

MONIKA MAŁECKA, ZBIGNIEW SIEROTA, ANNA ŻÓŁCIAK

Porównanie skuteczności preparatów z grzybem *Phlebiopsis gigantea* zastosowanych do zabezpieczania pniaków sosnowych na gruntach porolnych przed infekcją pierwotną *Heterobasidion annosum*

Comparison of efficacy of the biological preparation with some *Phlebiopsis gigantea* isolates used to protect Scots pine stumps against primary infection of *Heterobasidion annosum* on post agricultural lands

ABSTRACT

Małecka M., Sierota Z., Żółciak A. 2012. Porównanie skuteczności preparatów z grzybem *Phlebiopsis gigantea* zastosowanych do zabezpieczania pniaków sosnowych na gruntach porolnych przed infekcją pierwotną *Heterobasidion annosum*. Sylwan 156 (7): 526-532.

Three products (RotstopF, RotstopS and PGSuspension) based on lyophilised spores of registered isolates of *Phlebiopsis gigantea* and non-registered Polish PgIBL as a control were tested in Scots pine stumps located in 3 forest regions (north-west, north, east) of Poland in autumn 2007, spring 2008 and autumn 2008. One year later the presence of: a) subcortical mycelium and b) the fruit bodies of *P. gigantea*, and c) symptoms of sapwood decay were counted and compared as Biological Treatment Efficacy (BTE) index. Obtained BTE values inform that generally PgSuspension preparation was the most effective if applied in spring 2008, whereas both Rotstop preparates showed similar and compared effectiveness in all terms of application. The differences in preparation efficacy between forest regions were found.

KEY WORDS

Scots pine, stumps, *Heterobasidion annosum*, *Phlebiopsis gigantea*, biopreparations

ADDRESSES

Monika Małecka – e-mail: M.Malecka@ibles.waw.pl

Zbigniew Sierota – e-mail: Z.Sierota@ibles.waw.pl

Anna Żółciak – e-mail: A.Zolciak@ibles.waw.pl

Zakład Ochrony Lasu; Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3; 05-090 Raszyn

Wstęp

W 2009 roku Komisja Wspólnoty Europejskiej pozytywnie rozpatrzyła wnioski firm Verdera (Finlandia) i Forestry Commission (Wielka Brytania) o rejestrację wybranych izolatów grzyba *Phlebiopsis gigantea* jako substancji czynnej liofilizowanych preparatów biologicznych zalecanych przeciwko *Heterobasidion annosum*, sprawcy huby korzeni. Równocześnie, w roku 2010, upłynął termin stosowania w Lasach Państwowych polskiego środka ochrony PgIBL [Żółciak, Sierota 2010]. Oznacza to, że preparaty Rotstop i PGSuspension [Pratt i in. 2000], po ich zarejestrowaniu, staną się jedynymi legalnymi środkami rekomendowanymi do ochrony drzewostanów na gruntach porolnych przed hubą korzeni. Preparaty te stosowane są powszechnie w krajach skandynawskich i Wielkiej Brytanii, przede wszystkim w drzewostanach świerkowych, z użyciem harwesterów, które wyposażone są w system natryskujący ciecz roboczą bezpośrednio i wyłącznie na

czoło pniaka w trakcie ścinki drzewa. Mając na względzie odmiennosc warunków siedliskowo-drzewostanowych, zróżnicowany stopień zagrożenia chorobowego naszych lasów, jak również inny, niż w krajach zachodnich, charakter gospodarki leśnej, niezbędnym było określenie skuteczności tych preparatów oraz stopnia zasiedlania inokulowanych pniaków przez wprowadzane izolaty grzyba do drzewostanów sosnowych w warunkach polskich. Wstępne badania dotyczące skuteczności wymienionych preparatów, aczkolwiek tylko częściowo uwzględniające stosowanie zarejestrowanych izolatów, realizowali Łakomy [2001], Łakomy i Zarakowski [2000], Żółciak [2005, 2007] oraz Żółciak i Sierota [2010].

Celem prezentowanych badań była praktyczna ocena skuteczności wybranych preparatów (różny producent, różna trwałość formy roboczej izolatu) zastosowanych do ograniczania rozwoju chorób korzeniowych w drzewostanach gospodarczych Lasów Państwowych, przede wszystkim patogenów rodzaju korzeniowiec (*Heterobasidion* sp.).

Materiał i metody

Badania prowadzono w latach 2007-2009 w drzewostanach sosnowych na gruntach porolnych (siedlisko Bśw) na terenie 20 nadleśnictw, spełniających następujące kryteria: potwierdzona obecność huby korzeni, zaplanowanie przez Nadleśnictwo zabiegów hodowlanych (czyszczenia lub trzebieże) oraz planowane zastosowanie preparatu biologicznego PgIBL [Małecka i in. 2012]. Nadleśnictwa te do dalszych porównań zgrupowano w trzy „rejony” o zbliżonych warunkach klimatycznych. Rejon północno-zachodni (1) obejmował nadleśnictwa Cewice, Strzebielino (RDLP Gdańsk), Jastrowie, Mirosławiec (RDLP Piła) i Łupawa, Szczecinek (RDLP Szczecinek); rejon północny (2) – Dwukoły, Jedwabno, Nidzica, Olsztynek, Wipsowo (RDLP Olsztyn), Gniewkowo i Skrwilno (RDLP Toruń), a rejon wschodni (3) – Bielsk, Krynki, Rajgród (RDLP Białystok), Parczew, Sobibór, Włodawa (RDLP Lublin) oraz Dobieszyn (RDLP Radom).

W badaniach oceniano preparaty liofilizowane RotstopF i RotstopS produkcji fińskiej firmy Verdera oraz PGSuspension produkcji angielskiej firmy Forestry Commission. Dla porównania wykorzystano także stosowany dotychczas polski preparat PgIBL. Zabieg ochronny wykonano jesienią 2007 roku oraz wiosną i jesienią 2008 roku, natomiast ocenę skuteczności w tych samych terminach po upływie roku. Sposób przygotowania preparatów, wykonanie zabiegów oraz metodykę sposobu oceny obecności grzybni i owocników w pniakach zaprezentowano szczegółowo w opracowaniu Małeckiej i in. [2012]. W analizowanych pniakach oceniano, poza obecnością grzybni i owocników *P. gigantea*, także szacunkowy stopień rozkładu drewna części bielastej pniaka. W pniak uderzano z jednakową siłą ostrzem siekiery od strony czoła i z boku (autorzy mają ponad 20-letnie doświadczenie w tego typu próbach), co umożliwiała szacunkową ocenę stopnia rozkładu w 3-stopniowej skali:

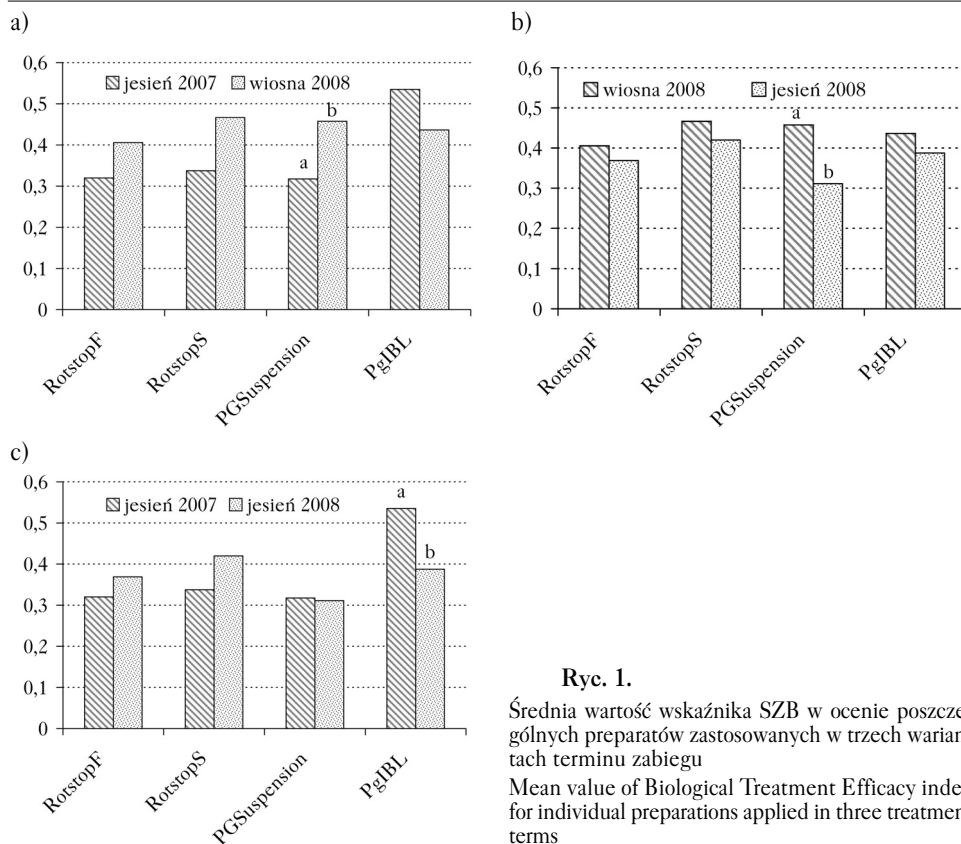
- 1 – pniak twardy, bez cech rozkładu drewna (ostrze nie zagłębia się w drewno),
- 2 – wykazujący początkowy rozkład drewna (słaba łupliwość, ostrze siekiery zagłębia się nieznacznie w drewno, po odłupaniu słabo widoczne symptomy obecności białej grzybni *P. gigantea* – potwierdzone analizą mykologiczną na pożywce agarowo-maltosowej),
- 3 – pniak wykazujący wyraźne cechy rozkładu drewna (dobra łupliwość, ostrze siekiery z łatwością wbija się w drewno, widać białe smugi grzybni w drewnie, rozwijającej się wzdłuż promieni rdzeniowych, co potwierdzono analizą mykologiczną na pożywce agarowo-maltosowej).

Uzyskane dane obecności każdej z trzech cech ocenianego pniaka, czyli: a) grzybni pod korą lub w nabiegach korzeniowych, b) owocnika na powierzchni ścicia pniaka i c) śladów rozkładu drewna części bielastej pniaka lub korzeni, pozwoliły na obliczenie syntetycznego wskaźnika skuteczności zabiegu biologicznego (SZB). Jego wartość wyliczono jako iloraz sumy liczby pniaków wykazujących wymienione wyżej symptomy obecności *P. gigantea* oraz maksymalnej liczby pniaków (N), gdyby każda z tych 3 cech wystąpiła na ocenianych pniakach osobno ($SZB = \frac{a+b+c}{3N}$). Wartość $SZB=1,0$ oznacza, że wszystkie aplikowane preparatem pniaki zostały zasiedlone przez wprowadzony izolat grzyba, którego grzybnia była w stanie wytworzyć owocnik i powodować rozkład części bielastej.

Uzyskane wartości wskaźnika SZB, po transformacji Blissa w celu uzyskania normalności rozkładu, porównano zależnie od rodzaju preparatu, terminu wykonania zabiegu oraz jego lokalizacji. Istotność różnic między średnimi oceniano testem Tukey'a, przyjmując do weryfikacji istotności różnic 95% przedział ufności ($p < 0,05$). Obliczenia wykonano w programie Statgraphics™ Centurion XV.

Wyniki

Ocena skuteczności zabiegu biologicznego wskazuje na znaczne różnice pomiędzy preparatami w zależności od terminu wykonania zabiegu ochronnego (ryc. 1). W przypadku zabiegu jesienno-wiosennego w 2007 roku największą skuteczność wykazał preparat porównawczy PgIBL ($SZB=0,54$). Skuteczność preparatów zgranicznych była niższa, także w porównaniu z innymi terminami



Ryc. 1.

Średnia wartość wskaźnika SZB w ocenie poszczególnych preparatów zastosowanych w trzech wariantach terminu zabiegu

Mean value of Biological Treatment Efficacy index for individual preparations applied in three treatment terms

(wartość wskaźnika SZB zawierała się w przedziale 0,32-0,34). Najwyższe wartości wskaźnika SZB dla preparatów zagranicznych uzyskano w przypadku zabiegu wiosennego w 2008 roku (0,41-0,47), natomiast dla zabiegu jesiennego w 2008 roku znalazły się one na poziomie pośrednim (0,31-0,42).

Stwierdzono, że odmienność warunków panujących podczas zabiegu i w trakcie rozwoju grzyba w drewnie pniaka miała wpływ na efektywność zabiegu w przypadku PGSuspension i PgIBL. Skuteczność preparatu PGSuspension zastosowanego w wariantcie wiosennym była statystycznie istotnie wyższa od skuteczności obliczonej dla pozostałych dwóch wariantów ($p=0,0444$ i $p=0,0232$), natomiast w przypadku PgIBL taką różnicę wykazano przy porównaniu wyników jesiennych wariantów zabiegu w latach 2007-2008 ($p=0,0029$).

Biorąc pod uwagę porównanie wartości wskaźników SZB dla poszczególnych preparatów w danym terminie zabiegu, preparat PgIBL można określić jako najbardziej skuteczny dla zabiegów wykonanych jesienią 2007 roku. RotstopS oraz RotstopF sprawdziły się najlepiej przy zastosowaniu wiosną 2008 roku, a PGSuspension okazał się najmniej skuteczny w obu terminach jesiennych. Wyniki te zweryfikowano oceną skuteczności zabiegów w poszczególnych rejonach kraju.

Zaobserwowano istotny ($p=0,0017$) wpływ warunków klimatyczno-siedliskowych, wyrażonych wspólnym określeniem „rejon”, na skuteczność zasiedlania pniaków przez *P. gigantea* niezależnie od rodzaju preparatu (tab.). Warunki pogodowe okresu jesień 2007 – zima 2007/2008 – wiosna 2008 w ocenianych rejonach były zróżnicowane, a przez to mogły mieć istotny wpływ na przeżywalność grzybni w inokulowanych pniakach [Małecka i in. 2012]. Dla ocenianych terminów inokulacji (wpływ zimy 2007/2008) grzybnia *P. gigantea* miała najlepsze warunki rozwoju w pniakach w rejonie 3, przy czym wykazano wyraźne różnice interakcyjne w aktywności kolonizacji pniaków przez oceniane preparaty (ryc. 2a).

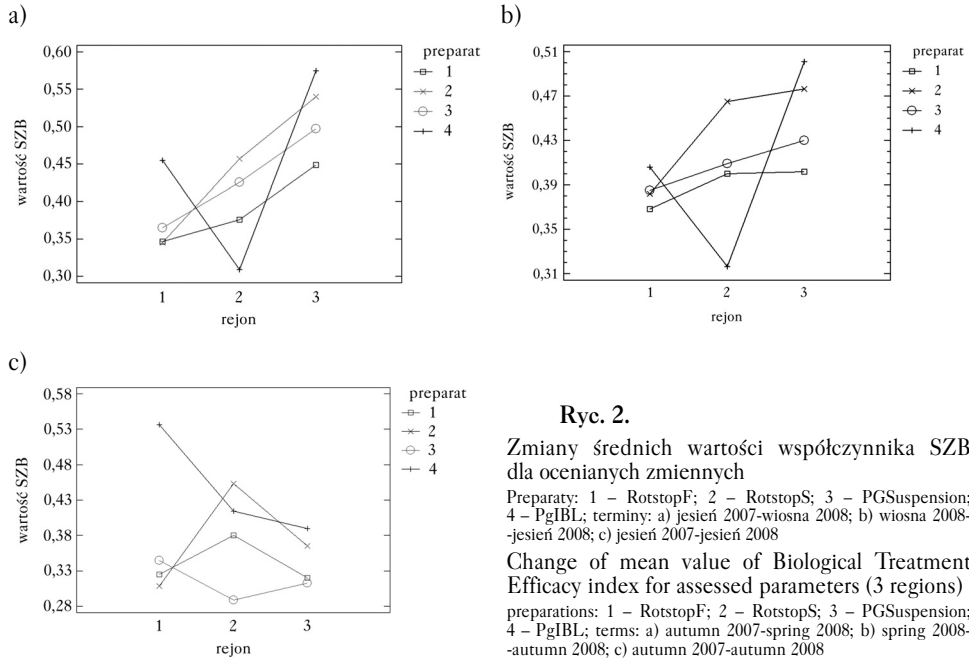
Wyniki uzyskane po wykonaniu zabiegu w roku 2008 (wiosną i jesienią) nie wykazały istotnych różnic w efektywności zabiegu ochronnego pomiędzy preparatami a rejonem ich zastosowania (tab.). Stwierdzono jedynie pewne zróżnicowanie zmienności wartości wskaźnika SZB dla ocenianych interakcji (ryc. 2b).

Z porównania stopnia skuteczności zabiegów jesiennych wykonanych w 2007 i 2008 roku (tab.) wynika, że warunki termiczne i wilgotnościowe występujące podczas ich wykonywania, a zwłaszcza opisany w pracy Małeckiej i in. [2012] przebieg temperatury następującego po zimie sezonu wegetacyjnego, miały istotny wpływ na zróżnicowanie skuteczności analizowanych preparatów. Szczególnie wyraźnie ilustruje to rozkład interakcji wartości poszczególnych zmiennych (ryc. 2c), zwłaszcza wartości SZB dla preparatów w rejonach północno-zachodnim i północnym.

Dyskusja

Zaobserwowano dosyć duże podobieństwo skuteczności trzech badanych preparatów z liofilizowaną *P. gigantea* pod względem zasiedlania i rozkładu pniaków. Najslabszą skuteczność preparaty te wykazały po zastosowaniu ich jesienią 2007 roku (SZB=0,32-0,34), najwyższą natomiast wiosną 2008 roku (SZB =0,41-0,47). W przypadku krajowego preparatu PgIBL uzyskano wynik odwrotny – największą skuteczność stwierdzono jesienią 2007 roku. W pozostałych dwóch terminach zabiegowych aktywność grzyba zawartego w tym preparacie była słabsza (ryc. 1).

Rozpatrując skuteczność preparatów pochodzenia zagranicznego w poszczególnych rejonach, można stwierdzić, że w rejonie północno-zachodnim wartości wskaźnika SZB były dla tych preparatów bardzo zbliżone, a w innych rejonach wykazywały podobne tendencje (ryc. 2). Nicco inaczej prezentowały się wyniki uzyskane dla porównawczego preparatu PgIBL, którego



Ryc. 2.

Zmiany średnich wartości współczynnika SZB dla ocenianych zmiennych

Preparaty: 1 – RotstopF; 2 – RotstopS; 3 – PGSuspension; 4 – PgIBL; terminy: a) jesień 2007-wiosna 2008; b) wiosna 2008-jesień 2008; c) jesień 2007-jesień 2008

Change of mean value of Biological Treatment Efficacy index for assessed parameters (3 regions)

preparations: 1 – RotstopF; 2 – RotstopS; 3 – PGSuspension; 4 – PgIBL; terms: a) autumn 2007-spring 2008; b) spring 2008-autumn 2008; c) autumn 2007-autumn 2008

Tabela.

Skuteczność zabiegów z użyciem 4 preparatów wykonanych w różnych terminach w trzech rejonach kraju
Efficacy of treatments with four preparations carried out in various dates in three regions

Termin	Źródła zmienności	Suma kwadratów	Liczba stopni swobody	Średnie kwadraty	F	P
Główne czynniki:						
jesień 2007- -wiosna 2008	A – preparat	0,0550444	3	0,0183481	0,73	0,5393
	B – rejon	0,346665	2	0,173333	6,85	0,0017*
	Interakcje AB	0,193795	6	0,0322991	1,28	0,2754
	Błąd losowy	2,37738	94	0,0252912		
	Suma	2,97404	105			
Główne czynniki:						
wiosna 2008- -jesień 2008	A – preparat	0,035754	3	0,011918	0,46	0,7089
	B – rejon	0,0939961	2	0,046998	1,82	0,1665
	Interakcje AB	0,140391	6	0,0233986	0,91	0,4920
	Błąd losowy	2,60099	101	0,0257524		
	Suma	2,88631	112			
Główne czynniki:						
jesień 2007- -jesień 2008	A – preparat	0,127109	3	0,0423698	4,46	0,0074*
	B – rejon	0,0145395	2	0,00726974	0,76	0,4707
	Interakcje AB	0,117669	6	0,0196115	2,06	0,0740
	Błąd losowy	0,484774	51	0,00950536		
	Suma	0,734543	62			

* istotność różnic przy p<0,05

* difference significant at p<0.05

istotą była żywa i ciągle rozwijająca się w podłożu trocinowym grzybnia tego saprotrofa. Jak się wydaje, to właśnie te cechy ocenianych preparatów, a nie aktywność enzymatyczna konkretnego izolatu [Żółciak i in. 2008], wyraziły się ich nieco zróżnicowaną skutecznością. Należy w tym miejscu wyraźnie zaznaczyć, że wszystkie testowane preparaty wykazały wysoką efektywność w zasiedlaniu podłoża (drewna pniaków) i trwałości rozkładu korzeni w warunkach opisanego doświadczenia.

Pewne zróżnicowanie skuteczności wynikało z przebiegu warunków pogodowych, bowiem w przypadku preparatów liofilizowanych na efektywność zasiedlenia podłoża mają wyraźny wpływ warunki termiczne i wilgotnościowe. Zarodniki liofilizowane muszą być rozprowadzone w wodzie i w formie zawiesiny nanoszone na świeżo ścięte pniaki. Po spęcznieniu muszą mieć czas i warunki na skielkowanie, wytworzenie strzępek grzybni oraz podjęcie funkcji zasiedlania podłoża – uaktywnienie enzymów, przewyciężanie metabolitów oraz związków fenolowych i terpenowych wytwarzanych przez komórki drewna pniaka. Wilgotność środowiska, temperatura powietrza oraz szybkość wydzielania się żywicy w powstałym pniaku, to czynniki decydujące o udatności zabiegu. Dopiero po wnikięciu tak wytworzonej grzybni w drewno pniaka i korzeni saprotrof podejmuje swój „normalny” cykl rozwoju osobniczego, to znaczy aktywnie rozkłada celulozę i ligninę oraz inne elementy drewna [Pratt i in. 2000].

Warunki termiczne i wilgotnościowe w okresie wykonywania zabiegu mogą mieć bardzo istotne znaczenie dla jego efektywności [Sierota 1995]. Także zbyt niska temperatura zimą (przy zabiegu jesiennym) czy zbyt wysoka latem (przy zabiegu wiosennym) może znacznie osłabić tempo rozwoju grzybni lub nawet ją dezaktywować. Być może takie właśnie zjawiska wystąpiły w przebiegu warunków pogodowych w okresie zim 2007/2008 i 2008/2009 oraz w okresie letnim 2008 i 2009 [Mykhayliv, Sierota 2010]. W rezultacie wyraziło się to niskimi wartościami wskaźnika SZB dla preparatów RotstopF i PGSuspension w zabiegu jesiennym 2007 oraz PGSuspension jesienią 2008 roku. Należy jednak zaznaczyć, że jedynie dla tego ostatniego preparatu różnice pomiędzy ocenianymi okresami jesień 2007/wiosna 2008 oraz wiosna 2008/jesień 2008 były statystycznie istotne. Być może związane jest to z dość ostrym wymogiem producenta odnośnie do krótkiego okresu od przyrządzenia cieczy roboczej z preparatem PGSuspension do jej zastosowania (1 godz.). W naszych warunkach (trudny teren, duża liczba pniaków, różna sprawność wykonawcy, różna organizacja zrywki drewna) nie jest to łatwe do zapewnienia, a przedłużanie okresu wykonywania zabiegu znacznie zmniejsza żywotność zarodników w cieczy roboczej preparatu.

Wnioski

- ✦ Analizowane zagraniczne preparaty liofilizowane pod względem skuteczności zasiedlania pniaków sosnowych nie ustępują stosowanemu do niedawna krajowemu środkowi PgIBL.
- ✦ Stwierdzone zróżnicowanie pomiędzy badanymi preparatami w tempie zasiedlania pniaka i wytwarzaniu owocników jest związane z przebiegiem pogody w danym terminie i rejonie wykonywania zabiegu oraz może mieć związek z różnym okresem skuteczności działania cieczy roboczej.

Podziękowania

Autorzy pragną podziękować producentom preparatów (firmy: Verdera i Forestry Commission) za konfekcjonowanie wielkości opakowań dla potrzeb tego tematu, Dyrekcji Generalnej Lasów Państwowych za umożliwienie prowadzenia badań oraz Panom Nadleśniczym i pracownikom nadleśnictw za udzieloną pomoc i okazaną życzliwość w trakcie wykonywania badań.

Literatura

- Łakomy P. 2001. Comparison of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) stump treatment with PG and ROTSTOP based on *Phlebiopsis gigantea* (Fr.: Fr.) Julich. *Forestry* 4: 139-146.
- Łakomy P., Zarakowski T. 2000. Pine wood decomposition ability of different *Phlebiopsis gigantea* isolates. *Acta Mycol.* 35: 323-329.
- Małecka M., Żółciak A., Sikora K., Sierota Z. 2012. Ocena występowania grzybni i owocników *Phlebiopsis gigantea* w pniakach sosnowych po wykonaniu zabiegu ochronnego przed hubą korzeni. *Leś. Pr. Bad.* 73 (2): 127-136.
- Mykhayliv O., Sierota Z. 2010. Zagrożenie drzewostanów ze strony huby korzeni w zależności od temperatury gleby i opadów atmosferycznych. *Leś. Pr. Bad.* 71 (1): 51-60.
- Pratt J. E., Niemi M., Sierota Z. H. 2000. Comparison of three products based on *Phlebiopsis gigantea* for the control of *Heterobasidion annosum* in Europe. *Biocontrol Sci. Technol.* 10: 467-477.
- Sierota Z. 1995. Rola grzyba *Phlebiopsis gigantea* (Fr.: Fr.) Julich w ograniczaniu huby korzeni w drzewostanach sosny zwyczajnej (*P. sylvestris* L.) na gruntach porolnych. *Prace IBL s. A:* 810.
- Żółciak A. 2005. Wstępne wyniki inokulacji pniaków świerkowych preparatem biologicznym z żyłakiem olbrzymim (*Phlebiopsis gigantea*). *Leśn. Pr. Bad.* 66 (4): 29-40.
- Żółciak A. 2007. Scots pine stumps inoculation with *Phlebiopsis gigantea* biological preparations. *For. Res. Pap.* 2: 77-94.
- Żółciak A., Kornilłowicz-Kowalska T. A., Sierota Z., Iglík H. 2008. Enzymatic activity of *Phlebiopsis gigantea* isolates. *Acta Mycol.* 43 (1): 41-48.
- Żółciak A., Sierota Z. 2010. Rejestracja i stosowanie grzyba *Phlebiopsis gigantea* w UE. *Głosu Lasu* 1: 7-9.

SUMMARY

Comparison of efficacy of the biological preparation with some *Phlebiopsis gigantea* isolates used to protect Scots pine stumps against primary infection of *Heterobasidion annosum* on post agricultural lands

The studies were conducted in 3 regions (north-western, northern and eastern part of Poland) located in 20 Forest Districts on post agricultural lands in Scots pine stands 20-50 years old, threatened by *H. annosum*. In autumn 2007, and spring and autumn 2008 some trees were cut in silvicultural thinning and stumps were inoculated with four preparations with *Phlebiopsis gigantea*: commercial and lyophilized RotstopF, RotstopS (Verdera, Finland), PGSuspension (Forestry Commission, UK) and living PgIBL (Biofood, Poland), according strictly to the producer rules. A year after treatment, the presence of *P. gigantea* subcortical mycelium (a) and fruit bodies (b) were noticed and additionally symptoms of sapwood decay (c) were estimated to count the Biological Treatment Efficacy index. BTE=1 means that inoculation was successful and all stumps were characterized by presence of mycelium, fruit bodies and symptoms of decay caused by *P. gigantea*. The results were analyzed with the use of ANOVA by Statgraphics™ Centurion XV. It was showed that spring 2008 was the best time of application for the lyophilized products, whereas autumn 2007 for Polish PgIBL. One year after treatment all analyzed preparations showed a different efficacy regarding to the region of application and period of treatment, as result of possible influence of different weather conditions.