

Anna ŻÓŁCIAK, Zbigniew SIEROTA, Monika MAŁECKA\*

## PRZEBIEG CHOROBY W UPRAWIE SOSNY ZWYCZAJNEJ W NASTĘPSTWIE SZTUCZNEJ INOKULACJI PNIAKÓW GRZYBNIĄ KORZENIOWCA WIELOLETNIEGO

SPREAD OF THE DISEASE IN THE SCOTS PINE PLANTATION  
AS A RESULT OF THE ARTIFICIAL INOCULATION OF STUMPS  
WITH MYCELIUM OF *HETEROBASIDION ANNOSUM*

***Abstract.** The results of artificial inoculation of every second stump in the row with *Heterobasidion annosum* “P” mycelium and 15 years of disease development in Scots pine plantation established on post-agricultural land are described. The presence of the fruit bodies and mycelium in roots, number of dead trees and the root-rot gaps extend were the measure of disease development. The results confirmed the efficacy of the inoculation method and possibility to assess the development of the pathogen in the stand.*

***Key words:** artificial inoculation, root-rot, *Heterobasidion annosum*.*

---

\* Zakład Fitopatologii Leśnej, Instytut Badawczy Leśnictwa, Sękocin Las, 05-090 Raszyn,  
e-mail: Zolciaka@ibles.waw.pl

## 1. WPROWADZENIE

W badaniach selekcyjnych problematyka odporności drzew na choroby infekcyjne, zwłaszcza na choroby korzeni: opieńkową zgniliznę korzeni, powodowaną przez opieńki (grzyby z rodzaju *Armillaria* (Fr.: Fr.) Staude) oraz hubę korzeni, której sprawcami są korzeniowce (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. sensu lato), jest rzadko podejmowana. Zwykle nie prowadzi się pracochłonnych badań terenowych, uwzględniających możliwie kontrolowany przebieg infekcji, czy wpływ warunków naturalnych. W dużej mierze jest to spowodowane trudnościami w określeniu przyczyn i wskazaniu czynników odpowiedzialnych za taki, a nie inny przebieg procesu chorobowego, wynikający z równoczesnego i synergistycznego nakładania się odporności genotypowej gospodarza, agresywności patogena i wpływu czynników środowiskowych. Istotnym hamulcem rozwoju tego rodzaju badań są również zagadnienia metodyczne związane z koniecznością stosowania sztucznego, kontrolowanego zakażenia drzew. Wymaga to wywołania w pożądanym miejscu i czasie infekcji, której przebieg możliwie najwierniej symulowałyby infekcję naturalną, przy jednoczesnym zapewnieniu w każdym przypadku porównywalnej ilości i jakości materiału zakaźnego (Gäumann 1959).

Trudności metodyczne związane ze sztuczną infekcją pogłębia fakt, że proces ten ma miejsce w środowisku glebowym, a konkretnie w korzeniach rosnących w glebie. W związku z tym, możliwości obserwacji jego przebiegu są w dużym stopniu ograniczone, w przeciwieństwie do infekcji liści, pędów, czy strzał drzew. Ponadto, środowisko glebowe silnie różnicuje zarówno reakcje drzew, jak i aktywność inokulum (Rykowski i in. 1988).

Dotychczas próby dokonywania sztucznych infekcji korzeniowcem wieloletnim [*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.] miały różny charakter. Sztuczne inokulacje sosny zwyczajnej wykonane za pomocą inokulum w postaci czystych jego kultur, rosnących na pożywce agarowej nie spełniały podstawowego warunku rozwoju grzyba w fazie saprotroficznej – dostępności bazy pokarmowej w postaci drewna. Wszelkie próby bezpośredniego przenoszenia czystych kultur w naturalne warunki (drewno korzeni w glebie) kończyły się z reguły niepowodzeniem (Kallio 1973). Nawet dość duża porcja czystej kultury grzyba nie była wystarczająca do pokonania barier obronnych tkanek drzewa, pomimo że przedtem dokonano ich zranienia (Siwecki 1967, Białobok, Siwecki 1969).

Badania nad sztuczną inokulacją sosny, a także prace nad selekcją odpornościową świerka oparte były na metodzie standaryzowanego inokulum w postaci przerośniętego grzybnią drewna (Kallio 1973, Dimitri, Kliefoth 1974). Stanowił je kołek, który wbijano w odpowiedni otwór wykonany w pniu drzewa. Jednak ta metoda w żaden sposób nie odpowiadała naturalnej drodze infekcji. W rzeczywistości testowano nie odporność na infekcję, lecz na zjawiska postinfekcyjne – wrastanie grzybni w komórki drewna, nie różnicując przy tym reakcji odpornościowych od reakcji traumatycznych tkanek uszkodzonych mechanicznie (Dimitri, Kliefoth 1974, Dimitri 1980, Weissenberg 1975, 1980).

Drogę infekcji najbardziej zbliżoną do naturalnej przyjął w swojej metodzie Delatour (1980). Autor ten uprawę testowaną założył na zrębie, przy zachowaniu pniaków po drzewach porażonych przez patogena. Jednak, mimo zapewnienia wysokiego prawdopodobieństwa naturalnej drogi infekcji przez kontakty korzeniowe, nie można było przeprowadzić kontroli – ani ilości, ani jakości inokulum (Rykowski 1989).

Celem prezentowanych badań jest ocena udatności sztucznej inokulacji grzybnią korzeniowca wieloletniego pniaków w założonej na gruncie porolnym uprawie sosny zwyczajnej\* oraz analiza przebiegu zainicjowanego w ten sposób procesu chorobowego.

## 2. MATERIAŁ I METODY

### 2.1. Teren badań

Badania prowadzono w uprawie sosny zwyczajnej założonej wiosną 1979 r. na gruncie porolnym na terenie Leśnictwa Sękocin, w Nadleśnictwie Chojnów. Glebę przygotowano orką pełną. Wyorano 40 rzędów, w których wysadzono 1600 sadzonek (po 40 drzewek w jednym rzędzie), w wieźbie 1×1 m. Rzędy przebiegały z kierunku południowo-wschodniego na północno-zachodni. Udatność uprawy i przeżywalność drzew oceniono po raz pierwszy w 1986 r., przed zabiegiem czyszczenia wczesnego i sztuczną inokulacją pniaków. Wynosiła ona 54,3% dla uprawy w wieku 7 lat. Wypadki drzew do tego okresu spowodowane były przede wszystkim nie przyjęciem się sadzonek, słabą pielęgnacją i silnym zachwaszczeniem w pierwszych latach po posadzeniu. Celowo nie wykonywano tu poprawek i uzupełnień.

### 2.2. Materiał inokulacyjny

Materiałem inokulacyjnym była grzybnia korzeniowca wieloletniego przestająca trociny bukowe, wyizolowana z drewna martwej sosny. Na podstawie testu Korhonen, otrzymany izolat zakwalifikowano do grupy P jako *Heterobasidion annosum* (Korhonen 1978, Żółciak 1992). Początkowo grzybnię hodowano na pożywce agarowo-maltozowej, w szalkach Petriego, w temperaturze 24 °C, następnie przeszczepiono ją do próbek zawierających jałowe trociny z dodatkiem wody destylowanej i słoju brzożki piwnej. Grzybnia rozwijała się w stałej temperaturze 24 °C przez 3 miesiące, aż do całkowitego przerośnięcia trocin przez strzępki patogena (Rykowski, Sierota 1977).

---

\*Autorem koncepcji i inicjatorem badań zapoczątkowanych w 1979 r. jest prof. dr hab. Kazimierz Rykowski

### 2.3. Metoda kontrolowanej infekcji wtórnej

W doświadczeniu posłużono się metodą kontrolowanej infekcji wtórnej (Rykowski, materiały nie publikowane). Polega ona na inicjowaniu ognisk chorobowych poprzez kontakt korzeni pniaków sztucznie zainfekowanych grzybnia korzeniowca wieloletniego z korzeniami drzew sąsiadujących z nimi.

Latem 1986 r., kiedy uprawa osiągnęła wiek 7 lat (drzewka 8-letnie), usunięto co drugie drzewo w rzędzie tak, aby każde pozostające sąsiadowało bezpośrednio z 4 pniakami powstałymi po ścięciu drzewek (w tzw. „szachownicę”). Natychmiast po ścinie pniaki inokulowano przez nałożenie na powierzchnię cięcia inokulum korzeniowca wieloletniego o stałej objętości i całość zabezpieczano folią.

Z uprawy usunięto 443 drzewka; tyle samo pniaków zainokulowano (ryc. 1).

### 2.4. Metoda oceny stanu zdrowotnego uprawy sosnowej

Stan zdrowotny uprawy sosnowej oceniano na podstawie oględzin poszczególnych drzew wg pięciostopniowej skali (Rykowski, materiały nie publikowane). Każdego roku na powierzchni doświadczalnej rejestrowano: zmiany makroskopowe w koronie (długość przyrostów pędów, długość igieł, barwę igieł), zamieranie drzew i wydzielanie się posuszu oraz powstawanie owocników korzeniowca wieloletniego. O przyczynie obserwowanych zmian chorobowych oraz wydzielania się posuszu rozstrzygała obecność grzybni (izolacje na pożywkę agarowo-maltozową) i owocników korzeniowca wieloletniego w szyi korzeniowej drzew. Określano liczbę zmarłych drzew ze zidentyfikowaną grzybnia patogena w próbkach drewna pobieranych z systemów korzeniowych. W miarę postępowania procesu chorobowego rejestrowano tworzenie się i powiększanie tzw. „luk hubowych”. Określano lokalizację zamierających drzew w stosunku do drzewa zmarłego w roku poprzednim, opisując jako zamierające:

– grupowo:

a) w jednym rzędzie, w odległości 1 m jedno od drugiego,

b) w sąsiednich rzędach, w odległości 1,5 m jedno od drugiego,

– pojedynczo.

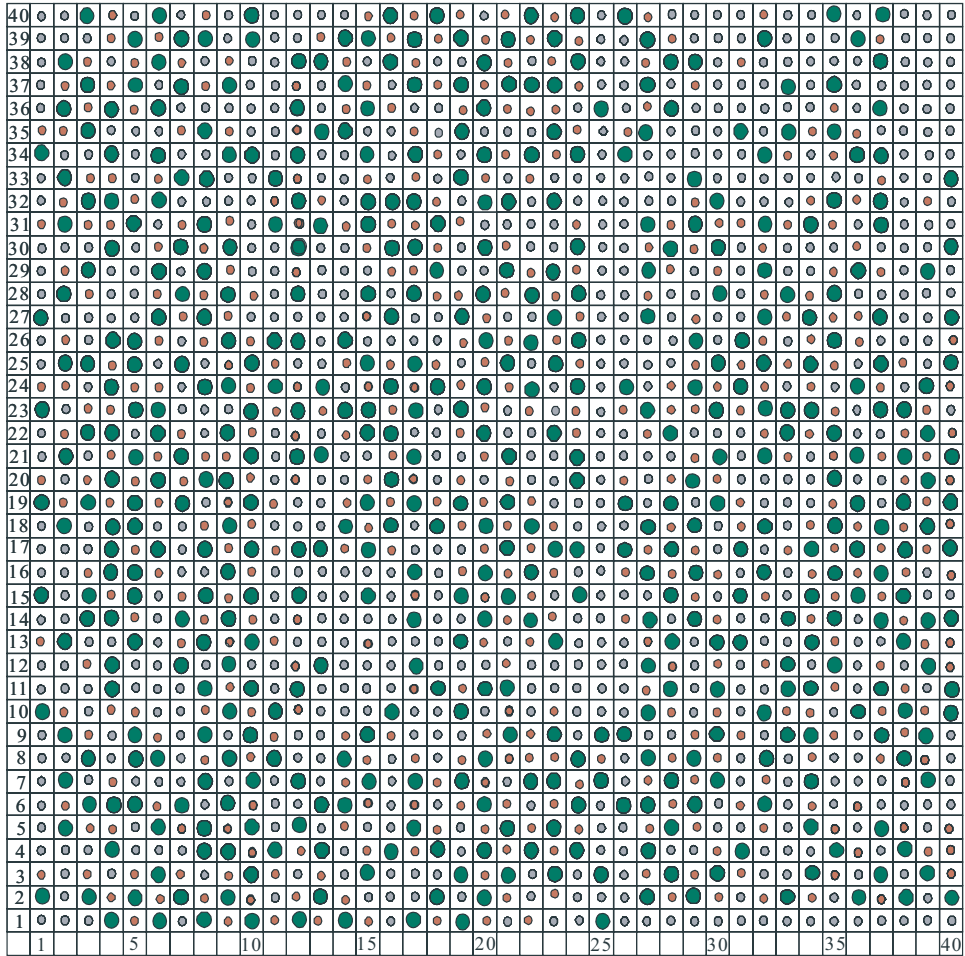
Pierwszą kontrolę stanu zdrowotnego uprawy przeprowadzono we wrześniu 1987 r. Obserwacjami objęto 492 drzewa, które pozostawały w uprawie po inokulacji pniaków. Następne kontrole prowadzono w tym samym miesiącu w kolejnych latach 1988–2002.

W celu określenia ewentualnego wpływu warunków atmosferycznych na przebieg procesu chorobowego ekstrapolowano dane najbliższej stacji meteorologicznej IMGW Warszawa Okęcie, odległej o ok. 6 km od powierzchni doświadczalnej, dotyczące rocznej sumy opadów i średniej rocznej temperatury oraz obliczono dla sezonu wegetacyjnego współczynnik hydrotermiczny Sielianiowa  $k = 10P/t$  (mm/°C) (Kolk i in. 1994).

Zróżnicowanie śmiertelności drzew pomiędzy poszczególnymi rzędami w kolejnych latach wzrostu w uprawie oceniono testem T Studenta wg programu Statistica.

Numer drzewa w rzędzie

N° of the tree in the row



Numer rzędu

N° of the row

- Drzewka pozostaj' ce w uprawie  
Trees remaining in the plantation
- ◉ Pniaki inokulowane grzybnia korzeniowca wieloletniego  
Stumps inoculated with *H. annosum* mycelium
- ◇ Wypadki do 1986 r.  
Trees died till 1986

Ryc. 1. Stan uprawy sosnowej po wykonaniu sztucznej inokulacji pniaków grzybnia korzeniowca wieloletniego w 1986 r.

Fig. 1. Scots pine plantation after inoculation with *H. annosum* mycelium in 1986

### 3. WYNIKI

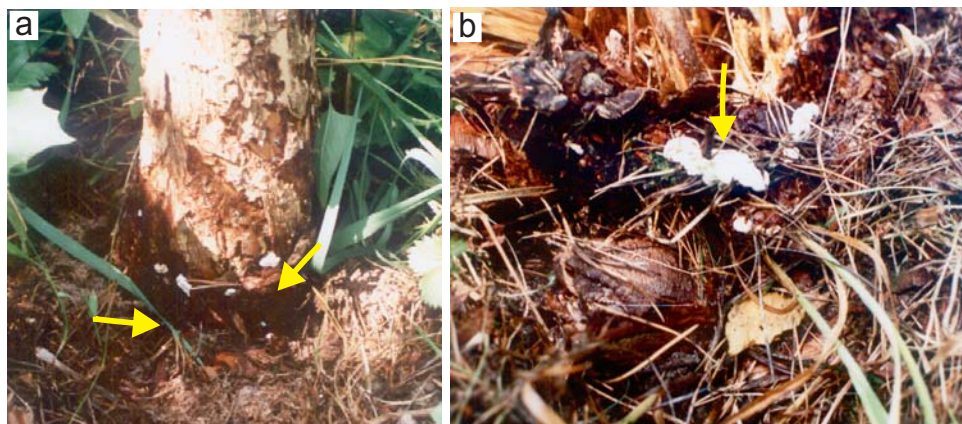
Obserwacje makroskopowe po 3 miesiącach od inokulacji wykazały obecność grzybni korzeniowca wieloletniego pod korą – zarówno w części nadziemnej pniaków, jak i w grubych korzeniach w glebie, w odległości 20–30 cm od pniaka. Wykonane reizolacje z drewna wyjętych z gleby losowo korzeni potwierdziły obecność grzybni patogena. Sztuczna inokulacja pniaków grzybnią korzeniowca została przeprowadzona z pozytywnym wynikiem, jej skuteczność wynosiła 100%.

Pierwsze symptomy porażenia drzewek zaobserwowano w okresie czerwiec – sierpień 1987 r., tzn. po 11–13 miesiącach od inokulacji pniaków. Stwierdzono wówczas skrócenie długości igieł ostatniego przyrostu oraz ich przebarwienie na kolor jasno-zielony lub żółto-zielony. U niektórych egzemplarzy odnotowano brak pączków szczytowych na pędach. We wrześniu 1987 r. zarejestrowano 22 drzewa, na których w szyi korzeniowej pojawiły się owocniki patogena. W 1987 r. stwierdzono również owocniki korzeniowca na pniakach, które były inokulowane grzybnią rok wcześniej. W latach następnych nowe owocniki już nie pojawiły się na pniakach, natomiast owocniki uformowane w 1987 r. nie przyrastały i zamarły. Stwierdzono silny rozkład drewna części nadziemnej i rozpad pniaków.

W szyi korzeniowej drzew zamierających w kolejnych latach zwykle stwierdzano obecność owocników (ryc. 2a), w korzeniach zaś grzybnię patogena. Z reguły owocniki tworzyły się również na pniakach powstałych w wyniku usunięcia tych drzew (ryc. 2b). W uprawie, obok drzew żywych (o zielonych igłach) i martwych (o rudych igłach), co roku odnotowywano drzewa zamierające (ryc. 3). Odróżniały się one zmienionym zabarwieniem aparatu asymilacyjnego oraz mniejszymi przyrostami pędów i skróconymi igłami; drzewa te zamierały w ciągu kilku miesięcy.

Odsetek obumarłych drzew przyjęto jako rezultat skutecznej inokulacji. Pierwsze martwe drzewka (24 sztuki) zabite przez korzeniowca wieloletniego zostały zaobserwowane w uprawie w sierpniu 1987 r., po 13 miesiącach od inokulacji (ryc. 4). W 1988 r. zamarło 15 drzew. W kolejnych latach następował szybki wzrost liczby drzew martwych i wzrastało tempo rozprzestrzeniania się choroby. W 1989 r. zamarło 55 drzew. Była to największa liczba zamarłych drzew w ciągu 16 lat. Stosunkowo dużo drzew zamarło także w 1994 r. (31 szt.) oraz w 1997 r. (34 szt.), kiedy to wskutek silnych wiatrów doszło także do licznych wywałów drzew (18 drzew). W latach 1998–2000 nie zanotowano zwiększenia liczby wypadów drzew z powodu huby korzeni, dopiero w 2001 r. stwierdzono 13, a w 2002 r. – 8 martwych drzew.

W tabeli 1 przedstawiono odsetek zamarłych drzew w poszczególnych latach. Najmniej zamarłych drzew odnotowano w dwóch pierwszych latach od przeprowadzenia sztucznej inokulacji. Począwszy od 1989 r. obserwowano wzrost ogólnej liczby zamarłych drzew. W 2002 r. odnotowano na całej powierzchni 60% zamarłych drzew (ryc. 4). Początek choroby w uprawie polegał na rozszerzaniu się infekcji wtórnych na skutek kontaktu korzeni drzew zdrowych z zasiedlonymi



**Ryc. 2.** Owocniki korzeniowca wieloletniego stwierdzone na powierzchni doświadczalnej w 1994 r.: a – w szyi korzeniowej sosny, b – na pniaku powstałym w wyniku usunięcia drzewa (fot. A. Żółciak)

Fig. 2. Fruiting bodies of *H. annosum* found on the plantation in 1994: a – on the stem base of a tree, b – on stump after removed tree (photo by A. Żółciak)

przez patogena korzeniami pniaków. W dalszym przebiegu choroba rozwijała się przez kontakty kolejnych korzeni drzew zdrowych z korzeniami pniaków oraz korzeniami rok wcześniej zainfekowanych drzew (np. w 2 rzędzie drzewo nr 25 zmarło w 1989 r. i drzewo nr 25 w 3 rzędzie, które zmarło w 1990 r., ryc. 4). W miarę rozszerzania się ognisk chorobowych i powstawania luk coraz częściej dochodziło do wtórnych infekcji korzeni drzew kolejno sąsiadujących ze sobą od korzeni drzew zmarłych w pierwszej fazie choroby, np. grupa drzew w rzędach 3–6 o nr 14–19. Jak wynika z przedstawionego na rycinie 4 schematu, zamieranie drzew w uprawie miało różny przebieg. Drzewa zamierały: pojedynczo (np. nr 40 w rzędzie nr 10), kolejno w danym rzędzie w stosunku do drzewa zmarłego rok wcześniej (np. nr 14 i 15 w rzędzie nr 3), kolejno w rzędzie w danym roku (np. 15 i 16 w rzędzie nr 5), w dwóch sąsiednich rzędach, w odległości 1,5 m w tym samym roku (np. nr 15–19 w rzędach nr 27–29) oraz grupowo w tym samym roku (np. nr



**Ryc. 3.** Trzy kategorie drzew rosnących w jednym rzędzie: drzewo martwe, żywe i zamierające na powierzchni doświadczalnej (1994) r. (fot. A. Żółciak)

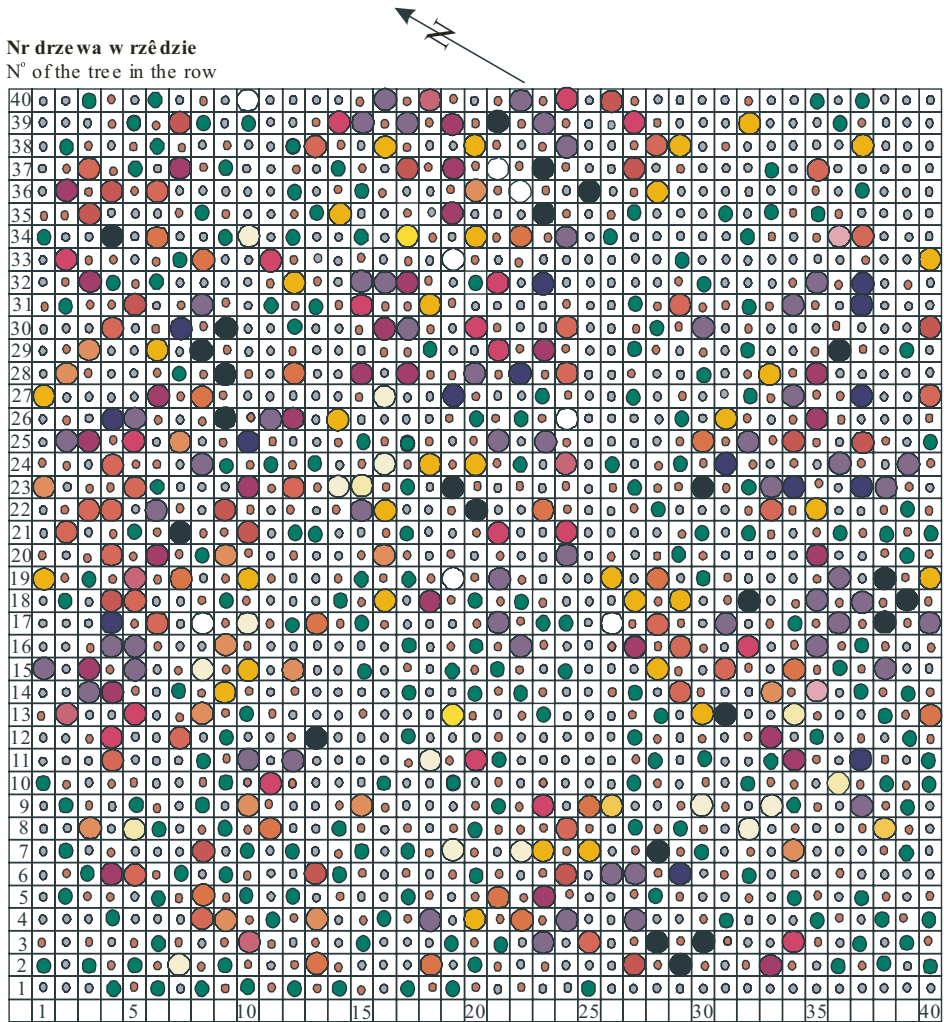
Fig. 3. Categories of trees growing in one row: dead, alive and dying on the plot in 1994 (photo by A. Żółciak)

**Tabela 1. Odsetek drzew zamarych w uprawie sosnowej w latach 1987–2002**  
**Table 1. Percentage of trees died in Scots pine plantation in years 1987–2002**

Nr rzędu Row no.	Zamary drzewa (%) Dead trees (%)																				Odsetek żywych drzew w 2002 r. Percentage of alive trees in 2002
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002					
1			14,2							28,5	57,1										42,9
2			8,3	16,6	25,0	33,3		41,6		50,0											50,0
3			7,6	30,7			38,4	53,8		69,2											30,8
4	5,8	17,6	23,5	35,2	41,1		52,9	82,3													17,7
5			18,7		31,2	37,5	43,7	62,5							68,7						31,3
6			6,6	20,0				33,3	40,0												53,4
7	8,3	16,6		25,0			33,3	41,6	50,0	58,3									66,6		33,4
8	5,8		17,6				23,5	29,4	47,0	52,9									58,8	64,7	35,3
9	17,6						23,5			41,1	47,0										53,0
10		6,2	12,5	18,7			25,0	31,2		37,5	50,0								62,5	68,7	31,3
11			14,2		42,8				57,1												42,9
12			6,6	13,3				20,0	26,6	33,3	40,0										60,0
13	10,0							20,0	30,0	50,0	60,0										40,0
14					11,1						33,3								44,4		55,6
15			20,0	26,6	33,3					40,0									46,6		53,4
16			18,1	27,2						36,3	63,6								81,8		18,2
17			12,5	25,0			31,2														62,5
18			12,5	25,0		37,5			50,0		75,0								85,5		12,5
19	7,6	15,3		38,4															46,1		38,5
20	5,8		11,7		23,5					29,4	52,9								53,8	61,5	47,1
21	7,6		30,7		53,8				61,5											69,2	30,8







## Rok zamarcia drzewa:

Year of dieback:

- |        |        |
|--------|--------|
| ● 1987 | ● 1995 |
| ● 1988 | ● 1996 |
| ● 1989 | ● 1997 |
| ● 1990 | ● 1998 |
| ● 1991 | ● 1999 |
| ● 1992 | ● 2000 |
| ● 1993 | ● 2001 |
| ● 1994 | ○ 2002 |

● Drzewa żywe w 2002 r.  
Trees alive in 2002

● Pniaki powtażone po drzewach usuniętych  
inokulowane grzybnia *H. a.* w 1986 r.  
Stumps inoculated with *H. annosum*  
mycelium in 1986

○ Wypadki do 1986 r.  
Trees died till 1986

Ryc. 4. Stan uprawy sosnowej w 2002 r.

Fig. 4. Scots pine plantation in 2002

**Tabela 2. Zamieranie drzew w latach 1988–2002**

Table 2. Dieback of trees in years 1988–2002

Lata Years	Liczba zamarłych drzew: Number of trees dead:		
	grupowo grouped		pojedynczo singly
	w jednym rzędzie, w odł. 1 m in a one row, in distance 1 m,	w sąsiednich rzędach w odł. 1,5 m in neighbouring rows, in distance 1,5 m	
1988	1	0	14
1989	6	20	30
1990	0	4	24
1991	0	4	15
1992	0	0	9
1993	0	4	13
1994	1	4	25
1995	0	1	17
1996	0	1	14
1997	0	4	29
1998	0	0	2
1999	0	0	2
2000	0	0	4
2001	0	2	11
2002	0	0	4
<b>Razem</b>			
Total	8	44	213

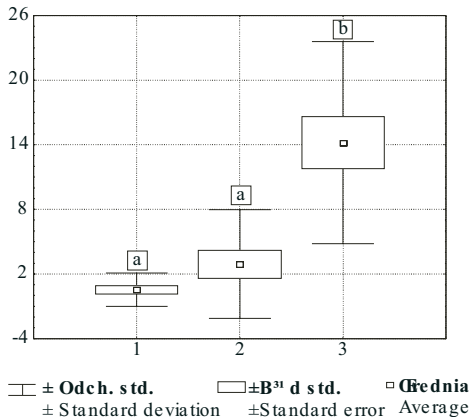
15–16, w rzędach nr 4–5). W latach 1988–2002 najwięcej drzew zamarło pojedynczo (213), znacznie mniej grupowo w sąsiednich rzędach, w odległości 1,5 m (44), a najmniej – w jednym rzędzie w odległości 1 m jedno od drugiego (8) (tab. 2). Różnice pomiędzy średnimi dla poszczególnych kategorii usytuowania drzew zamarłych względem siebie były statystycznie istotne. Na rycinie 5 przedstawiono istotność różnic dla drzew zamarłych w poszczególnych układach.

W 2002 r. w drzewostanie można już było wyróżnić kilkanaście ognisk chorobowych utworzonych przez drzewa zamarłe od korzeniowca (ryc. 4). Po uwzględnieniu lokalizacji drzew brakujących w schemacie, które zamarły do 1986 r., oraz lokalizacji pniaków, które inokulowano w 1987 r., można już mówić o kilku

**Ryc. 5. Drzewa zamarłe grupowo (1 – w jednym rzędzie, w odł. 1 m jedno od drugiego, 2 – w sąsiednich rzędach w odł. 1,5 m jedno od drugiego) i pojedynczo (3);  $n=15$ ,  $p=0,000001$  (różne litery oznaczają istotność różnic)**

Fig. 5. Trees died on the plantation grouped (1 – in a one row, in distance 1 m, 2 – in neighbouring rows, in distance 1,5 m) and singly (3);  $n=15$ ,  $p=0,000001$  (different letters mean significant differences)

**Liczba drzew zamarłych**  
No trees die dead





**Ryc. 6. Luki powstałe w uprawie wskutek rozwoju huby korzeni**  
(*fol. A. Żółciak*)

Fig. 6. Gaps in the plantation as an effect of the development of *H. annosum*  
(*photo by A. Żółciak*)

większych lukach, a nie o kilkunastu ogniskach wydzielania się drzew. Wygląd luk w uprawie przedstawiono na rycinie 6.

W analizowanym okresie nie stwierdzono istotnych różnic pod względem liczby zamarych drzew w poszczególnych rzędach ( $p > 0,05$ ). Wykazano natomiast istotność różnic pomiędzy liczbą obumarłych drzew w poszczególnych latach. Analiza przebiegu warunków pogody wskazuje na kilka okresów o bardzo dużych amplitudach wahań wielkości opadów i temperatury powietrza. Takie okresy drastycznej suszy wystąpiły w roku 1988, 1992 i 2000 (tab. 3). Jest charakterystyczne, że w rok później następował gwałtowny przyrost liczby wypadów drzew

**Tabela 3. Opady i temperatura powietrza oraz wartości współczynnika hydrotermicznego dla stacji pomiarowej IMGW Warszawa Okęcie w okresie 1986–2002**

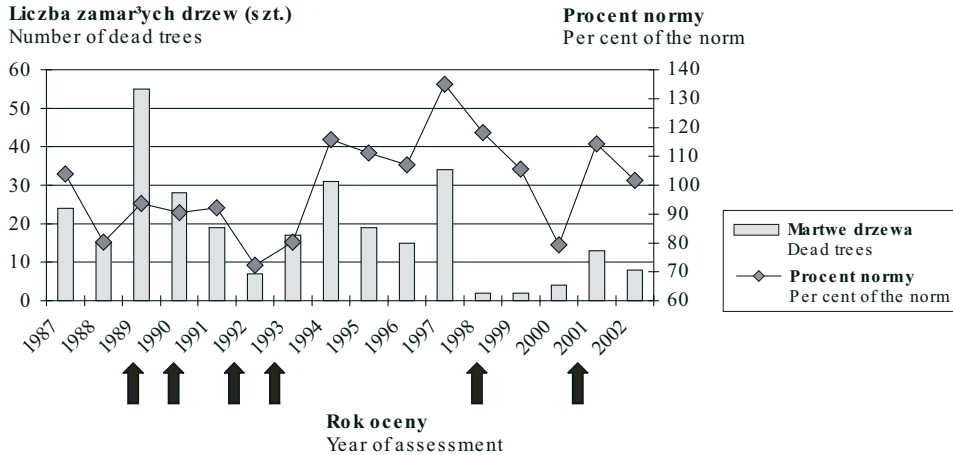
Table 3. Precipitation, air temperature and hydro-thermal coefficient for the Warsaw Okęcie climatic station in the years 1986–2002

Rok Year	Suma opadów Precipitation total (mm)		Średnia temperatura powietrza Mean air temperature (°C)		Współczynnik hydrotermiczny Hydro-thermal coefficient	
	Rok Year	Sezon weg. Vegetation season	Rok Year	Sezon weg. Vegetation season	Sezon weg. Vegetation season	% normy % of norm
1986	466	356	7,5	13,5	1,23	97,6
1987	497	359	6,6	12,8	1,31	104,0
1988	483	301	6,8	13,9	1,01	80,2
1989	479	362	9,5	14,3	1,18	93,7
1990	453	331	9,4	13,6	1,14	90,5
1991	478	332	8,0	13,4	1,16	92,1
1992	484	276	8,8	14,2	0,91	72,2
1993	466	291	7,8	13,5	1,01	80,2
1994	658	440	8,8	14,1	1,46	115,9
1995	572	437	8,2	14,3	1,40	111,1
1996	453	389	6,8	13,5	1,35	107,1
1997	589	475	7,8	13,1	1,70	134,9
1998	615	440	8,1	13,8	1,49	118,3
1999	483	355	9,1	14,7	1,33	105,6
2000	524	309	9,7	14,8	1,00	79,4
2001	541	422	8,5	14,7	1,44	114,3
2002	555	375	9,3	15,3	1,28	101,6

**Tabela 4. Współczynnik  $p$  w ocenie zamierania drzew w kolejnych latach wzrostu**

Table 4. P-value in the tree dieback assessment in the succeeding years

Lata Years	$p$	Lata Years	$p$
1987–1988	<b>0,384</b>	1995–1996	<b>0,812</b>
1988–1989	<b>0,000</b>	1995–1996	<b>0,542</b>
1989–1990	<b>0,001</b>	1997–1998	<b>0,004</b>
1990–1991	<b>0,395</b>	1998–1999	<b>1,000</b>
1991–1992	<b>0,031</b>	1999–2000	<b>0,421</b>
1992–1993	<b>0,012</b>	2000–2001	<b>0,037</b>
1993–1994	<b>0,185</b>	2001–2002	<b>0,200</b>
1994–1995	<b>0,303</b>		



**Ryc. 7. Liczba drzew zamarłych w latach 1987–2002 oraz procent normy współczynnika hydrotermicznego; strzałkami zaznaczono istotne ( $p < 0,05$ ) różnice między kolejnymi latami pod względem śmiertelności drzew z powodu huby korzeni**

Fig. 7. Number of trees died in years 1987–2002 and the hydro-thermal coefficient as expressed by the per cent of the multi-year average; arrows indicate the years of significant differences in tree death rate due to *H. annosum* infections

z powodu huby korzeni (ryc. 7). Zbieżność tę potwierdzają bardzo istotne ( $p < 0,05$ ) różnice w liczbie zamarłych drzew w sąsiadujących latach 1988–1989, 1989–1990, 1991–1992, 1992–1993, 1997–1998, 2000–2001 (tab. 4). Stosunkowo wysoką liczbą zamarłych drzew charakteryzował się również bardzo wilgotny sezon wegetacyjny w 1997 r., w którym wartość współczynnika hydrotermicznego osiągnęła 140% normy. Warunki takie również okazały się niekorzystne dla systemów korzeniowych drzew i stymulowały infekcję przez *H. annosum*, co wyraziło się znacznym wzrostem liczby porażonych drzew w danym roku.

#### 4. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zaproponowana metoda kontrolowanego wprowadzenia patogena w systemy korzeniowe drzew w uprawie jest jedynym jak dotychczas, stwierdzonym w literaturze opisem przebiegu choroby oraz kierunków różnicowania się jej przebiegu i intensywności w poszczególnych latach. Sztuczna inokulacja pniaków grzybnią korzeniowca wieloletniego została przeprowadzona z pozytywnym wynikiem, jej skuteczność była 100%. Pierwsze symptomy choroby w postaci zamierających drzew i tworzenia się owocników patogena w sztych korzeniowych pojawiły się już po roku od momentu inokulacji pniaków. Mimo, iż symulację procesu chorobowego w uprawie można uznać za w pełni udaną, to o samym przebiegu

choroby zadecydowało w dużym stopniu rozmieszczenie infekowanych pniaków i obecność grzybni patogena w korzeniach. Nie było ono niestety tak regularne, jak to zakładano pierwotnie, z powodu wczesnych wypadów drzew i powstania w uprawie w sposób naturalny miejsc pozbawionych drzew i korzeni. W związku z tym zaistniały pewne różnice w czasie i liczbie kontaktów korzeniowych zapewniających równomierność infekcji wtórnych drzew pozostających w uprawie. Różnice te wynikały także z odmienności w morfologii i przestrzennym układzie systemów korzeniowych. Jednakże w miarę wzrostu uprawy prawdopodobieństwo kontaktów korzeni drzew stawało się coraz większe.

Tempo i kierunek rozwoju choroby w uprawie były uwarunkowane przede wszystkim możliwością nawiązania kontaktu patogena z korzeniami innych drzew. Umożliwiała to obecność sprawcy choroby w sztucznie zainokulowanych pniakach oraz liczne kontakty korzeni, co sprawiła przyjęta jednorodna więźba sadzenia (1×1 m). Jednak tworzenie się ognisk chorobowych miało zróżnicowany przebieg i lokalizację z racji nierównomiernego rozmieszczenia w uprawie zainfekowanych pniaków (na skutek braku drzew w niektórych miejscach uprawy). Nie stwierdzono żadnych prawidłowości w lokalizacji wydzielających się drzew; najliczniej zamierały drzewa nie mające w najbliższym otoczeniu sąsiedztwa drzewa zmarłego w roku poprzednim (czyli zamierające pojedynczo). Zamierały w ten sposób zarówno drzewa z wnętrza drzewostanu, jak i rosące na skraju luk naturalnych. Przy dużej homogeniczności obecności patogena w środowisku glebowym można zatem domniemywać o przypadkowości infekcji wynikającej z zaistnienia, lub nie, kontaktu korzeni zainfekowanych przez patogena z korzeniami zdrowymi. Potwierdzenie tej hipotezy wymagałoby jednak zniszczenia drzewostanu – całkowitego usunięcia gleby, odsłonięcia korzeni i wykonania izolacji ze wszystkich korzeni. Osobną kwestią są zagadnienia odporności indywidualnych egzemplarzy drzew w poszczególnych rzędach.

Brak istotności różnic pod względem liczby zmarłych drzew w poszczególnych rzędach w całym okresie doświadczenia potwierdza zachowanie zasady równomierności rozproszenia inokulum. Pomimo różnic w łącznej liczbie wypadów pomiędzy kolejnymi latami, tendencja do braku przestrzennego zróżnicowania w porażaniu drzew przez korzeniowca (tworzenia się luk bądź pozostawiania grup drzew nie porażonych) została zachowana. Każde drzewo miało równą szansę być porażonym (lub szansę przetrwania), niezależnie od tego, czy rosło w pobliżu naturalnej luki wynikającej z braku drzew, czy w pobliżu luki powstałej w wyniku działalności huby korzeni. Różne natomiast były reakcje tych drzew na stres spowodowany suszą, zwłaszcza w przypadku drzew z obrzeża luk poddanych większej insolacji, ale i większej podaży wody opadowej. Stwierdzona zbieżność między występowaniem okresów suszy i wzmożonego wydzielania się drzew w roku następnym na badanej powierzchni jest kolejnym potwierdzeniem doniesień Kolka i in. (1996), którzy wykazali istnienie takiej zależności w przypadku patogenów korzeni w skali kraju.

Równoczesne nałożenie się efektu środowiskowego (gleba porolna, okresy suszy) i zwiększonej obecności patogena (inokulacja połowy pniaków w wieku uprawy) spowodowało po 16 latach zamarcie 60% wyjściowej liczby drzew. Informacja ta staje się istotnym punktem odniesienia w analizach przeżywalności sosny zwyczajnej na gruntach porolnych.

## 5. PODSUMOWANIE

Prezentowana w pracy metoda kontrolowanej infekcji wtórnej jest oryginalną koncepcją opracowaną przez Rykowskiego, nie znajdującą odpowiedników w światowych badaniach z tego zakresu. Jej zastosowanie pozwoliło prześledzenie w możliwie kontrolowanych warunkach terenowych przebiegu infekcji wtórnych sosny w wieku uprawy przez grzyb *H. annosum*.

Sztuczne inokulowanie pniaków w uprawie sosnowej przez wprowadzenie na powierzchnię ścięcia pniaka inokulum w postaci grzybni patogena przerastającej trociny jest w pełni skuteczną metodą zainicjowania procesu chorobowego. Jego szybki przebieg wiąże się głównie z zaistnieniem odpowiednich warunków dla rozwoju patogena w systemach korzeniowych, przede wszystkim z obecnością pniaków możliwych do zasiedlenia na skutek infekcji pierwotnej – tu: kontrolowanej inokulacji wszystkich powstałych pniaków. Pierwsze wypadki drzew nastąpiły już po roku od inokulacji. Zamierały zarówno pojedynczo, jak po kilka drzew w różnych miejscach uprawy równocześnie. W zależności od usytuowania i rozwoju systemów korzeniowych oraz liczby kontaktów między korzeniami porażeniu ulegały drzewa bezpośrednio sąsiadujące z drzewem zamartłym, tworząc ognisko chorobowe, lub zamierały drzewa bardziej oddalone od siebie zarówno w rzędzie, jak i między rzędami. W wyniku coraz to nowych kontaktów korzeni zakażonych ze zdrowymi, ogniska chorobowe powiększały się i utworzyły się luki. Procesy zamierania i tworzenia się luk hubowych determinowane były głównie wysokim potencjałem infekcyjnym pasożyta. Pomimo pewnych zbieżności i zamierania drzew znajdujących się obok siebie w rzędzie i między sąsiednimi rzędami (w odległości 1,5 m jedno od drugiego), nie udało się stwierdzić żadnych prawidłowości w wydzielaniu się poszczególnych egzemplarzy drzew.

Na przebieg choroby, poza wysokim potencjałem infekcyjnym patogena, zlokalizowanego równomiernie we wszystkich inokulowanych pniakach (możliwość kontaktu z korzeniami przynajmniej 4 pniaków), wpłynęły także zapewne cechy genotypowe drzew, warunki pogody w poszczególnych latach, a także zmieniające się z roku na rok warunki otoczenia poszczególnych drzew – zróżnicowany dostęp światła i opadów wskutek przerzedzania się drzewostanu. Synergizm oddziaływania na drzewa czynników stresowych (gleba porolna, okresy



suszy, patogen) wyraził się zamarciem 60% drzew 22-letniego drzewostanu sosnowego. Ma to istotne znaczenie dla analiz zdrowotności oraz oceny efektów ekonomicznych prowadzenia drzewostanów sosny zwyczajnej na gruntach polnych bez wykonywania zabiegów ochronnych.

## 6. WNIOSKI

Huba korzeni, której sprawcą jest korzeniowiec wieloletni *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. – grupa „P”, zainicjowana w wieku uprawy w ciągu kilkunastu lat może doprowadzić do zamarcia 60% drzew w 22-letnim drzewostanie.

Potwierdzono, że głównym źródłem rozwoju choroby są infekcje wtórne zainicjowane przez kontakt korzeni zdrowych i zakażonych przez patogena.

Na przebieg choroby mają wpływ właściwości osobnicze drzew – nie wszystkie drzewa rosnące obok zainokulowanych pniaków ulegają porażeniu przez patogena.

Stwierdzono wpływ suszy na zwiększenie się liczby drzew zamartwych w wyniku huby korzeni.

Praca została złożona 21.07.2005 r. i przyjęta przez Komitet Redakcyjny 13.12.2005 r.

### SPREAD OF THE DISEASE IN THE SCOTS PINE CULTURE AS A RESULT OF THE ARTIFICIAL INOCULATION OF STUMPS WITH MYCELIUM OF *HETEROBASIDION ANNOSUM*

#### Summary

Due to prof. K. Rykowski initiative there was investigation undertaken in 1986 in the Scots pine plantation established on the former agriculture land to check the efficiency of a method of artificial inoculation of stumps with *Heterobasidion annosum* mycelium and to observe disease development succeeding years. Fresh stumps were treated with the pathogen medium in the form of beech sawdust colonized by *H. annosum* mycelium and then the inoculation success was assessed and the number and location of dead trees recorded in the years 1986–2002.

There were 443 trees removed from the plantation in 1986 and the resulting stumps were inoculated with pathogen (Fig. 1). Visual assessment performed 3 months later revealed the presence of *H. annosum* mycelium under the bark both in the aboveground part of stem base and in the major roots 20–30 cm apart from stump. Re-isolations made from root wood confirmed the presence of pathogen mycelium. Remaining 492 trees have been subjected to observation for succeeding 15 years. First dead trees (24) killed by *H. annosum* were recorded in August 1987,

just 13 months after inoculation (Tab. 1). In 1988 15 trees have been died. In the next years fast growth of dying trees and spread of the disease has been observed. After 15 years 197 alive trees still remained in the plantation (Fig. 4). Besides dieback caused entirely by the pathogen, some wind throw was noticed also.

The observations made during the entire 15-year period have not shown any remarkable spatial pattern of disease spread. Primarily there were trees dying both inside the plantation and on the edges of naturally established gaps.

Artificial inoculation of stumps with *H. annosum* mycelium was very successful; all inoculated stumps were colonized by the pathogen. Investigation confirmed that the inoculation method applied was an effective way to initiate the disease process within the Scots pine plantation. Development of that process seems to be related mostly to the presence of adequate conditions for mycelium growth in the root systems of trees and occurrence of secondary infections. Mortality of trees obtained during 15-year period (60%) was a combine effect of high infectious potential of the pathogen represented by great number of inoculated stumps, unfavorable weather conditions (Fig. 7) and site (formerly agriculture land).

(transl. P. L.)

## LITERATURA

- Białobok S., Siwecki R. 1969. Próba hodowli sosny zwyczajnej odpornej na hubę korzeni *Fomes annosus*. *Genetica Polon.*, 10(3/4): 141-144.
- Delatour C. 1980. Le *Fomes annosus* en Europe de l'ouest. [W:] Proc. 5th Intern. Conf. on Probl. of root and butt rots in Conifers, Kassel, FGR Aug. 7-12, 1978, IURO Working Party S2.06.01: 9-18.
- Dimitri L., Kliefoth R. 1974. Eine Methode zur Prüfung der Anfälligkeit und Ausbreitungsresistenz der Fichte (*Picea abies* Karst.) gegenüber dem Wurzelschwamm *Fomes annosus* (Fr.) Cooke. *Eur. J. For. Path.*, 4(3): 182-187.
- Dimitri L. 1980. Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Fichtenklone gegenüber dem *Fomes annosus*. [W:] Proc. 5th Intern. Conf. on Problems of root and butt rots in Conifers, Kassel, FGR Aug. 7-12, 1978, IUFRO Working Party S2.06.01.425.
- Gäumann E. 1959. Nauka o chorobach infekcyjnych roślin. PWRiL Warszawa. 1-748.
- Kallio T., 1973. *Peniophora gigantea* and wounded spruce. *Acta For. Fenn.* 133: 1-26.
- Kolk A., Lech P., Sierota Z. 1996. Określenie stref zagrożeń lasów Polski przez czynniki biotyczne. *Bibl. Mon. Środ. PIOŚ. Wyd. Ars Sp.*, Warszawa 1996.
- Kolk A., Sierota Z., Małecka M. 1994. Ocena wpływu zagrożeń biotycznych (szkodników leśnych i chorób infekcyjnych) na stan lasów w Polsce w latach 1970-1992. *Bibl. Mon. Środ. PIOŚ Ag. Wyd.-Poligraf.-Księg. Bibliofil*, Warszawa.
- Korhonen K. 1978. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Comm. Inst. For. Fenn.*, 94(6): 1-25.
- Rykowski K. 1989. Efektywność sztucznej infekcji sosny różnych pochodzeń grzybnia huby korzeni. *Raport Inst. Bad. Leś. Warszawa.*
- Rykowski K., Sierota Z. 1977: Badania nad przygotowaniem do produkcji biopreparatu z grzybem *Phlebia gigantea* (Fr.) Donk. *Prace Inst. Bad. Leś.*, 534; 74-90.
- Rykowski K., Sierota Z. H., Żółciak A. 1988. Ocena odporności 7-letnich potomstw sosny zwyczajnej polskich proveniencji w zależności od zagrożenia infekcyjnego od opieńki [*A. mellea* (Vahl) Quél.] i warunków uprawowych. *Prace Inst. Bad. Leśn.*, 668: 57-92.
- Siwecki R. 1967. Badania nad porażeniem sosny przez *Lophodermium pinastri* w zależności od proveniencji nasion żywiciela. *Sylwan*, 3: 53-60.

- Weissenberg Kim von 1975. Variation in relative resistance to spread of *Fomes annosus* in four clones of *Picea abies*. Eur. J. For. Path., 5(2): 112-117.
- Weissenberg Kim von 1980. Resistance of *Picea abies* to *Heterobasidion annosum*. [W:] Proc. 5th Intern. Conf. on Problems of root and butt rots in Conifers, Kassel, FGR Aug. 7-12, 1978, IUFRO Working Party S2.06.01, 2-84.
- Żółciak A., 1992. Grupy intersterylne *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. – identyfikacja polskich izolatów. Prace Inst. Bad. Leśn., A, 741: 83-90.