

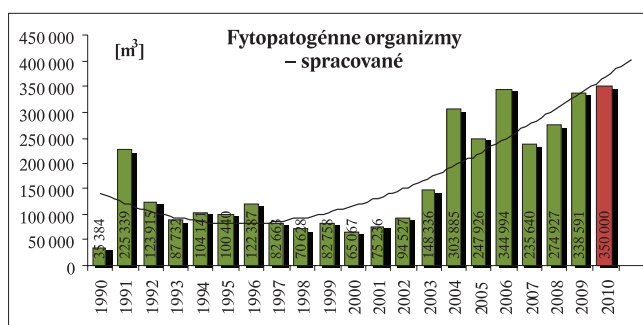
KOREŇOVKA VRSTEVNATÁ – VÝSKYT A MOŽNOSTI OBRANY

Valéria Longauerová • Ivana Romšáková • Miriam Maľová
• Roman Leontovyč • Andrej Kunca

Úvod

V dôsledku hubových ochorení sa náhodnou ťažbou spracováva v jednotlivých rokoch približne 4 – 7 % napadnutej drevnej hmoty. Ako predispozičný faktor však hubové ochorenia oslabujú vitalitu a narúšajú aj stabilitu porastov. Nepochybne tak prispievajú k ďalším náhodným ťažbám, pri ktorých sa ako konečný škodlivý činiteľ uvádzajú hmyzí škodcovia, vietor alebo sucho.

V priebehu posledného decénia došlo k výraznému nárastu objemu napadnutej hmoty hubovými patogénmi. V porovnaní s 90. rokmi minulého storočia došlo v jednotlivých rokoch až k päť násobnému nárastu objemu spracovanej hmoty (obr. 1).



Obrázok 1. Objem spracovanej hmoty v dôsledku napadnutia fytopatogénnymi organizmami na Slovensku v priebehu posledných 20 rokov (podľa hlásení L 116)

Medzi najvýznamnejšie hubové patogény podieľajúce sa na náhodných ťažbách patria koreňové a parazitické huby, najmä podpňovka smreková *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink a koreňovka vrstevnatá – *Heterobasidion annosum sensu lato* (Fr.) BREF. Na predchádzajúcich seminároch sme venovali príspevky predovšetkým podpňovke, v tomto príspevku sa budeme venovať koreňovke vrstevnatej.

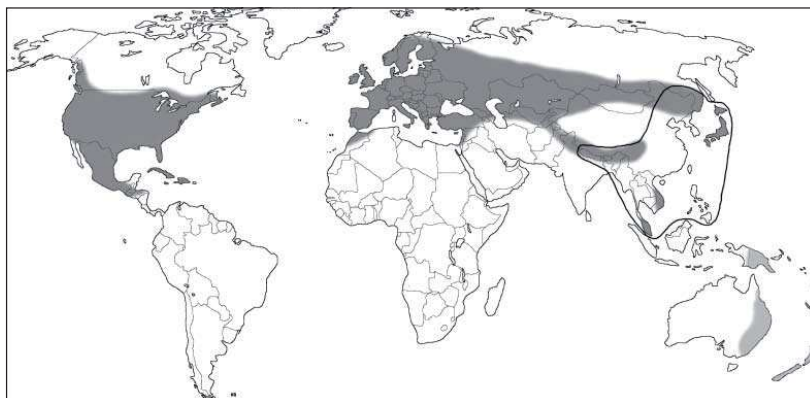
Problematika

Rod *Heterobasidion* je jedným z najzávažnejších a najčastejších hubových patogénov v ihličnatých lesoch mierneho pásma severnej pologule. Spôsobujú jadrovú hnilobu a mortalitu najmä u smreka, jedle, smrekovca, borovic ale aj u ďalších 200 druhov ihličnatých a listnatých drevín. Odhadované ročné straty v Európe spôsobené týmto patogénom sú 800 miliónov Eur (WOODWARD *et al.* 2005). Primárne sa podieľa na rozklade dreva a sekundárne na oslabení statickej stability, redukcii rastu infikovaných stromov a vyšších nákladoch na obhospodarovaní a spracovaní napadnutých jedincov a porastov.

Až do konca sedemdesiatych rokov bol *H. annosum s. l.* BREF., považovaný za jeden druh (KORHONEN *et STENLID*, 1998). Pri štúdiu rôznych európskych izolátov sa neskôr dospelo k zisteniu, že *Heterobasidion annosum* sa v Európe vyskytuje v troch taxonomických skupinách, ktoré sa navzájom nekrižia a ktoré boli označené podľa ich hlavných hostiteľov smreka – S, borovice – P a jedle – F (KORHONEN 1978, CAPRETTI *et al.* 1990). V súčasnosti sú tieto skupiny považované za samostatné druhy: *Heterobasidion annosum* (Fr.) BREF. *sensu stricto* (skupina P), *Heterobasidion*

parviporum (Niemelä et Korhonen) (skupina S), *Heterobasidion abietinum* (Niemelä et Korhonen) (skupina F) (NIEMELÄ et KORHONEN 1998).

Vo svete je celkovo popísaných osem rôznych taxonomických druhov v rámci rodu *Heterobasidion*: *H. annosum*, *H. parviporum*, *H. abietinum*, *H. araucariae*, *H. insular*, *H. pahangense*, *H. perplexum* a *H. rutilantiforme* (NIEMELÄ a KORHONEN 1998) (obr. 2).



Obrázok 2. Globálne rozšírenie komplexu *Heterobasidion* s.l. (tmavo šedá plocha). *H. araucariae* (svetlo šedá plocha) a *H. insular* (čierno ohraničená plocha). KARI KORHONEN 2005

Koreňovka je schopná šíriť sa na veľké vzdialenosti bazídiospórami, ktoré sa uvoľňujú z pereniálnych plodníc vyrastajúcich na infikovaných pňoch, koreňoch vyvrátených stromov alebo na hnijúcich kmeňoch. Spóry, ktorých sa cez vegetačnú sezónu tvorí veľké množstvo primárne infikujú pne čerstvo zotatých stromov alebo rany na obnažených koreňoch (REDFERN et STENLID 1998). Bazídiospóry, ktoré dážď spláchnu do pôdy, si udržujú klíčivosť niekoľko mesiacov a sú tiež schopné infikovať poranené korene pod povrchom pôdy (DIMITRI 1969). V koreňoch živých stromov sa huba rozrástá rýchlosťou 10 – 30 cm za rok, v pňoch i rýchlejšie, pretože obranné mechanizmy hostiteľa už aktívne jej rast nebrzdia (BENDZ-HELLGREN *et al.* 1999). V kmeňoch postupuje hniloba z koreňov, postupne strednou vyzretou časťou kmeňa hore až do výšky 12 metrov, pričom najrýchlejšie rastie v prvom roku infekcie (STENLID et WÄSTERLUND 1986).

Sekundárne sa koreňovka šíri mycéliom z infikovaných koreňov na korene zdravých stromov v miestach ich vzájomného dotyku alebo zrastov. Huba je schopná takto infikovať nielen jedince rovnakého druhu, ale v menšej miere i iné druhy drevín (PIRI 2003).

Ciele práce

Cieľom práce bolo využiť molekulárno – biologické metódy determinácie druhov rodu *Heterobasidion* na

- (i) Zmapovanie rozšírenia a druhového zastúpenia tohto rodu na našom území.
- (ii) Sprehľadniť používané možnosti ochrany a obrany lesných porastov.

Materiál

Vzorky plodníc a infikovaného dreva sme začali zbierať v roku 2011 na trvalých monitorovacích plochách (TMP) v sieti 16 × 16 km. Ďalšie vzorky sme získali z herbárových položiek Slovenského národného múzea, Botanického ústavu SAV a Lesníckeho a drevárskeho múzea.

Metodika

Identifikácia druhov

Celková DNA bola izolovaná zo všetkých jedincov pomocou modifikovanej CTAB metódy DOYLE & DOYLE (1987). Na izoláciu boli použité plodnice a kúsky dreva infikované koreňovkou. Koncentrácia DNA bola meraná spektrofotometricky. Pre PCR amplifikáciu boli použité dva mikrosatelitné markéry a 13 RAMS a RAPD. Tieto navrhli a použili HANTULA & VAINIO (2003). Sekvencie použitých primerov ako aj podmienky PCR boli rovnaké ako u HANTULA & VAINIO (2003) s výnimkou použitej teploty hybridizácie (65 °C). Pre účely analýzy boli pripravené 10 µl zmesi obsahujúce približne 25 ng DNA, 1 × PCR pufoer, 0,2 µM z každého priméru, 0,2 mM z každého dNTP, 2 mM MgCl₂, 0,8 µg/µl BSA a 0,5 U *Taq* DNA polymeráza (BioThermStar™, GeneCraft). Získané PCR produkty boli elektroforeticky separované na 2 % agarózovom géli a následne vizualizované pod UV svetlom.

Výsledky a diskusia

Doposiaľ sme spracovali 150 vzoriek z 25 lokalít (obr. 3). Z TMP sme získali 90 vzoriek, herbárových položiek bolo 60 (najstaršia vzorka bola z roku 1868).



Obrázok 3. Lokality odberu vzoriek koreňovky (červené bodky)

Zo získaných vzoriek sme potvrdili výskyt všetkých troch Európskych druhov – *Heterobasidion annosum sensu stricto*, *Heterobasidion parvivorum*, a *Heterobasidion abietinum* na našom území.

Najpočetnejšie zastúpeným druhom v identifikovaných vzorkách bol *Heterobasidion annosum* s. s. (60 %). Vyskytoval sa v nadmorských výškach od 125 m n. m. do 1 290 m n. m. Tento druh je aj celosvetovo najrozšírenejší so širším spektrom hostiteľských drevín do ktorých patria rody *Pinus*, *Juniperus*, *Picea*, *Abies*, *Betula*, *Quercus*, *Alnus*, *Prunus*, *Corilus* (NIEMELÄ a KORHONEN 1998, PIRI a VIIRI 2009). V parazitickej aj saprofytickej forme sme ho z doposiaľ získaných vzoriek identifikovali na drevinách *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Prunus*. Predpokladáme, že hostiteľských drevín, najmä listnáčov, je na našom území viac. V Čechách bol *Heterobasidion annosum* s. s. pozorovaný na deviatich rodoch drevín - *Pinus*, *Picea*, *Fraxinus*, *Betula*, *Corylus*, *Alnus*, *Abies*, *Acer* a *Prunus*. (SEDLÁK 2011). V Poľsku bol izolovaný z drevín *Pinus*, *Picea*, *Abies*, *Betula*, *Larix*, *Fagus*, *Carpinus* (ŁAKOMY a WERNER, 2003).

V menšom počte boli druhy *Heterobasidion abietinum* (15 %) a *Heterobasidion parvivorum* (25 %). *Heterobasidion parvivorum* sa vyskytoval v nadmorských výškach od 420 do 1 400 m n. m., hostiteľskými drevinami boli *Picea* *Larix* (tab. 1). V Čechách bol *Heterobasidion parvivorum* identifikovaný doposiaľ iba na smreku (*Picea*) (SEDLÁK 2011), pretože podrobnejšej identifikácii druhov sa začali venovať len v posledných rokoch. Viacerí autori (NIEMELÄ a KORHONEN 1998, PIRI a VIIRI 2009) ako hostiteľské dreviny uvádzajú predovšetkým smrek (*Picea*) menej často jedľu (prevažne *Abies sibirica*), ale aj *Larix*.

Heterobasidion abietinum sa vyskytoval v nadmorských výškach od 425 do 986 m n. m., na hostiteľských drevinách jedľa, smrek a borovica (tab. 1). V Čechách bol identifikovaný na jedli (*Abies*) a smreku (*Picea*) (SEDLÁK 2011). PIRI a VIIRI (2009) vo svojich prácach uvádzajú ako hostiteľov aj *Larix*, *Pinus*, *Fagus* a *Castanea*.

Tabuľka 1. Výskyt koreňovky podľa druhov, nadmorskej výšky, hostiteľskej dreviny a trofických vzťahov

Druh	Nadmorská výška	Saprofyt	Parazit	Hostujúca drevina
<i>H. annosum</i>	125 – 1 290	×	×	BO, SM, JD, slivka
<i>H. parvivorum</i>	420 – 1 400	×	×	SM, SC
<i>H. abietinum</i>	425 – 986	×	×	JD, SM, BO
Mix <i>H. annosum</i> a <i>H. parvivorum</i>	420 – 1 400	×	×	JD,BO

Možnosti obrany a ochrany

Napriek mimoriadnemu hospodárskemu významu drevokazných húb v lesnom hospodárstve a intenzívnemu výskumu takmer nie sú k dispozícii také opatrenia, ktoré by efektívne zabraňovali ich šíreniu a zároveň boli naozaj spoľahlivé, účinné a ekonomicky prijateľné.

Infikované stromy v poraste nie je prakticky možné zachrániť. Na obmedzenie šírenia drevokazných húb a škôd, ktoré spôsobujú, sa využívajú najmä pestovateľské opatrenia, z ktorých možno uviesť tieto:

- Nahradenie citlivých hostiteľských drevín, drevinami, ktoré konkrétna patogénna huba nenapáda, alebo len v malej miere. V oblastiach, kde sa napríklad vyskytuje výlučne *Heterobasidion parviporum* (škandinávske krajiny) je takto možné pri obnove napadnutých smrekových porastov nahradiť citlivý smrek borovicou lesnou brezou (Piri 2003). Tento variant však je problematickejší v prípade infekcie *H. annosum* s. s., ktorá má široký rad hostiteľov (KORHONEN *et al.* 1992, 1998b). Všeobecne platí, že druhy listnatých drevín sa považujú za menej citlivé, ako ihličnany k hnilobe koreňov (VASILIAUSKAS 1989, KORHONEN a STENLID 1998, KORHONEN *et al.* 1998b). Len niekoľko pozorovaní útokov tohto patogénu boli vykonané v čistých brezových porastoch (LAINE 1976, Piri 1996)
- Sústredenie ťažby do zimných mesiacov, kedy nedochádza k uvoľňovaniu bazídiospór z plodníc drevokazných húb, aby sa predišlo infekcii čerstvých pňov, ktoré predstavujú vstupnú bránu infekcie hlavne pre koreňovky.
- Obmedzenie intenzity výchovných zásahov v porastoch (zamerané taktiež na obmedzenie infekcie cez rezné plochy čerstvých pňov).
- Voľba redšieho sponu výsadby a vysádzanie sadeníc v relatívne bezpečnej vzdialenosti od infikovaných pňov tej istej hostiteľskej dreviny (Piri 2003).
- Zníženie rubnej doby silne napadnutých porastov.

Infikované pne sú hlavným zdrojom aktívneho šírenia parazitických drevokazných húb, hlavne v prípade koreňovky. Preto sa viacero pomerne účinných metód orientuje na likvidáciu pňov alebo zamedzenie ich infekcie:

Odstraňovanie pňov

Tento účinný ale nákladný postup sa rutinne využíva po výrube porastov silne napadnutých koreňovkou vrstevnatou na zásaditých pôdach v Anglicku (GREIG 1984). Ale aj v južnom Fínsku, kde sa z nich získava biomasa pre energetické účely a tak náklady spojené s týmto úkonom sú súčasťou nákladov na využitie drevnej hmoty a nezvyšujú neúmerne výdavky na ochranu alebo na prípravu pôdy (Piri 2003). V našich podmienkach na takéto riešenie chýba „technologická pripravenosť“ a na väčšine územia by ani nebolo vhodné vzhľadom k svahovitému terénu a nebezpečenstvu erózie.

Ošetrovanie pňov, aby sa zabránilo ich osídleniu patogénmi.

Táto metóda je efektívna hlavne ak sa ťažbové alebo výchovné zásahy vykonávajú cez vegetačnú sezónu. Spočíva v ošetrovaní čerstvých pňov prípravkami, ktoré dokážu zabrániť kolonizácii pňa patogénmi a nie sú rizikom pre životné prostredie. Z mnohých testovaných chemikálií sa doteraz najviac osvedčili vodné roztoky močoviny a okta-borátu dvojsodného a účinné sú i biologické prípravky obsahujúce spóry huby *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) JÜL. V celej Európe sa biopreparátmi ročne ošetrí viac než 200 000 ha lesných porastov (THOR 2005).

Biologická ochrana

Základ biologickej ochrany ihličnanov voči koreňovke v 50. a 60. rokoch minulého storočia vypracoval britský výskumník RISHBETH použitím prirodzene sa vyskytujúcej antagonistickej huby *Phlebiopsis gigantea* (syn. *Peniophora gigantea*). Používa sa dodnes ako biologická ochrana semenáčikov a sadeníc, ale aj ochrana čerstvo spílených pňov pred infekciou koreňovkou a čiastočne aj podpňovkou. *P. gigantea* dokáže ničiť *H. annosum* vzájomným dotykom hýf, pričom dochádza k ich deštrukcii a postihnutá časť sa sfarbuje čiastočne do červena.

Biopreparáty na báze *P. gigantea* sa vyrábajú v rôznych krajinách a majú rôzne zloženie. Veľmi dobre rozvinutá technológia je v Poľsku. Základ prípravku tvoria piliny prerastené sporulujúcim mycéliom *P. gigantea*, ktoré sa premiešajú s vodou. Zmes sa aplikuje ako náter. Vo Veľkej Británii sa vyrába biopreparát – PG SUSPENSION. Je to suspenzia konidiálnych spór *P. gigantea* v roztoku s karboxy celulórou a vodou, ktorá sa aplikuje postrekom. Fínsky biopreparát – ROTSTOP sa vyrába v práškovej forme

Záver

Presná identifikácia patogénov, znalosť jeho biológie a ekológie pomôže lepšie porozumieť jeho šíreniu a priebehu ochorenia v prirodzených ale aj hospodárskych lesoch. Čo umožní systematické zhodnotenie ďalších možností pestovných a ochranných zásahov.

V práci sme overili identifikáciu druhov rodu *Heterobasidion* metódou PCR. V dosiaľ spracovaných vzorkách z herbárových položiek aj TMP sme identifikovali *H. annosum sensu stricto* (Fr.) BREF na borovici, smreku, jedli a slivke, *H. parviporum* Niemelä a Korhonen na smreku, smrekovci a *H. abietinum* Niemelä a Korhonen na jedli a smreku. Výskyt sme zaznamenali v nadmorských výškach od 146 do 1 400 m n. m.

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 (50 %).

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0045-10 (50 %).

Literatúra

- BENDZ-HELLGREN, M., BRANDTBERG, P.-O., JOHANSSON, M., SWEDJEMARK, G., STENLID, J., 1999: Growth rate of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* established on forest land and arable land. *Scandinavian journal of forest research*, 14(5): 402-407.
- DIMITRI, L., 1969: Ein Beitrag zur Infektion der Fichtenwurzel durch den Wurzelschwamm *Fomes annosus* (Fr.) Cooke. *Forstwissenschaftliches Centralblatt*, 88, 72-80.
- KORONEN, K., 1978: Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Communicationes instituti forestalis Fenniae*, 94 (6), 1-25.
- ŁAKOMY, P., A. WERNER, 2003: Distribution of *Heterobasidion annosum* intersterility groups in Poland, *Forest Pathology*, 33(2): 105-112.
- NIEMEILÄ, T., KORHONEN, K., 1998: Taxonomy of the genus *Heterobasidion*. In: WOODWARD, S., STENLID, J., KARJALAINEN, R & HÜTTERMANN, A. (eds.). *Heterobasidion annosum: Biology, ecology, impact and control*. CAB International, Oxon, U.K., 27-33.
- PIRI, T., 2003: Silvicultural control of *Heterobasidion* root rot in Norway spruce forests in southern Finland. Regeneration and vitality fertilization of infected stands. *The Finnish Forest Research Institute, Research Papers 898*, 64 p.
- PIRI and VIIRI, 2009: Effects of energy wood harvesting on forest damages. Dostupné na internete <http://www.tapio.fi>.
- REDFERN, D.B. & STENLID, J. 1998: Spore dispersal and infection. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R & Hüttermann, A. (eds.). *Heterobasidion annosum: Biology, ecology, impact and control*. CAB International, Oxon, U.K., 105-124.
- SEDLÁK, P., 2011: Species distribution and host spektrum of *Heterobasidion annosum* s.l. in the Czech republic. In: 12th International scientific conference of PhD. students, young scientists and pedagogues. Nitra, Book of abstract, p. 21.
- STENLID, J. & WÄSTERLUND, I., 1986: Estimating the frequency of stem rot in *Picea abies* using an increment borer. *Scandinavian journal of forest research*, 1, 303-308.