

KRYSTYNA PRZYBYŁ

Ceratocystis fimbriata (Ell. et Halst.) —
sprawca nowej choroby topoli¹*Ceratocystis fimbriata* (Ell. et Halst.) — Возбудитель новой болезни у тополей*Ceratocystis fimbriata* (Ell. et Halst.) as a cause of new poplar disease

WSTĘP

Grzyb *Ceratocystis fimbriata* (Ell. et Halst.) wywołuje zmiany chorobowe u wielu gatunków roślin (3). Do wnętrza gospodarza może wnikać przez rany i skaleczenia na korzeniach, pniach a nawet owocach. *C. fimbriata* po raz pierwszy został wyizolowany przez Halsteda w 1890 r. z chorych batatów (*Ipomoea batatas*). Następnie Zimmerman (1900) wyizolował z porażonych krzewów kawowych formę tego grzyba znaną jako *Rostrella coffeae*. Nomenklatura patogena zmieniała się kilkakrotnie do momentu, kiedy Bakshi w 1951 r. przywrócił właściwą nazwę *Ceratocystis fimbriata* (3). Grzyb jest znany jako groźny patogen chorób pni drzew leśnych. Wood i French (9) stwierdzili, że *C. fimbriata* powoduje powstanie na pniach osiki *P. tremuloides* zrakovaciących zmian, które ze względu na koncentryczny układ warstw kalusowych nazwali rakiem typu tarczy (ang. target canker). Badania tych autorów zostały potwierdzone przez Zalsky'ego (10, 11), który również prześledził proces infekcji tego patogena na osice. W Ameryce Północnej, Francji i we Włoszech jest rozpowszechniona choroba platanów „black stain”, którą również wywołuje *C. fimbriata* (Ell. et Halst.) Davidson forma platanu Walter (1, 6). W Polsce rak topoli wywoływany przez bakterie lub grzyby ma duże znaczenie. Na podstawie dokonanych w 1978 r. przeglądów kilkunastu plantacji topolowych w północnej i środkowej części kraju stwierdzono, że nie tylko pojedyncze drzewa, ale całe plantacje topolowe porażone są tą chorobą.

Obecnie jednym z pierwszych ważniejszych zagadnień jest określenie i znalezienie właściwego patogena wywołującego typowe zrakovaciące zmiany na topolach. Również nie mniej istotne jest rozróżnienie charakterystycznych symptomów dla raka bakteryjnego i grzybowego. Grèmmen i De Kam (2) opisali raka tarczowego na pniach topoli w Polsce, którego sprawcą był grzyb *C. fimbriata*. Wykonana przez tych fitopatologów izolacja patogena z rakowatych tkanek klonu topoli P. 'Kórnik 5'

¹ Praca wykonana w temacie międzyresortowym II/15, finansowana przez PAN.

(*P. maximowiczii* x?) potwierdziła charakterystyczne makroskopowe symptomy świadczące o jego obecności (2). Dokonany przegląd plantacji topolowych pod kątem znalezienia sprawcy raka topoli w północnej, środkowej zachodniej części Polski potwierdził w pełni szkodliwość grzyba i jego występowanie na topolach.

**Wykaz położenia plantacji topolowych
i odmian topoli, z których dokonywano
próby izolacji sprawcy raka topoli**

Odmiany topoli	Miejsce izolacji	Obecność <i>C. fimbriata</i>
Izolacja w kwietniu		
P. 'Hybrida 194' (P. 'NE 49')	Leśnictwo dośw. Zwierzyniec Instytutu Dendr. PAN Kórnik	+
nieznana odmiana topoli	Nadl. Kościan, leśn. Bonikowo	+
P. 'Hybrida 277' (P. 'NE 44')	Nadl. Kościan, leśn. Bonikowo	+
nieznana odmiana topoli	Nadl. Biedrusko, leśn. Chłudowo	+
P. 'Hybrida 277' (P. 'NE 44')	Nadl. Żołędowo, leśn. Ostromecko	+
P. 'Kórnik 6' (P. <i>maximowiczii</i> x ?)	Nadl. Żołędowo, leśn. Ostromecko	+
P. 'Hybrida 194' (P. 'NE 49')	Nadl. Żołędowo, leśn. Ostromecko	+
nieznana odmiana topoli	szosa między Poznaniem a Inowrocławiem	+
P. <i>maximowiczii</i>	Nadl. Mrągowo	+
P. 'Kórnik 8' (P. <i>maximowiczii</i> x <i>P. pyramidalis</i>)	Nadl. Mrągowo	+
P. 'Kórnik 1' (P. <i>maximowiczii</i> x <i>P. pyramidalis</i>)	Nadl. Mrągowo	+
Izolacja w lipcu		
P. 'Kórnik 6' (P. <i>maximowiczii</i> x ?)	Nadl. Grudziądz, leśn. Ostrów Panieński	+
P. 'Kórnik 23' (P. <i>deltoides</i> <i>angulata</i> 'cordata' x <i>P. beringensis</i>)	Nadl. Grudziądz, leśn. Ostrów Panieński	+
P. 'Hybrida 277' (P. 'NE 44')	Nadl. Gryfino, leśn. Sosnowo	+
P. 'Kórnik 6' (P. <i>maximowiczii</i> x ?)	Nadl. Gryfino, leśn. Sosnowo	+
P. 'Kórnik 1' (P. <i>maximowiczii</i> x <i>P. pyramidalis</i>)	Nadl. Gryfino, leśn. Sosnowo	+
P. 'Kórnik 8' (P. <i>maximowiczii</i> x <i>P. pyramidalis</i>)	Nadl. Gryfice, leśn. Bolikowo	+
P. 'Hybrida 277' (P. 'NE 44')	Nadl. Złotów, leśn. Lipka	+
P. 'Hybrida 194' (P. 'NE 49')	Nadl. Złotów, leśn. Lipka	+
P. 'Hybrida 277' (P. 'NE 44')	Nadl. Pelpin, leśn. Bukowiec	—
P. 'Hybrida 275' (P. 'NE 42')	Nadl. Ryjewo, leśn. Benowo	—
P. <i>trichocarpa</i>	Nadl. Tanowo, leśn. Zalesie	—
P. 'Kórnik 5' (P. <i>maximowiczii</i> x ?)	Nadl. Elbląg, leśn. Janowo	—

MATERIAL I METODY

W kwietniu i w maju 1978 r. dokonano przeglądu plantacji topolowych w 13 nadleśnictwach w północnej i środkowo-zachodniej części Polski (tab.). Z zachowaniem możliwych warunków sterylnych z porażonych pni topoli na pograniczu tkanki zdrowej i chorej pobierano kawałki kory i łyka. W laboratorium pobrane inokula wkładano do wilgotnej komory i przechowywano w temperaturze 30°C. Z rozwiniętej grzybni z charakterystycznymi dla *C. fimbriata* konidiami i ascosporami wyprawdzało czyste kultury stosując pożywkę maltozową (Difco) — pH 5,5 i ziemniaczaną (Difco) — pH 5,6. Hodowlę grzyba prowadzono na wymienionych pożywkach stałych i płynnych mineralnych z glukozą (pH 5,6).

Następnie badano etiologię grzyba opierając się na systematyce H u n t a (3). Również z pogranicza tkanki zdrowej i chorej pobranych z raków kawałków kory i łyka wycinano skalpelem mniejsze inokula i wykładano na pożywkę YPG (yeast agar, pepton, glukoza, pH 7,0—7,2) charakterystyczną dla bakterii *Xanthomonas populi* subsp. *populi* (Ridé) Ridé et Ridé (4).

W celu stwierdzenia stopnia patogeniczności wyizolowanego grzyba wykonano szereg sztucznych infekcji 12 odmian topoli. W warunkach szklarniowych nakładano grzybnię z zarodnikami endokonidialnymi i workowymi *C. fimbriata* na ślad liściowy kilkumiesięcznych pędów topoli rosnących w doniczkach. Również w warunkach laboratoryjnych zakażano zrzesy 10 odmian topoli przez nałożenie inkulum na ranę po oderwaniu pąka lub na rozwijający się pąk liściowy. Następnie zainfekowane zrzesy wkładano do probówek ze sterylną wodą i utrzymywano w kabinie fitopatologicznej w temperaturze 24°C i 80% wilgotności względnej powietrza. Obserwacje rozwoju symptomów chorobowych na sztucznie zakażonych roślinach prowadzono przez 4 miesiące.

WYNIKI

W tabeli przedstawiono wykaz odmian topoli, które ze względu na podobieństwo symptomów chorobowych wybrano do izolacji sprawcy raka topoli.

Próbki kory i łyka pobrano z 23 chorych drzew należących do 9 znanych odmian i 3 drzew topoli nieokreślonych do odmiany, rosnących na plantacjach leśnych i przydrożnych. Grzyb *C. fimbriata* wyizolowano z wszystkich porażonych rakiem pni topoli, z których pobierano inokula w pierwszym terminie izolacji, tj. w marcu. Natomiast w lipcu izolacji patogena dokonano tylko z 5 na 12 chorych drzew, z których pobierano kawałki kory i łyka. Wśród topoli z których wyizolowano *C. fimbriata* najczęściej występowały 2 odmiany *P. Hybrida* 277 oraz *P. Kórnik* 6.

SYMPTOMATOLOGIA

A. Opis symptomów chorobowych na pniach topoli, z których pobierano inokula

Podczas przeglądu plantacji topolowych obserwowano symptomy raka typu tarczy, podobne do tych, które już wcześniej opisali Wood



Ryc. 1 i 2 — Rak typu tarczy na pniu P. 'Hybrida 194'



Ryc. 3: A — typowy rak typu tarczy z koncentrycznie narastającymi warstwami kalusa;

B — pierwsza warstwa kalusa obserwowana w wyniku sztucznej infekcji na P. 'Hybrida 275'

i French (9), Zalaskey (10, 11) oraz Gremmen i De Kam (2) (ryc. 1, 2, 3). Wydłużone rany z opadającą korą lub pozbawione jej i charakterystyczne koncentrycznie narastające warstwy kalusa stwierdzono na wszystkich chorych drzewach odmian topoli przedstawionych w tabeli. Stadium silnego zaawansowania choroby charakteryzowało się wysychaniem wyrastających ze środka porażonej części pnia. Na porażonych pniach i gałęziach nie obserwowano wyciekającego białego, mętnego śluzu, którego pojawienie się jest charakterystyczną cechą dla raka wywołanego przez bakterię *X. populi* subsp. *populi* (Ridé). Po odsłonięciu części korowej obserwowano na granicy tkanki zdrowej i chorej warstwę o zabarwieniu jasnobrunatnym, podobną do tkanki szklistej charakterystycznej dla *X. populi* subsp. *populi*. Również na liściach nie obserwowano żadnych zmian w postaci plam, tylko wysychanie ich, które związane było z zamieraniem gałęzi, a nawet całych drzew.

B. Opis symptomów chorobowych otrzymanych w wyniku sztucznych infekcji.

Po nałożeniu grzybni na ślad liściowy w okresie 7 dni obserwowano rozwój grzybni łącznie z tworzeniem perytecjów zarówno na zakażonych pędach jak i zrzeczach. Równocześnie wokół miejsca infekcji zaczęła pojawiać się brązowa mokra plama, powiększająca się w miarę upływu czasu. Po miesiącu część korowa wokół miejsca infekcji zaczynała się łuszczyć i odpadać. Pojawienie się pierwszej warstwy kalusowej wokół rany powstałej w miejscu zakażenia zaobserwowano po 2,5 miesiącach do momentu inokulacji na 4-miesięcznych pędach odmiany *P. 'Hybrida 275'*. Natomiast na zakażanych zrzeczach po upływie tego samego okresu oprócz brązowej mokrej plamy i złuszczenia części korowej nie zauważono żadnych innych zmian. W obu zastosowanych metodach sztucznych infekcji na przekroju poprzecznym pędów obserwowano charakterystyczną szklistą tkankę oraz zbrązowienie, które rozszerzało się również do części rdzeniowej pędów i zrzeczów. Te symptomy przebiegały z większym lub mniejszym nasileniem w zależności od badanych odmian topoli.

ETIOLOGIA

Grzyb *C. fimbriata* (Ell. et Halst.) należy do rodzaju *Ceratocystis*, podgromady grzybów workowych — *Ascomycotina*.

A. Opis grzybni

Na kawałkach kory i łyka w wilgotnej komorze w 30°C po 48 godz. obserwowano wzrost charakterystycznej białej grzybni, na której w ciągu następnych 5 dni rozwijały się perytecja. Rozwijające się na pożywkach agarowych i płynnych białe strzępki grzybni *C. fimbriata* najpierw wzrastały w głąb pożywek, a następnie nie zmieniając barwy rozrastały się powierzchniowo. Po upływie 5—7 dni obserwowano na powierzchni tworzenie się ciemnych punktów, czyli podstaw perytecjów, a następnie

ich całkowity rozwój. Po 2 tygodniach biała grzybnia zmieniała zabarwienie na kolor brązowy z jednoczesną dyfuzją w głąb pożywki brązowego barwnika. W czasie hodowli, niezależnie od rodzaju zastosowanej pożywki, grzyb wydzieliał charakterystyczny zapach przypominający zapach bananów.

B. Opis zarodników

Dwa typy zarodników — cylindryczne i beczułkowate — charakteryzują stadium niedoskonałe tego grzyba. Endokonidia powstają wewnątrz rurkowatych strzępek zwanych endokonidioforami. Obserwowano trzonki konidialne, które skupione były w zwarty zespół — koremium. Endokonidia cylindryczne i beczułkowate różniły się wymiarami i zabarwieniem. Wielkość beczułkowatych zarodników przezroczystych lub lekko brązowych wahała się w granicach $6-10 \times 8-12 \mu$, a zarodników cylindrycznych $10-16 \times 4-5 \mu$ lub $16-30 \times 5-10 \mu$.

Perytecjum składa się z brązowoczarnej, okrągłej lub stożkowatej podstawy ($100-250 \times 150-300 \mu$ średnicy), często pokrytej splątanymi strzępkami grzybni. Z podstawy perytecjum wyrasta ciemnobrązowa szyjka około 800μ długości, z widocznymi pod mikroskopem podłużnymi jasnymi i ciemniejszymi pasmami, prawdopodobnie przegrodami, którymi zarodniki workowe z podstawy perytecjum penetrują ku wierzchołkowi i wydzielają się w postaci kropel galeretowatej masy. Pomimo licznych obserwacji nie ustalono liczby ostiolarnych strzępek, która była zmienna w granicach od 8—15. Askospory *C. fimbriata* mają kształt owalny i przypominający kapelusik (hat shaped), a ich wielkość waha się w granicach od $3-5 \times 6-9 \mu$.

DYSKUSJA

W ostatnich kilkunastu latach w Polsce i za granicą obserwuje się zainteresowanie chorobami topoli, a szczególnie jedną z nich zwaną rakiem topoli. Opisano kilka gatunków bakterii i grzybów, które określano mianem sprawcy raka topoli. Pewne z nich, jak np. *Pseudomonas syringae* van Hall, które kilka lat temu uważano za bakterie patogeniczne, obecnie zalicza się do mikroflory epifitycznej. W 1958 r. Ridé (7) z porażonych gałązek P. 'Regenerata' wyizolował bakterię, którą nazwał *Aplanobacter populi* (obecny synonim — *X. populi* subsp. *populi* (Ridé) (4). Sztuczne infekcje wyizolowanym szczepem potwierdziły jego patogeniczność oraz pozwoliły na dokładne obserwacje symptomów raka topoli. Urošević w badaniach wykonanych w Czechosłowacji wyodrębnił inny patogeniczny gatunek bakterii, którym jest *Erwinia cancerogena* n. sp. (8). Symptomy raka pni topoli wywołane przez dwa ww. gatunki bakterii są w pewnych stadiach rozwoju zbieżne, jak np. obecność szklistej tkanki oraz wypływający z porażonych gałęzi i pni biały mętny śluz. Natomiast w przypadku choroby topoli, której sprawcą jest *C. fimbriata*, nigdy nie obserwuje się wyciekającego białego śluzu, a koncentryczny układ warstw kalusowych w kształcie tarczy jest charakterystyczną cechą choroby wywołanej przez tego grzyba.

Interesująco przedstawia się etiologia *C. fimbriata* ze względu na dużą zmienność zarodników. W obrębie zarodników cylindrycznych obserwowano mikrokonidia i makrokonidia, natomiast obok zarodników o kształcie beczułkowatym występowały formy okrągłe. Obecnie prowadzi się w laboratorium fitopatologicznym Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku badania zmierzające do ustalenia, który z typów zarodników jest zdolny do infekcji, w jaki sposób patogen wnika do tkanek gospodarza, w jakim stadium się w nim znajduje oraz które z odmian topoli są wrażliwe lub odporne na tego patogena.

Serdeczne podziękowanie składam doc. dr. hab. R. Siweckiemu z Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku oraz dr. J. Gremmenowi z Instytutu De „Dorschkamp” w Wageningen (Holandia) za cenną pomoc i wskazówki przy wykonywaniu tych badań.

LITERATURA

1. Cristinzio M., Marziano F., Verneau R. — La moria del platano in Campania. Riv de Pat. Veg., ser. 4, 9, 1973.
2. Gremmen J., Kam M. de — *Ceratocystis fimbriata* a fungus associated with poplar canker in Poland. „Eur. J. For. Path.” 1, 1977.
3. Hunt J. — Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. Lloydia 19, 1956.
4. Kam M. de — A bacterial disease of *Salix dasyclada* caused by a *Xanthomonas* species and its relation to *Aplanobacter populi*. „Eur. J. For. Path.” 5, 1977.
5. Kam M. de — *Xanthomonas populi* subsp. *salicis* cause of bacterial canker in *Salix dasyclada*. „Eur. J. For. Path.” 5/6, 1978.
6. Panconesi A. — Il rinvenimento della *Ceratocystis fimbriata* (Ell. et Halst.) Davidson f. platani Walter platano. „Riv. de Pat. Veg.” ser. 4, 9, 1973.
7. Ridé M. — Sur l'étiologie du chancre suitant du peuplier. „CR. Acad. Sci.” 246, 1958.
8. Urosević B. Canker of poplars due to bacterium *Erwinia cancerogena* n. sp. „Leśnicki Casop.” 12, 1966.
9. Wood F. A., French D. W. — *Ceratocystis fimbriata* the cause of a stem canker quaking aspen. „For.Sci.” 9, 1963.
10. Zalasky H. — Morphology of *Ceratocystis fimbriata* in aspen. „Can. J. Bot.” 43, 1965.
11. Zalasky H. — Process of *Ceratocystis fimbriata* infection in Aspen. „Can. J. Bot.” 43, 1965.

Praca wpłynęła do Komitetu Redakcyjnego 9 kwietnia 1979 r.

Краткое содержание

В марте и июле 1978 года было проведено обследование плантаций тополей в 13 надлесничествах в северной и средне-западной частях Польши (таблица).

Гриб *Ceratocystis fimbriata* (Ell. et Halst.) изолировали со всех зараженных стволов тополей, с которых собирались инокуляты в первом периоде изолирования, то есть в марте и в 5 из 12 больных тополей в июле. Среди тополей, с которых изолировали *C. fimbriata* чаще других встречались две разновидности — P.'NE 42' и P.'Kórnik 6'. Раны с отпадающей корой, а также концентрические слои каллюса (target canker) наблюдали на всех исследуемых тополях. Искусственные заражения

изолированным грибом подтвердили его патогенные свойства по отношению к то-
полям. Морфологические исследования *C. fimbriata* были проведены опираясь на
систематику Hunta (3).

Summary

An inspection of poplar plantations in 13 Forest Districts of north-central and western parts of Poland was performed in March and July 1978 (see table).

From all stems attacked with various bark diseases the fungus *C. fimbriata* was isolated from the inoculum samples collected in March and from 5 of 12 samples collected in July. Two of the checked varieties: *P. 'NE-42'* and *P. 'Kórnik 6'* were most frequently attacked. On all investigated poplars wounds with the bark peeling off and „target cancer” (concentric strata of callus) were observed. Artificial inoculations of *C. fimbriata* made on cuttings and one-years-old plants confirmed this fungus being a pathogene of poplars. An investigation of the morphology of the fungus similar to that of Hunt (3) was undertaken.

Uwaga! Ważne dla Autorów

**Komitet Redakcyjny „Sylwana” prosi o podawanie wraz z nad-
syłanymi artykułami prywatnego adresu Autora i Autora zdjęć.
Adresy powinny zawierać również numer kodu pocztowego. Brak
powyższych danych uniemożliwia Redakcji oraz Wydawnictwu
wysłanie honorarium autorskiego.**