

15. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin, 1.–2. marec 2022, Portorož

Najpogosteje izolirane vrste gliv v lesu odmrlih vej mladih gorskih javorov in vpliv nekaterih na *Eutypella parasitica*

Ana Brglez, Barbara Piškur, Nikica Ogris

Oddelek za varstvo gozdov
Gozdarski inštitut Slovenije



GOZDARSKI INŠTITUT SLOVENIJE
SLOVENIAN FORESTRY INSTITUTE

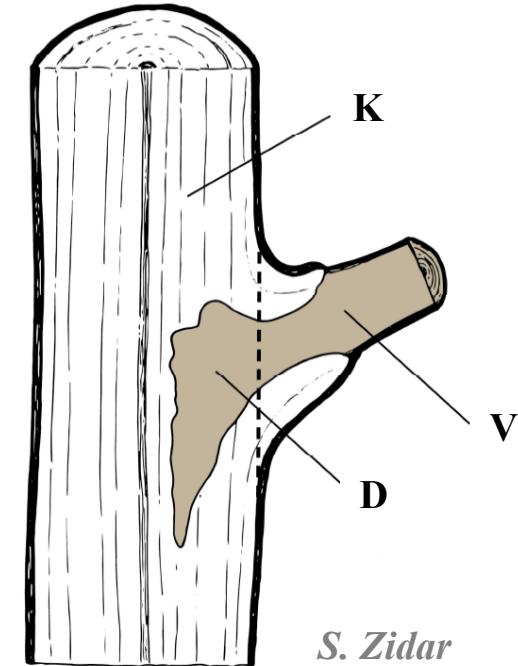
1. UVOD

- *E. parasitica* R. W. Davidson and R. C. Lorenz
 - najverjetneje okuži gostitelja skozi odmrlo vejo ali rano na deblu
 - morebiten vpliv glivne združbe na okužbo in rast *E. parasitica*
 - **CILJ 1:** Določiti najpogostejše vrste gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora (*Acer pseudoplatanus*) na petih lokacijah v okolini Ljubljane.
 - **CILJ 2:** Izmeriti vpliv desetih najpogostejših vrst gliv v lesu odmrlih vej gorskega javora na rast glive *E. parasitica* v čisti kulturi in ugotoviti njihov morebitni antagonizem.
-
- <https://www.mdpi.com/1999-4907/11/4/467/htm>
 - <https://www.mdpi.com/1999-4907/11/10/1072/htm>

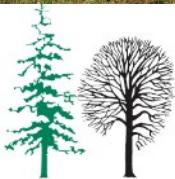


2. METODA – vzorčenje

- 5 lokacij v okolici Ljubljane
- od novembra 2017 do marca 2018
- vzorec: 40 vej/lokacijo (skupno 200 odmrlih vej *A. pseudoplatanus*)



S. Zidar



2. METODA – izolacija in identifikacija gliv

- površinska sterilizacija in nacepitev na 2 % MEA gojišče
- razločitev morfotipov na podlagi morfoloških značilnosti
- identifikacija morfotipov ($F > 5$ kultur) z molekularnimi metodami
- deponiranje sekvenc v podatkovno bazo NCBI (GenBank)
- deponiranje kultur v ZLVG
- izračun relativnih frekvenc, indeksa gostote, Shannonovega diverzitetnega indeksa, Jaccardovega indeksa podobnosti ipd.
- **preverjanje razlik v pestrosti vrst**
- **preverjanje podobnosti združb gliv**



2. METODA – test dvojnih kultur

- nacepitev koščkov na 3.9% PDA gojišče (\emptyset 5 mm; 4 cm narazen)
 - *E. parasitica* + 10 najpogosteje izoliranih vrst
 - *E. parasitica* + *E. parasitica* (samoinhibicija)
 - *E. parasitica* + sterilen agar (kontrola)
- spremljanje rasti in določitev tipa interakcije

→ 3 ponovitve/kombinacijo!

Label	Type of Interaction	Score
A	Deadlock ¹ at mycelial contact	1
B	Deadlock at a distance, without mycelial contact	2
C	Replacement ²	3
C _{A1}	Partial replacement after initial deadlock with mycelial contact	3.5
C _{B1}	Partial replacement after initial deadlock at a distance	4
C _{A2}	Complete replacement after initial deadlock with mycelial contact	4.5
C _{B2}	Complete replacement after initial deadlock at a distance	5

¹ Mutual inhibition in which neither isolate was able to overgrow the other. ² Overgrowth without initial deadlock.

Brglez in sod., 2020

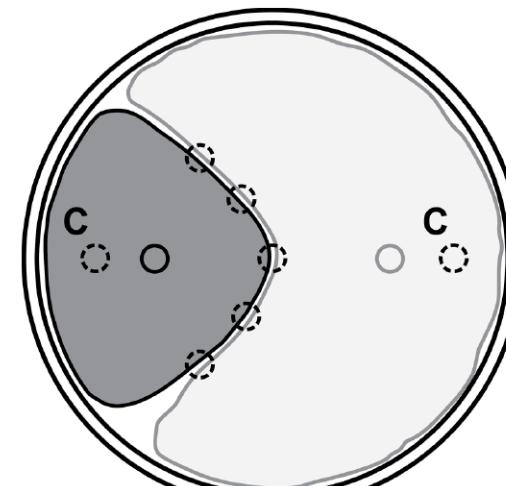
- izračun antagonističnega indeksa



2. METODA – reizolacije

- 10 dni po stiku micelijev ali 10 dni od konca rasti
- odvzem in nacepitev koščkov (\varnothing 5 mm) na nova gojišča
 - 5x iz interakcijske cone
 - 2x kontrola

- morfološki pregled kultur
- molekularna določitev prisotnosti/odsotnosti *E. parasitica* v reizoliranih kulturah



- izračun uspešnosti reizolacij iz interakcijske cone

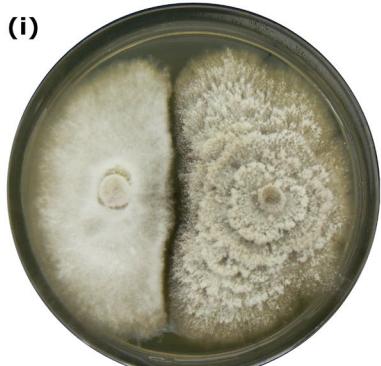
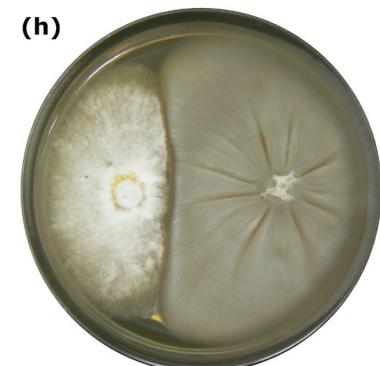
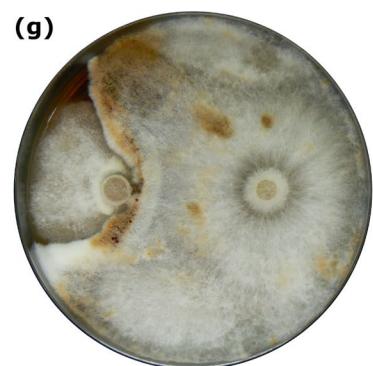
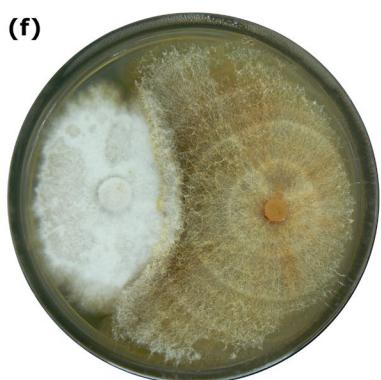
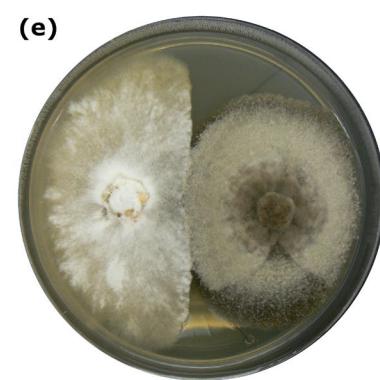
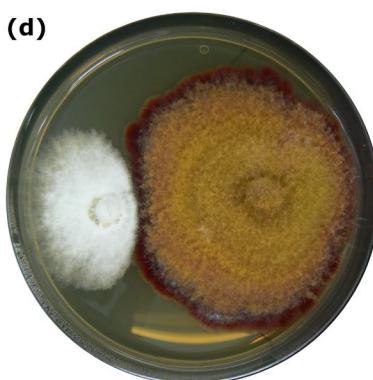
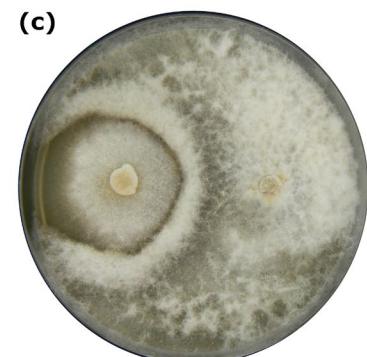
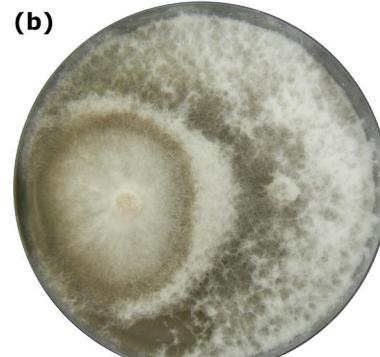
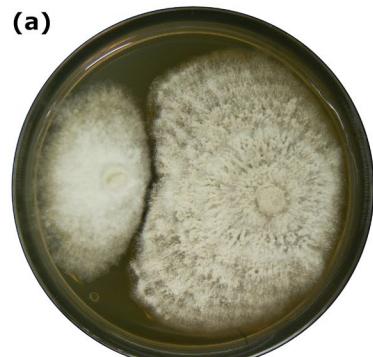
3. REZULTATI – najpogostejše vrste

- 91 morfotipov ($F > 5$ kultur) → 58 identificiranih taksonov
- 5 najpogosteje izoliranih vrst: *Eutypa maura*, *Eutypa* sp. 2, *Fusarium avenaceum*, *Neocucurbitaria acerina* in *E. parasitica*

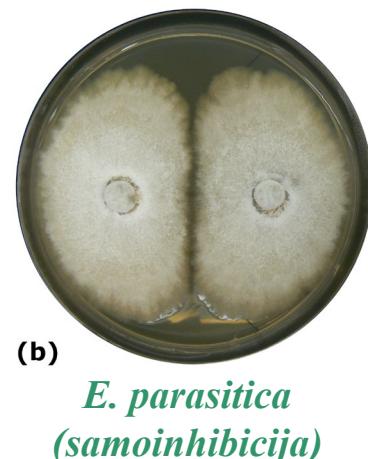
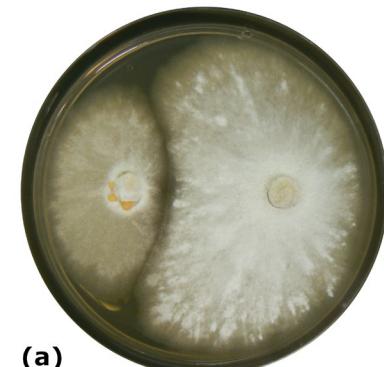
RAZLIKE MED:	PESTROST VRST	GLIVNA ZDRUŽBA
lokacijami	✗	✓
mesti izolacij	✗	✓
debelinskimi razredi vej	✗	✓

- *E. parasitica*
 - izolirana iz vseh lokacij, čeprav razvitih rakov nismo opazili povsod
 - 1.5x pogostejša v D, kot v V
 - ni razlik v pestrosti vrst/glivni združbi med vejami z in brez *E. parasitica*





Brglez in sod., 2020



3. REZULTATI – antagonizem

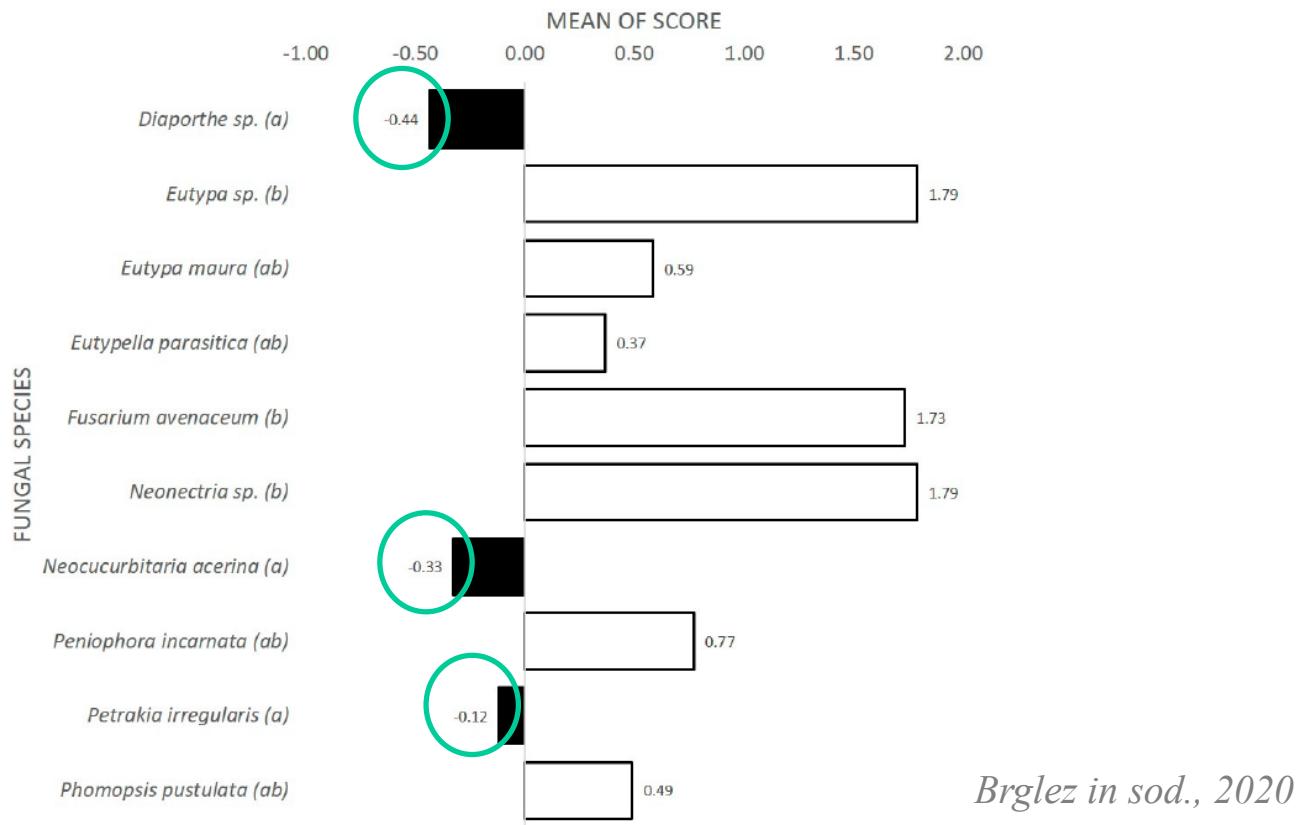
Fungal Isolate	Interaction Type ²	AI
<i>Diaporthe</i> sp.	A ³	4
<i>Eutypa</i> sp.	C _{A1}	10.5
<i>Eutypa maura</i>	C _{A1}	10.5
<i>Eutypella parasitica</i> (ZLVG 791)	A	3
<i>Eutypella parasitica</i> (ZLVG 805) ¹	A	3
<i>Fusarium avenaceum</i>	A	3
<i>Neocucurbitaria acerina</i>	A ³	4
<i>Neonectria</i> sp.	C _{A1}	10.5
<i>Peniophora incarnata</i>	C _{A1}	10.5
<i>Petrakia irregularis</i>	A	3
<i>Phomopsis pustulata</i>	A	3

Brglez in sod., 2020

- višji AI = višji inhibitorni učinek oz. večja konkurenčnost izzivalnega izolata



3. REZULTATI – reizolacije



- višji s = višja uspešnost reizolacij, kar kaže na uspešnejše tekmovanje z *E. parasitica*



4. SKLEPI

- odkrili izjemno širok spekter gliv
- zagotovo je prisotnih še več vrst, ki jih nismo identificirali
- samo *Eu. maura* se pojavlja tudi v drugih raziskavah
- sestava, številčnost in razporeditev gliv v lesu odvisna od:
 - gostitelja (zdravstveno stanje, starost, stopnja razgradnje, starost in debelina vej)
 - okolja (temperatura, padavine, razpoložljivost vode, drevesna sestava)
 - vzorčenja, izolacije in inkubacije (čas vzorčenja, metoda izolacije, razmere inkubacije)
- izolacije *E. parasitica* iz vseh lokacij



4. SKLEPI

• Inhibitorni učinek	
VISOK (> AI in > s)	<i>Eutypa</i> sp.*, <i>Eu. maura</i> , <i>Neonectria</i> sp.*, <i>P. incarnata</i>
SREDNJI	<i>F. avenaceum</i> **, <i>Ph. pustulata</i>
NIZEK (< AI in < s)	<i>Diaporthe</i> sp., <i>N. acerina</i> , <i>Pe. irregularis</i>

* uničenje *E. parasitica* v interakcijski coni

** nizek AI in visok s (kompleksnost interakcije)

- delni vpogled v kompleksnost interakcij med *E. parasitica* in najpogosteje izoliranimi vrstami v lesu odmrlih vej g. javorja
- preliminarni rezultati laboratorijskih testov (razširitev!)
- nujnost raziskav v naravi za točnejše zaključke o uporabi določenih vrst za biološko kontrolo



HVALA ZA POZORNOST

Vprašanja?



GOZDARSKI INŠITUT SLOVENIJE
SLOVENIAN FORESTRY INSTITUTE