

TOMASZ OSZAKO, LESZEK B. ORLIKOWSKI

Pierwsze dane o występowaniu *Phytophthora cinnamomi* na dębie szypułkowym w Polsce*

First data on the occurrence of *Phytophthora cinnamomi* on pedonculate oak in Poland

ABSTRACT

Oszako T., Orlikowski L. B. 2005. Pierwsze dane o występowaniu *Phytophthora cinnamomi* na dębie szypułkowym w Polsce. Sylwan 10: 47-53.

Phytophthora cinnamomi was isolated from nurseries and in the stand. Declining pedonculate seedlings and adult oaks *Quercus robur* L showed disease symptoms. Affected seedlings were dying as quick as severe damage of root system occurred. Infected trees showed dieback of crowns and characteristic dark exudation on stems. Beneath the bark necrosis of bast tissue was observed. Apart of *P. cinnamomi* such fungal pathogens as *Fusarium avenaceum* and *F. oxysporum* were isolated from diseased plants. The number of obtained isolates of *P. cinnamomi* could be probably higher if they were not quickly overgrown by *Mucor*, *Chaetomium* and *Trichoderma* spp. Isolates of *P. cinnamomi* from oak, pine and spruce cause stem rot of oak seedlings and necrosis spread about 8,5-10,4 mm/24 hr. On infected parts of oak the fastest spread was observed on roots and the slowest on leaf blades.

KEY WORDS

isolation, *Phytophthora cinnamomi*, oak decline, dieback spots, colonisation

ADDRESSES

Tomasz Oszako – Instytut Badawczy Leśnictwa w Sękocinie Lesie;
05-090 Raszyn; e-mail: T.Oszako@ibles.waw.pl

Leszek B. Orlikowski – Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa;
96-100 Skierniewice; e-mail: lorlikow@insad.pl

Wstęp

Ocieplenie klimatu sprawia, że w ekosystemach leśnych powstały sprzyjające warunki do rozwoju nowych mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych dla drzew, dotychczas w naszym kraju nie notowanych [Orlikowski i in. 2003]. *Phytophthora cinnamomi* Rands, czynnik chorobotwórczy dla co najmniej 1000 gatunków roślin, występuje w rodzimych szkółkach roślin ozdobnych już od kilkunastu lat [Orlikowski i in. 1995; Orlikowski, Szkuta 2002]. Drzewa osłabione z powodu niedoboru wody w glebie są szczególnie predysponowane do infekcji przez mikroorganizmy patogeniczne. Wpływ wody na wrażliwość dębów wobec *P. cinnamomi* badali Marçais i in. [1993] stwierdzając, że potencjał wodny w granicach od 0,5 do 1 Mpa (co odpowiadało przedziałowi potencjału u drzew poddanych stresowi wodnemu) silnie ograniczał rozwój patogena na odciętej korze. Wyniki autorów wskazują na wzrost podatności kortikalnych tkanek dębu na *P. cinnamomi* pod wpływem stresu wodnego. Młode dęby poddane stresowi suszy w momencie, gdy ich tkanki powracały do wysokiego potencjału wodnego, wykazywały większą

* Badania finansowane przez Komitet Badań Naukowych w ramach grantu 0635/PO6/2002/22

podatność na infekcje patogena niż drzewa kontrolne. Według Brasier [1994], *P. cinnamomi* nie powinien zadomowić się w polskich warunkach klimatycznych. Prognozy autora wykluczyły dotychczas jego obecność w Europie Centralnej i Wschodniej ze względu na mroźne zimy, mimo że już w 1974 roku patogen występował w szkółkach holenderskich i francuskich powodując nawet 100% straty w uprawie roślin ozdobnych [Steekelenburg 1974]. Do tej pory brakowało danych o występowaniu fytoftorzy na dębach w Polsce.

Celem niniejszej pracy było określenie składu mikroorganizmów zasiedlających siewki oraz drzewa w wybranych szkółkach i stanowiskach leśnych dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.), a także zbadanie szkodliwości izolatów *Phytophthora cinnamomi* dla siewek.

Material i metody

Obserwacje zdrowotności siewek i drzew wykonano w 10 szkółkach i 10 drzewostanach dębowych w różnych rejonach Polski w latach 2002-2004. Wybrane szkółki i drzewostany podejrzewane przez służby Lasów Państwowych o występowanie chorób lustrowano co najmniej raz w ciągu sezonu wegetacyjnego pobierając do badań siewki z objawami zamierania liści oraz zgnilizny korzeni i podstawy pędu.

Drzewa w wieku od 30 do 70 lat, wykazywały symptomy zrakowaceń na pniach, dochodzących nawet do wysokości kilku metrów. Na spękaniach pni występowały niekiedy czarne plamy z wysiękami ciemnego soku (fot.). Na 3 drzewach z już opisanymi objawami, w lipcu 2003 w koronach drzew pojawiły się obumierające pędy, gałęzie i konary, a rok później dęby obumarły. Na sąsiadujących drzewach w 2004 roku obserwowano wysięki na pniach, których korony częściowo obumierały.

Do analizy mikologicznej pobrano 2-4-letnie siewki oraz próbki drewna z miejsc występowania nekrotycznych plam pod korą, jak i glebę z najbliższego sąsiedztwa korzeni. Próby wkładano do sterylnych worków foliowych i przewożono do laboratorium. Najczęściej następnego dnia, próby płukano dokładnie pod wodą bieżącą, osuszano pomiędzy 2 warstwami bibuły



Fot.

Plamy i wysięki na korze dębu spowodowane przez *Phytophthora cinnamomi*
Spots and exudates on oak trunk caused by *Phytophthora cinnamomi*

filtracyjnej, a następnie wykładano na pożywkę ziemniaczano-glukozową (PDA) i do jabłek stosując metody opisane przez Orlikowski i Szkuta [2002] oraz Szkuta [2004]. Kolonie grzybów, wyrastające wokół 0,5 cm fragmentów chorych tkanek odszczepiano na skosy z pożywką PDA. W przypadku jabłek, gdy wokół wyłożonych tkanek pojawiło się zbrązowienie, owoc odkażano przez chwilę nad płomieniem palnika, ścinano ok. 2 mm warstwę miąższu ze skórką i ok. 3-5 mm fragmenty zbrunatniałego miąższu przenoszono do skosów z PDA. Uzyskane kultury segregowano na podstawie podobieństwa kolonii, obserwowano je następnie pod mikroskopem i wybierano kultury reprezentacyjne, które oznaczano do rodzaju i/lub gatunku. W przypadku identyfikacji *Phytophthora* sp. stosowano techniki opisane przez Szkuta [2004].

Ocenę kolonizacji *Phytophthora cinnamomi* w stosunku do siewek i różnych części dębu szypułkowego przeprowadzono w laboratorium. Kielkujące nasiona wykładano do tac fotograficznych wyłożonych sterylną wilgotną bibułą i przykrywano je siatką. Gdy kielki osiągnęły długość około 80 mm, na ich podstawę наносzono krążki pożywki przeforsowane przez patogena o średnicy 3 mm i przykrywano folią. Do inokulacji siewek wykorzystano izolaty *P. cinnamomi* wyosobnione z dębu, sosny i świerka. Tace inkubowano w temperaturze 22°C w ciemności. Po trzech i pięciu dniach mierzono długość nekrozy. Kolonizację 1-rocznych łodyg, korzeni i liści dębu przez gatunek *P. cinnamomi*, uzyskany z tej rośliny, badano podobnie jak kolonizację siewek. Doświadczenia założono w układzie bloków losowych w czterech powtórzeniach po 10 siewek lub części rośliny i powtórzono dwa razy w odstępie 2 tygodni.

Wyniki i dyskusja

IZOLACJA GRZYBÓW I ORGANIZMÓW GRZYBOPODOBNYCH Z PORAZONYCH TKANEK. Spośród 10 lustrowanych szkółek, gdzie produkowano siewki dębu, w dwóch z nich stwierdzono występowanie *Phytophthora cinnamomi* i dane z analizy mykologicznej roślin z tych obiektów zamieszczono w tabeli 1. Gatunek ten izolowano z 1/7 analizowanych siewek w pierwszej ze szkółek i z 5/9 roślin z drugiego obiektu. W obu szkółkach z porażonych korzeni siewek izolowano *Fusarium avenaceum*, a w drugim z obiektów również *F. oxysporum*. Ten ostatni z gatunków w badaniach Gallego i in. [1999] powodował zgniliznę korzeni siewek *Quercus ilex*. W badaniach własnych nie przeprowadzono doświadczeń nad chorobotwórczością *F. oxysporum* dla dębu, natomiast w innych doświadczeniach wykazano [Orlikowski i in., nie publik.], że jest on przyczyną zamierania większości gatunków siewek roślin iglastych, a będąc obecnym w glebie w szkółkach, zasiedla uprawiane w nich rośliny, w tym dąb szypułkowy. W obu szkółkach stwierdzono również występowanie przedstawicieli z rodzaju *Trichoderma*. Gatunki z tego rodzaju są znanymi antagonistami wielu patogenów roślin, a w tym *Phytophthora* spp. [Dennis, Webster 1971; Orlikowski 1995]. Duża liczebność tej grupy antagonistów w glebie może silnie ograniczać rozwój *Phytophthora* spp. [Orlikowski 1995] i dlatego próby izolacji patogena nie zawsze uwieńczone są sukcesem.

Analiza mykologiczna dębów z objawami chorobowymi wykazała, że tylko w jednym z 10 lustrowanych drzewostanów stwierdzono występowanie *P. cinnamomi* i dane uzyskane z izolacji przedstawiono w tabeli 1. Tylko na jednym z trzech analizowanych drzew stwierdzono występowanie tego gatunku. Jest bardzo prawdopodobne, że na dwóch pozostałych drzewach patogen występował, lecz próby chorych tkanek pobrano z niewłaściwych miejsc lub też na pożywce kolonie zarastane były przez gatunki z rodzajów *Mucor* i *Trichoderma*. Na uwagę zasługuje występowanie w chorych tkankach *Chaetomium globosum*, który znany jest również jako gatunek antagonistyczny dla wielu patogenów roślin [Soytong 2000].

Tabela 1.

Grzyby i organizmy grzybobodobne wyizolowane z 2-4-letnich siewek dębu oraz 40-letnich drzew; liczba zasiedlonych roślin (a) i liczba uzyskanych izolatów (b)

Fungi and Algae – like Oomycetes isolated from 2-4-year-old oak seedlings and 40-year-old trees; number of settled plants (a) and number of isolates obtained (b)

Rodzaj/gatunek	Szkółka Nr I		Szkółka Nr II		Stanowisko dębów	
	28 roślin		9 roślin		3 drzewa	
	a	b			a	b
<i>Alternaria alternata</i> Nees	2	5	2	4	2	7
<i>Botrytis cinera</i> Pers.	–	–	–	–	2	4
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	–	–	–	–	1	3
<i>Fusarium avenaceum</i> (Fr.) Sacc.	7	14	3	5	–	–
<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.	–	–	–	–	2	4
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	–	–	2	4	–	–
<i>Mucor</i> spp.	14	31	–	–	3	5
<i>Phomopsis</i> sp.	–	–	4	11	1	3
<i>Penicillium</i> spp.	11	22	–	–	3	11
<i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands	4	11	5	18	1	9
<i>Rhizoctonia</i> sp.	–	–	–	–	1	2
<i>Torula expansa</i> Pers. ex Fr.	–	–	–	–	1	3
<i>Trichoderma</i> spp.	3	4	2	5	3	12
<i>Trichothecium roseum</i> Link.	–	–	–	–	2	2

Izolacja: 2002.03.23-2004.07.20

Isolation: 2002.03.23-2004.07.20

KOLONIZACJA SIEWEK I CZĘŚCI DĘBU PRZEZ *PHYTOPHTHORA CINNAMOMI*. Badania nad kolonizacją siewek przez *P. cinnamomi* wskazują, że bez względu na źródło izolatu tego patogena nekroza rozwijała się na zakażonych pędach. Po 3 dniach inkubacji co najmniej odcinek 32 mm od nasady został skolonizowany przez patogena (tab. 2). Nekroza rozwijała się istotnie szybciej, gdy siewki zainokulowano izolatami z sosny i dębu. Po 5 dniach stwierdzono podobne tendencje (tab. 2). Na częściach dębu, zainokulowanych przez *P. cinnamomi*, nekroza widoczna była już po 2 dniach, a po 4 dniach jej długość wahała się od 32 do 41,3 mm (tab. 3). Patogen kolonizował istotnie najszybciej młode korzenie dębu, a najwolniej liście. Uzyskane dane wskazują, że w ciągu doby badany gatunek kolonizował około 10 mm pędu siewki lub liścia dębu. Rozwój nekrozy przebiegał więc bardzo szybko.

W warunkach naturalnych duży wpływ na rozwój fytoftorazy ma przebieg pogody. W 2003 roku dęby cierpiały na niedostatek wody w glebie, spowodowany długotrwałą suszą, szczególnie w sezonie wegetacyjnym. Stan taki niewątpliwie wpłynął na osłabienie drzew i ich infekcję

Tabela 2.

Kolonizacja siewek *Quercus robur* przez izolaty *Phytophthora cinnamomi*

Colonisation of *Quercus robur* seedlings by isolates of *Phytophthora cinnamomi*

Źródło izolatów	Nr izolatu	Długość nekrozy w (mm) po dniach od inokulacji	
		3	5
<i>Picea excelsa</i>	PO323	32,3 a	42,5 a
<i>Pinus sylvestris</i>	Po314	40,0 b	52,0 b
<i>Quercus robur</i>	PO320	37,3 b	48,0 ab

Inokulacja: 2004.05.06

Uwaga: Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana

Inoculation: 2004.05.06

Note: Means followed by the same letter do not differ with 5% of significance (Duncans multiple range test)

Tabela 3.

Kolonizacja części *Quercus robur* przez *Phytophthora cinnamomi*Colonisation of *Quercus robur* by *Phytophthora cinnamomi* from oak; diam/length of necrosis in mm

Części rośliny	Długość/średnica nekrozy w mm po dniach od inokulacji	
	2	4
3-tygodniowe pędy	20,6 b	36,5 b
Liście	13,0 a	32,0 a
Korzenie	20,8 b	41,3 c

Inokulacja: 2004.04.21

Uwaga: patrz Tabela 2

Inoculation: 2004.04.21

Note: see Table 2

przez *P. cinnamomi*. Porażone dęby szypułkowe nie miały już liści w 2004 roku, a nowe drzewa wykazywały symptomy choroby latem tego roku. Prawdopodobnie patogen rozprzestrzenił się w glebie przez kontakt korzeni drzew chorych ze zdrowymi rosnącymi w najbliższym sąsiedztwie. Dynamikę rozwoju fitoftozy na dębie błotnym (*Quercus palustris*), szypułkowym (*Q. robur*) i czerwonym (*Q. rubra*), a także kasztanie jadalnym (*Castanea sativa*) wyhodowanych w rizotronie badali Marçais i in. [1996a]. Okazało się, że pierwotne tkanki korzeniowe dębów były podatne na *P. cinnamomi*, podczas gdy wtórne (kortikalne) wykazywały nieznaczną odporność. Z kolei odporność korzeni i pędów dębu czerwonego była ujemnie skorelowana ze średnicą zainokulowanego organu rośliny. Drobne korzenie (1-5 cm średnicy) były odporne, podczas gdy szyje korzeniowe i pnie były wrażliwe na patogena. Robin i in. [1992] wykazali, że infekcje poza szyjami korzeniowymi rozprzestrzeniały się bardzo szybko. W szyjach korzeniowych następowało, pomimo ich podatności na infekcję, zabliznianie ran. W efekcie prowadziło to do deformacji pni drzew.

Marçais i in. [1996b] stworzyli model, obrazujący wpływ zimowych przymrozków na infekcję dębów przez *P. cinnamomi* i przewidywanie powstawania zrakowaceń pni drzew. W latach, które według modelu wskazywano jako całkowicie uniemożliwiające rozwój patogena, nie stwierdzono u poszczególnych drzew infekcji słoju przyrostu rocznego na grubość. Co więcej, także w latach wykazanych przez model jako niesprzyjające (o małej przeżywalności *P. cinnamomi*), liczba infekcji u badanych drzew także się zmniejszała (szczególnie północnych ekspozycji pni). Według Jung i in. [1996] w procesie zamierania dębów, powodowanych przez *Phytophthora* spp., szczególnie istotna jest infekcja korzeni i stopniowe zamieranie drzew, chociaż możliwy jest również wpływ na proces chorobowy czynników predysponujących i współuczestniczących, takich jak zmiany klimatyczne i nadmiar azotu w glebie.

Z przeprowadzonych badań wynikają następujące wnioski:

- ✦ Po raz pierwszy w Polsce stwierdzono występowanie *Phytophthora cinnamomi* zarówno w szkółkach jak i w drzewostanach dębowych. Patogen ten stwierdzono w lustrowanych szkółkach i w jednym z drzewostanów, ale jest prawdopodobne, że występuje on także w innych.
- ✦ Nieznane jest źródło *P. cinnamomi* w kilkudziesięcioletnich, zamierających drzewostanach, ale jest prawdopodobne, że patogen wnoszony był do lasów na zakażonych siewkach dębu w minionych latach, na co wskazują wyniki analizy mikologicznej chorych roślin.
- ✦ Jednym ze źródeł patogena mogą być rośliny ozdobne
- ✦ Wyniki własnych doświadczeń laboratoryjnych, jak również dane z piśmiennictwa wskazują, że gatunek *P. cinnamomi* jest chorobotwórczy dla dębów, a w najbliższej przyszłości może stać się groźnym czynnikiem chorobotwórczym dla naszych drzewostanów.

✦ Istnieje potrzeba dalszego monitorowania drzewostanów dębowych, wykazujących symptomy chorobowe, pod kątem możliwości występowania *P. cinnamomi*, a także innych gatunków z rodzaju *Phytophthora*.

Literatura

- Brasier C. M., Scott J. K. 1994. European oak declines and global warming: a theoretical assesment with special reference to the activity of *Phytophthora cinnamomi*. Bull. OEPP/EPPO 24: 221-232
- Dennis C., Webster J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. Br. Mycol. Soc. Trans. 57: 25-39.
- Gallego F. J., A Perez de Algaba., Fernandez-Escobar R. 1999. Etiology of oak decline in Spain. Eur. J. Path. 29: 17-27.
- Jung T., Blaschke H., Neumann P. 1996. Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. Eur. J. For. Pathol. 26: 253-272.
- Marçais B., Dupuis F., Desprez-Loustau M. L. 1993. Influence of water stress on susceptibility of red oak (*Quercus rubra*) to *Phytophthora cinnamomi*. Eur. J. For. Path. 23, 5: 295-305.
- Marçais B., Dupuis F., Desprez-Loustau M. L. 1996a. Susceptibility of the *Quercus rubra* root system to *Phytophthora cinnamomi*; comparison with chestnut and other oak species. Eur. J. For. Path. 26, 3: 133-143.
- Marçais B., Dupuis F., Desprez-Loustau M. L. 1996b. Modelling the influence of winter frosts on the development of the stem canker of red oak, caused by *Phytophthora cinnamomi*. Ann. Sci. For. 53, 2/3: 369-382.
- Orlikowski L. B. 1995. Studies on the biological control of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. II. Effectiveness of *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. in the control of *Phytophthora* foot rot of gerbera. J. Phytopathol. 133: 341-343.
- Orlikowski L. B., Gabarkiewicz R., Skrzypeczak Cz. 1995. *Phytophthora species* in Polish ornamental nurseries. I. Isolation and identification of *Phytophthora species*. Phytopathol. Pol. 9: 73-79.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2002. Occurrence of *Phytophthora cinnamomi* on ericaceous plants in container-grown nurseries. J. Plant Prot. Res. 42, 2: 157-163.
- Orlikowski L. B., Oszako T., Szkuta G. 2003. First record of alder *Phytophthora* in Poland. J. Plant Prot. Res. 43, 1: 33-39.
- Robin C., Desprez-Loustau M. L. 1992. Spatial and temporal enlargement of trunk of *Phytophthora cinnamomi* in red oak. Can. J. For. Res. 22, 3: 362-366.
- Soytong K. 2000. Application of *Chaetomium* as a broad spectrum biological fungicide for plant disease control. Int. Conference „Microbial antagonism against fungi”, Uppsala, Sweden, 2000.06.13. 15: 32
- Steeckelenburg van N. A. M. 1974. La maladie a *Phytophthora* des coniferes. Les Problemes Sanitaires Actuels en Pepiniere. Les Journees d'etudes de l'Horticulture des Pepinieres XI: 85-94.
- Szkuta G. 2004. Występowanie, izolacja, identyfikacja i szkodliwość gatunków z rodzaju *Phytophthora* w szkółkach roślin ozdobnych. Praca doktorska, Akademia Rolnicza, Kraków. 1-191.

SUMMARY

First data on the occurrence of *Phytophthora cinnamomi* on pedunculate oak in Poland

The consequence of global warming might be unlimited spreading of fungi-like organisms typical for southern Europe so far. First record of *Phytophthora cinnamomi* in Polish nurseries and forest stand seem to prove such tendency. Affected seedlings and adult trees of pedunculate oaks (*Quercus robur*) showed characteristic dark spots and exudates at the base of their trunks. Damage of oaks root systems reflected in their crown transparency with well visible many dying shoots and wilting of leaves which turn brown in mid summer.

Even 60 year-old trees which showed disease symptoms could die during one vegetation season only. Drought of the year 2003 and current wet and cold summer seem to accelerate process of disease. The number of obtained *P. cinnamomi* isolates is underestimated because of their fast overgrowing colonies by *Mucor*, *Chaetomium* and *Trichoderma* spp. The probable source of infections in the stand may be both imported ornamental plants and oak seedlings originated from infected nurseries. Such affected plants when planted in forest plantation or its

Pierwsze dane o występowaniu *Phytophthora cinnamomi* na dębie **53**

vicinity may severely menace the health status of oak stands in the future. Inoculation of red oak seedlings with *P. cinnamomi* isolates from *Quercus robur*, *Picea excelsa* and *Pinus sylvestris* resulted in the development of stem rot symptoms. Necrosis spread about 8.5 to 10,4 mm/24 hr.