmä na preventívno-ochranné opatrenia pestovného charakteru. Tieto zahŕňajú predovšetkým vhodné drevinové zloženie, dostatočnú druhovú aj vekovú diferenciáciu porastu, zdravotný výber a zníženie rubnej doby pri chradnúcich porastoch.

V 60. rokoch minulého storočia britský výskumník Rishbeth (1975) vypracoval základ biologickej ochrany ihličnanov voči koreňovým hnilobám spôsobeným *Heterobasidion annosum*, použitím prirodzene sa vyskytujúcej antagonistickej huby v lesnom prostredí *Phlebiopsis gigantea* (syn. *Peniophora gigantea*). Používa sa dodnes ako biologická ochrana semenáčikov a sadeníc, ale aj ako ochrana čerstvo spílených pňov pred infekciou *H. annosum* (a čiastočne *Armillaria* spp.).

P. gigantea dokáže ničiť *H. annosum* vzájomným dotykom hýf, pričom dochádza k ich deštrukcii a postihnutá časť sa sfarbuje čiastočne do červena. U podpňoviek, v prípade biologických metód, sa využívajú najmä konkurenčné saprofytické drevokazné huby alebo antagonisticke druhy drevokazných húb. Tieto brzdia rast podpňoviek mykoparazitickými vlastnosťami alebo vylučovaním fungicídnych látok.

Dlhodobá pozornosť sa venuje testovaniu rodu *Trichoderma*, ktorý sa vyznačuje mykoparazitickým a deštrukčným účinkom na široké spektrum patogénnych húb z rodov *Armillaria*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Verticillium*, *Venturia*, *Endothia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizopus*, *Diaporthe* a *Fusicladium* (Cook a Baker 1983, Raziq 2000).

Trichoderma je prirodzene sa vyskytujúca pôdna huba. V biologickej ochrane sa najviac používajú druhy *T. harzianum*, *T. viride* a *T. hamatum*. Vyskytujú sa prevažne na povrchu koreňov, a tak ovplyvňujú najmä koreňové hniloby, ale môžu byť účinné aj voči listovým chorobám. Okrem mykoparazitizmu stimuluje rast rastlín indukciou zvýšenej produkcie fytohormónu kyseliny indolyloctovej a zvyšovaním obsahu fosforu a cukrov. Je spúšťačom indukovanej rezistencie voči chorobám. Supernatanty huby *Trichoderma* obsahujú metabolity vyvolávajúce indukovanú, systémovú rezidenciu rastlín voči mikrobiálnym ochoreniam.

Materiál a metodika

Vzorky podpňoviek boli odobraté na trvalých monitorovacích plochách (tab. 1). Identifikácia jednotlivých druhov sa vykonala metódou PCR RFLP podľa Lochmana (2010). Čisté kultúry *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* a *Phlebiopsis gigantea* sme získali z Instytut Badawczy Leśnictwa.

Tabuľka 1. Izoláty testovaných druhov

Druh	Vzorka	Lokalita	Drevina
<i>Armillaria mellea</i>	plodnica	Zvolen	dub
<i>Armillaria ostoyae</i>	plodnica	Čadca	smrek
<i>Armillaria gallica</i>	plodnica	Čadca	smrek
<i>Armillaria cepistipes</i>	plodnica	Čadca	smrek

Vzájomné pôsobenie podpňoviek a antagonistických húb bolo testované v Petriho miskách na sladínovom agare. Všetky testovania sa vykonali v desiatich opakovaníach. Do Petriho misiek sme najprv naočkovali čisté kultúry jednotlivých druhov podpňoviek (fragment 10 × 10 mm), po dvoch týždňoch sme pridali čisté kultúry antagonistických húb (fragment 10 × 10 mm) 2 cm od naočkovaných podpňoviek. Vzhľadom k rýchlejšiemu rastu, antagonistické huby boli nanosené dva týždne neskôr ako podpňovka. Petriho misky boli uzavreté parafilmom a inkubovali sa pri teplote 22 °C, v tme. Interakcie boli testované v týždenných intervaloch, dva mesiace. Inhibícia rastu bola vypočítaná ako pomer rastu v zmiešanej kultúre (r) a rastu čistej kultúry (R) na MEA (2 %).

Na štatistické vyhodnotenie výsledkov sme využili analýzu variancie a Duncanov test.

Výsledky

Obmedzenie rastu mycélia v zmiešaných kultúrach s antagonistickými hubami bolo zaznamenané pri všetkých druhoch *Armillaria*. Rozdiely sa prejavili v rýchlosti spomalenia rastu mycélií podpňoviek a schopnosti obmedziť, respektíve usmrtiť aj rhizomorfy.

Trichoderma harzianum spôsobila výrazné spomalenie rastu mycélií podpňoviek po naočkovani na médium. Pokles rastu sa pohyboval v rozmedzí 63 až 81 %. Najväčší pokles bol zaznamenaný u *A. ostoyae* a *A. cepistipes* (tab. 2).

Trichoderma viride tiež výrazne spomalila rast mycelií podpňoviek. Pokles rastu sa pohyboval v rozmedzí (68 až 77 %). Najväčší pokles spomalenia rastu sa prejavil u *Armillaria mellea* a *Armillaria gallica*. Štatisticky významný rozdiel medzi dvomi druhmi *Trichoderma* sa neprejavil. V porovnaní s *Phlebiopsis gigantea*, mala *Trichoderma harzianum* aj *Trichoderma viride* intenzívnejší inhibičný a smrtiaci účinok na všetky testované druhy *Armillaria*.

Phlebiopsis gigantea spomalila rast jednotlivých druhov podpňoviek v rozmedzí 24 až 35 % (tab. 2).

Tabuľka 2. Rast jednotlivých druhov *Armillaria* v čistých a zmiešaných kultúrach (mm za 7 dní)

Testované druhy		<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	P
<i>Armillaria melea</i>	Čistá kultúra	4,7	4,7	4,7	
	Zmiešaná kultúra	1,2	1,5	3,4	< 0,01
	% rastu zmiešanej kultúry	26	32	72	
<i>Armillaria ostoyae</i>	Čistá kultúra	5,9	5,9	5,9	
	Zmiešaná kultúra	1,1	1,6	4,6	< 0,01
	% rastu zmiešanej kultúry	19	27	76	
<i>Armillaria cepistipes</i>	Čistá kultúra	5,2	5,2	5,2	
	Zmiešaná kultúra	1,2		3,4	< 0,01
	% rastu zmiešanej kultúry	23	23	65	
<i>Armillaria gallica</i>	Čistá kultúra	4,3	4,3	4,3	
	Zmiešaná kultúra	1,6	1,4	3,2	< 0,01
	% rastu zmiešanej kultúry	37	32	75	

Diskusia

Druhy rodu *Armillaria* sú schopné na svoju ochranu produkovať antibiotiká s výrazným inhibičným účinkom voči plesniam a baktériám. Tiež vytvárajú rhizomorfy, ako vysoko diferencovaný orgán, ktorý jej umožňuje odolávať antagonistickým účinkom iných organizmov. Jej nevýhodou je pomalá kolonizácia napadnutého substrátu oproti antagonistickým hubám ako *Trichoderma* či iným drevokazným hubám.

Trichoderma viride je preukázaným antagonistom u rôznych patogénnych húb. Je schopná produkovať antibiotiká a enzýmy, ktoré menia agarové médium (Raziq 2000). Dumas & Boyonski (1992) pozorovali, že *Trichoderma* v zmiešaných kultúrach s *Armillaria gallica* napadla rhizomorfy už po prvom týždni od naočkovania a po ďalšom týždni ich usmrtili. Nicolotti et al. (1994) pozorovali, že aktivita *Trichoderma harzianum* je v drevenom substráte oproti agarovému médiu pomalšia pre nedostatok enzýmov na rozklad dreva.

Aj keď sa *Phlebiopsis gigantea* úspešne používa voči *Heterobasidion* spp., testovanie s druhmi *Armillaria* spp. má veľmi variabilné výsledky. Pri testovaní interakcií na fragmentoch dreva Gallet et al. (1993) uvádzajú, že *Phlebiopsis gigantea* nie je schopný kolonizovať a potlačiť mycélium *A. ostoyae*. V našich laboratórnych testovaniach *Phlebiopsis gigantea* dokázal spomaliť rast všetkých druhov *Armillaria*, aj keď s malou účinnosťou oproti druhom *Trichoderma*. Nicolotti et al. (1993) preukázali účinnosť *Phlebiopsis gigantea* a *Hypholoma fasciculare* v potlačení druhov *Armillaria* na drevitých fragmen-

toch. Najvýraznejší účinok pozorovali voči *Armillaria mellea*, kde boli napadnuté a usmrtené aj rhizomorfy.

Vzhľadom na získané výsledky laboratórnych testovaní najmä u druhov *Trichoderma* ale aj *Phlebiopsis* je vhodné overiť testovania aj v terénnych podmienkach, v lese a lesných škôlkach. Účinnosť by mohla zvýšiť aj zmes druhov jedného rodu antagonistických húb.

Záver

Pochopenie vzájomného pôsobenia medzi patogénom a jeho prirodzeným antagonistom môže pomôcť pri zlepšovaní účinnosti biologickej kontroly. Vhodne zvolená biokontrola môže zvýšiť ekologickú a ekonomickú udržateľnosť v lesníctve znížením strát v dôsledku pôsobenia patogénov a škodlivých účinkov chemických látok.

Dobré výsledky testovania antagonistov sa dosahujú najmä v laboratórnych podmienkach, je však ťažké dosiahnuť potrebnú koncentráciu tejto huby pri aplikácii v pôde, a to najmä v hĺbke viac ako 30 cm.

Podakovanie

Táto práca bola vytvorená realizáciou projektu Progresívne technológie ochrany lesných drevín juvenilných rastových štádií (ITMS: 26220220120), na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Tento príspevok vznikol vďaka financovaniu z Agentúry na podporu výskumu a vývoja v rámci projektov APVV-0045-10 „Biologické metódy regulácie populačnej dynamiky hmyzu premnožujúceho sa na smreku a duboch.

APVV-0889-11 „Optimalizácia postupov rekonštrukcií odumierajúcich smrečín na zmiešaný cieľový les“.

Literatúra

- Burdsall, H. H., Jr., Volk, T.J., 1993: The state of taxonomy of the genus *Armillaria*. *Mellvainea*, 11:4–11.
- Cook, R. J., Baker, K. F., 1983: The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul.
- Dumas, M. T., 1992: Inhibition of *Armillaria* by bacteria isolated from soils of the Borealis Mixedwood Forest of Ontario. *European Journal of For. Path.*, 22:11–18.
- Elad, Y., Chet, I., Boyle, P., Henis Y., 1983: Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*-Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology*, 73: 85–88.

- Elad, Y., Kapat A., 1999: The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 105: 177–189.
- Howell, C. R., 2003: Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 87: 4–10.
- Korhonen, K., 1978: Interfertility and clonal size in the *Armillaria mellea* komplex, *Karstenia*, 18: 31–42.
- Lochman, J., Sery, O., Mikes, V., 2004: The rapid identification of European *Armillaria* species from soil by nested PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 237(2004):105–110.
- Munnecke, D. E., Kolbezen, M. J., Wilbur, W. D., Ohr, H. D., 1981: Interactions involved in controlling *Armillaria mellea*. *Plant Dis.*, 65: 384–389.
- Nicolotti, G., Gangemi, D., Lanata, F., Anselmi, N., 1993: Antagonistic activity of wood decay Basidiomycetes against European *Armillaria* species. In: M. Johansson and J. Stenlid (eds.): *Proceedings of the Eight International Conference on Root and Butt Rots*. Part 2. Wik, Sweden and Haikko Finland, August 9–16, 1993, p. 725–735.
- Raziq, F., 2000: Biological and integrated control of *Armillaria* root rot. In: R. T. V. Fox (ed.): *Armillaria Root rot: Biology and control of Honey fungus*. Andover, p. 183–201.
- Raziq, F., 2000: Biological and integrated control of *Armillaria* Root rot., p. 183–201. In: R. T. V. Fox (ed.): *Armillaria Root rot: Biology and Control of Honey Fungus*. Intercept, UK.
- Raziq, F., Fox, R. T. V., 2004: Factors affecting biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. and other antagonists of *Armillaria mellea*. In: *Abstracts from 11th International Conference of Root and Butt Rots*. 16 – 22 August, 2004 Poznan and Bialowieza, Poland, 46 p.
- Rishbet, J., 1976: Chemical treatment and inoculation of hardwood stamps for control of *Armillaria mellea*. *Annals of Applied Biology*, 82: 57–70.
- Tu, J. C., 1980: *Gliocladium virens*, a destructive mycoparasite of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 70: 670–674.
- Vandriesche, R. G., Bellows, T. S., 1996: *Biological control*. Chapman and Hall, New York, 539 p.

Adresa autoriek: Ing. Valéria Longauerová, PhD., Ing. Miriam Maľová, PhD., Ing. Anna Tučeková, PhD., Národné lesnícke centrum - Lesnícky výskumný ústav Zvolen, T. G. Masaryka 2175/22, 960 92 Zvolen, e-mail: longauerova@nlcsk.org; malova@nlcsk.org; tucekova@nlcsk.org



ISBN 978 - 80 - 8093 - 178 - 0



9 788080 931780 >