

VALERY ISIDOROV¹, JADWIGA JAROSZYŃSKA¹, EWA
PIROŹNIKOW², URSZULA KRAJEWSKA¹, ANDRZEJ KOLK³

Zależności między chorobami drzew iglastych a składem olejków eterycznych*

Certain diseases of coniferous trees and essential oil compositions

Wstęp

W ostatnich dziesięcioleciach w Europie dochodzi do masowego usychania lasów iglastych położonych w obszarach przemysłowych. Równowagę w ekosystemach leśnych zaburzają m.in. zanieczyszczenia antropogeniczne, kwaśne opady, podwyższona zawartość ozonu w przyziemnej atmosferze [4,7], oraz wypalanie traw i nieużytków. Skutkiem osłabienia kondycji lasu są choroby drzew oraz występowanie dendrofagów [8,9]. Tradycyjne, wizualne metody oceny stanu lasu nie pozwalają na oszacowanie dynamiki porażenia oraz nic nie mówią o biochemicznych zmianach, zachodzących u porażonych drzew. Takich informacji dostarczyć może jedynie monitoring hylopatologiczny – obecnie ma on szczególne znaczenie.

Spadek odporności u drzew iglastych przejawia się m.in. w zmniejszeniu produkcji żywicy [1] oraz zmniejszeniu zawartości w żywicy toksycznych dla grzybów i owadów związków chemicznych. Do takich związków należą np. terpeny znajdujące się w olejkach eterycznych drzew iglastych. Na podstawie składu olejków eterycznych można uzyskać pełniejszy obraz monitorowanego lasu. Takie badania będą pomocne w pracy patologów lasów, oraz mogą służyć do określania form rezystentnych w uprawach leśnych.

W pracy [5] przedstawiliśmy wyniki oznaczenia składu i sezonowej dynamiki olejków eterycznych wydzielonych z igieł wielu drzew iglastych, obecnie przedstawiamy wyniki badania różnic w składzie olejków eterycznych drzew iglastych porażonych przez grzyby lub owady oraz drzew zdrowych.

¹ Instytut Chemii, Uniwersytet w Białymstoku,

² Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku,

³ Instytut Badawczy Leśnictwa, Warszawa

* Praca została wykonana w ramach realizacji projektu nr 6 P04G 08810 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

Część eksperymentalna

Aby wyeliminować sezonowe wahania składu olejków eterycznych [5] oraz wpływ warunków siedliska, do badań pobierano jednocześnie próby z drzew zdrowych oraz zaatakowanych przez szkodniki.

Materiał badawczy zebrano w różnym czasie i w różnych miejscach:

- W latach 1996-1997 w Puszczy Knyszyńskiej w Nadleśnictwie Krynki (oddział 56f) kilkakrotnie pobrano próby z dwóch piętnastoletnich drzew świerka (*Picea abies* Karst.) porażonych tarczniakiem *Physokermes piceae* Shrank. Wokół tych drzew rosły inne, niewykazujące żadnych oznak choroby. Za każdym razem pobierane były próbki 1-2-letnich gałązek z tych samych drzew porażonych i nieporażonych.
- W czerwcu 1998 roku w Nadleśnictwie Krynki pobrano próbki gałązek modrzewia *Larix decidua* Mill. z drzew zdrowych oraz z drzew w różnym stopniu porażonych krobikiem modrzewiowym *Coleophora laricella*. W tym samym czasie i w tym samym nadleśnictwie pobrano również próbki sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) porażonej osutką jesienną. Chorobę tę wywołują dwa gatunki grzybów: *Lophodermium pinastri* oraz *Sklerophoma pitrofile*. Pobierano jednoroczne przyrosty z dziesięciu drzew.
- We wrześniu 1998 r. pobrano próbki gałązek sosny zwyczajnej oraz świerka (*P. abies* Karst.) rosnących około 45 km na północ od Petrozawodska, na terytorium Stacji Monitoringu Instytutu Lasu Rosyjskiej Akademii Nauk (Petrozawodsk) w Karelii.
 - Próbki sosny zdrowej i porażonej *Phacidium infestans* Karst. pochodziły z drzew 8-10-letnich, w borze suchym, rosnącym na glebie piaszczystej. Według klasyfikacji przyjętej w Rosji las ten zaliczany jest do typu *Pinetum cladinosum*.
 - Próbki świerka pobrano z drzew 20-25-letniej świerczyny bagiennej *Ledum palustre* L. (typ lasu – *Piceetum ledoso-sphagnosum*), rosnącej w borze wilgotnym, którego gleby pokrywa mech *Sphagnum* sp. Część świerków w tym lesie zaatakowana jest przez grzyb *Chrysomyxa ledi* DB, którego pośrednim gospodarzem jest bagno zwyczajne [2].

Wyodrębnianie i analiza olejków eterycznych. Olejki eteryczne otrzymywano z igliwia metodą destylacji z parą wodną [5]. Z olejków tych sporządzano 3% roztwory w n-heksanie, które następnie analizowano na chromatografie gazowym Dani 86.10 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID, z kolumną kapilarną (30 m × 0,25 mm) wypełnioną fazą stacjonarną DB-5. Składniki olejków identyfikowano na podstawie indeksów retencji z zastosowaniem współczynników podziału w układzie n-heksan/acetonytryl [6].

Wyniki i dyskusja

W tabelach 1-4 przedstawiono niektóre wyniki badań składu olejków wyizolowanych z drzew zdrowych oraz z drzew zaatakowanych przez grzyby i owady. Wyjaśnijmy na

TABELA 1

Zawartość (%) i sezonowa dynamika składu olejków eterycznych pozyskanych z igliwia świerków zdrowych i porażonych przez *Physokermes picea* Shrank

Związek	Drzewa zdrowe					Drzewa porażone					
	27VIII	2X	14I	12 III	14V	*	2X	14I	12 III	14 V	średnia
	1996	1996	1997	1997	1997		1996	1997	1997	1997	
Monoterpeny C ₁₀ H ₁₆	53,4	59,1	54,7	49,9	54,2	-	34,0	14,3	25,2	31,2	26,1
w tym:											
Tricyklen	1,1	1,3	1,3	0,9	1,1	-	0,41	0,03	0,13	0,33	0,2
α-Pinen	7,5	8,3	8,1	6,0	7,4	-	3,4	1,3	3,0	2,9	2,6
Kamfen	20,3	21,1	21,2	16,1	17,9	-	9,7	3,8	4,0	7,6	6,3
Mircen	2,8	2,8	2,5	1,5	3,2	-	2,0	0,6	1,6	1,4	1,4
Limonen + β-felandren	19,9	23,0	19,5	22,9	19,6	-	17,5	8,4	13,4	16,5	13,9
Monoterpenoidy	43,4	39,7	43,8	47,0	43,5	-	61,4	73,0	61,8	58,9	63,8
w tym:											
Kamfora	5,2	5,0	4,9	6,0	4,8	-	1,4	1,2	0,9	1,2	1,2
Borneol	8,2	7,7	9,3	8,8	8,8	-	5,5	6,1	4,5	4,5	5,1
Octan bornylu	24,8	22,9	24	23,9	22,4	-	51,0	63,1	51,8	49,0	53,7
Seskwiterpeny C ₁₅ H ₂₄	0,7	1,1	0,4	2,1	2,0	-	3,0	5,3	5,3	4,7	4,6
Seskwiterpenoidy	2,1	0,2	1,2	1,0	1,9	-	1,5	9,3	7,6	4,8	5,8

* próby nie pobrano

TABELA 2

Skład olejków eterycznych wydzielonych ze świerka zdrowego i porażonego przez grzyb *Chrysomyxa ledi* DB (Karelia)

Związek	Świerki zdrowe	Świerki chore
Monoterpeny C ₁₀ H ₁₆	62,4	46,8
w tym: tricyklen	1,1	0,6
α-pinen	6,9	5,2
kamfen	20,8	12,0
mircen	3,6	3,6
limonen + β-felandren	26,0	24,2

Monoterpenoidy	35,2	45,2
w tym: kamfora	2,6	1,2
borneol	3,0	1,8
octan bornylu	26,1	34,5

Seskwiterpeny C ₁₅ H ₂₄	1,4	2,8

Seskwiterpenoidy	1,0	4,8

wstępie, że na podstawie wyników przedstawionych w tabelach 1, 2 oraz 4 nie można porównywać składu igliwia pochodzącego z drzew zdrowych, a rosnących w różnych warunkach, gdyż ich próbki pobierane były w różnych okresach sezonu wegetacyjnego oraz pochodziły z drzew w różnym wieku. Według wyników badań przeprowadzonych przez Głowackiego [3] wiek drzewa i pora zbioru igliwia ma zasadniczy wpływ na całkowitą zawartość olejków eterycznych. Z naszych wcześniejszych badań również wynikało, iż zawartość poszczególnych związków zależy zarówno od wieku drzewa, jak i pory zbioru próbek do badań.

W tabeli 1 zawarto wyniki badań składu olejków wyizolowanych z chorych i zdrowych drzew świerka w Nadleśnictwie Krynki. W ciągu całego okresu obserwacji skład olejków wydzielonych z porażonych drzew bardzo się różnił od olejków pochodzących z drzew zdrowych. U drzew nie porażonych tarcznikiem przeważały monoterpeny C₁₀H₁₆, podczas gdy u drzew porażonych przeważały monoterpenoidy (tlenowe pochodne monoterpenów). Stwierdzono ponadto, że kamfen u drzew zdrowych stanowił 32-39% całkowitej zawartości monoterpenów, a u drzew chorych około 16-29%, natomiast suma limonenu i β-felandrenu u drzew zdrowych wynosiła 36-46%, u chorych dochodziła do 53-59%.

Również w grupie monoterpenoidów obserwuje się wyraźne różnice. Zdrowe drzewa zawierają w olejkach eterycznych kamfory średnio 11,9% a borneolu 19,5% całkowitej ilości monoterpenoidów, a u drzew porażonych tych związków jest mniej i stanowią one odpowiednio 1,9 i 8,0% całkowitej ilości monoterpenoidów. Stosunkowy udział octanu bornylu u drzew zdrowych jest natomiast mniejszy (średnia 54,2% całkowitej ilości monoterpenoidów) niż u chorych (średnia 84,1%).

TABELA 3
Skład olejków eterycznych modrzewia *Larix europaeae* L. zdrowego oraz porażonego krobikiem modrzewiowym.

Związek	Drzewa zdrowe	Drzewa porażone	
		słabo	silnie
Monoterpeny C ₁₀ H ₁₆	6,1	19,8	29,9
w tym: α-pinen	2,2	6,0	6,4
β-pinen	<0,01	3,2	4,5
3-karen	3,3	5,9	10,7
limonen	0,8	4,2	4,4

Monoterpenoidy	4,7	5,4	13,0
w tym: α-terpineol	2,7	3,9	8,6
octan bornylu	1,1	1,2	1,0

Seskwiterpeny C ₁₅ H ₂₄	53,4	56,5	42,6
w tym: β-selinen	37,9	34,5	26,7
δ-kadinen	14,0	8,8	7,4

Seskwiterpenoidy	35,9	18,1	14,4
w tym: α-murolol	5,8	3,6	4,7
α-kadinol	8,5	5,4	3,0
hydroksy kariofilen (?) *	18,1	5,4	4,3*

* Seskwiterpenoid z indeksem retencji I = 1665

Ponieważ zarówno drzewa porażone, jak i zdrowe, rosną w tych samych warunkach klimatyczno-glebowych, dlatego można by sądzić, że różnice w składzie olejków wywołane zostały przez atakujące szkodniki. Jednakże należy uwzględnić jeszcze inną ewentualność: atak szkodników drzew może być wywołany obniżeniem ochronnych właściwości olejków eterycznych i żywicy. Czy obniżenie ochronnych właściwości tych substancji może mieć podłoże genetyczne? Za taką możliwością przemawiałby fakt, że podczas rocznej obserwacji dwóch świerków w Nadleśnictwie Krynki nie stwierdziliśmy, aby nastąpiło rozprzestrzenienie się *Physokermes piceae* na sąsiednie drzewa.

W tabeli 2 zestawiono skład olejków uzyskanych z rocznych przyrostów świerka zdrowego i zaatakowanego przez grzyb *Chrysomyxa ledi*. Drzewa zaatakowane przez ten rodzaj grzyba zawierają mniejsze ilości monoterpenów, a względna zawartość sumy limonenu i β-felandrenu jest większa u drzew chorych (51,7%) niż u drzew zdrowych (41,6%). Podobne prawidłowości obserwowaliśmy w przypadku świerka porażonego tarczniakiem (tab. 1). W olejkach świerka zaatakowanego grzybem *Chrysomyxa ledi* wzrasta również zawartość monoterpenoidów (z powodu octanu bornylu), seskwiterpenów oraz seskwiterpenoidów.

W tabeli 3 zawarto skład olejków eterycznych wydzielonych z igieł modrzewia. Drzewa chore porażone były krobikiem modrzewiowym. Jak widać, przejście od drzew zdrowych

TABELA 4

Skład olejków eterycznych otrzymanych z sosny zdrowej i porażonej przez grzyby

Związek	Polska*		Karelia**	
	zdrowe	chore ¹	zdrowe	chore ²
Monoterpeny C ₁₀ H ₁₆	60,0	68,0	48,2	81,3
w tym: α-pinen	27,0	31,5	21,2	49,1
kamfen	7,8	8,3	6,5	6,1
3-karen	15,3	18,0	8,2	14,1
limonen	2,2	2,8	1,9	2,1
Monoterpenoidy	21,6	11,0	21,1	7,1
w tym: octan bornylu	18,3	6,8	20,0	6,4
Seskwiterpeny C ₁₅ H ₂₄	9,5	7,0	12,7	4,6
Seskwiterpenoidy	7,9	14,5	17,7	7,0

* igliwie jedno- i dwuletnie

** igliwie tylko jednoroczne

¹ osutka sosnowa wywołana przez *Lophodermium pinastri* oraz *Sklerophoma pitrofile*² grzyb *Phacidium infestans* Karst.

do drzew słabo i mocno zaatakowanych przez szkodnika wywołuje zmiany składu terpenów. Silnie wzrasta zawartość monoterpenów (wzrost 3-5-krotny) a obniża się zawartość seskwiterpenoidów. U porażonych drzew zwraca uwagę wyjątkowo duża zawartość dwóch składników 3-karenu oraz α-terpineolu.

Wyniki badania olejków sosny, rosnącej w bardzo różnych warunkach, przedstawiono w tabeli 4. Generalnie można stwierdzić, że w igliwiu sosny zaatakowanej przez grzyby spada zawartość seskwiterpenów oraz znacznie maleje zawartość monoterpenoidów, wzrasta natomiast ilość monoterpenów.

Zakończenie

Wstępnie przeprowadzone badania wykazały, że skład olejków eterycznych pochodzących z drzew zdrowych, porażonych przez owady lub choroby wywołane przez grzyby, jest różny. Reakcja na porażenie jest, prawdopodobnie, specyficzna dla różnych gatunków rodziny *Pinaceae*. W przypadku świerka porażenie powoduje obniżenie zawartości monoterpenów, natomiast u sosny i modrzewia względny udział tych substancji wzrasta. Dla gatunków *Pinus* i *Larix* różnice widoczne są również w mniejszej produkcji monoterpenoidów.

Podstawą monitoringu ekosystemów leśnych są zmiany morfologiczne. Jednakże zmiany morfologiczne najpierw poprzedzone są zmianami metabolizmu, a więc m.in. zmianą składu olejków eterycznych. Stąd niektóre związki mogłyby pełnić rolę biochemicznych

indykatorów kondycji roślin drzewiastych, a łatwa do przeprowadzenia analiza olejków eterycznych może być dobrym instrumentem ekologicznego monitoringu.

Literatura

1. **Agafonova T.A., Massel G.I.:** Nasekomye-ksilofagi sosny, povrezh-dennoy smolyanym rakom w Pribaikalie. W: Lesopatologicheskije issledovaniya v Pribaikalie. 1989 Irkuck, s. 109-118.
2. **Fedorov N.I.:** Lesnaya fitopatologia. Minsk, 1992.
3. **Głowacki S.:** Zawartość olejków eterycznych w igliwiu drzew leśnych. Sylwan, 1994 Nr. 1, s. 27-42.
4. Guderian R., ed.: Air Pollution by Photochemical Oxidants. Formation, Transport, Control, and Effects on Plants. Ecological Studies, v. 52, 1985, Springer Verlag, Berlin.
5. **Isidorov V., Pirożnikow E., Jaroszyńska J., Jakubczak J., Sacharewicz T.:** Wstępne badania składu oraz sezonowych zmian olejków eterycznych drzew iglastych rosnących w Polsce. Sylwan, 1996 Nr. 7, s. 93-101.
6. **Isidorov V., Dubis E., Zenkevich I., Słowikowski A., Wojciuk E.:** J.Chromatogr. A, 1998 814, s. 253-260.
7. **Smith W.H.:** Air Pollution and Forest. Interaction between Air Contaminants and Forest Ecosystems. Springer Verlag, New York 1981.
8. **Sokolova E.S., Semenkova I.G.:** Lesnaya fitopatologia. Moskva 1981.
9. **Voronzov A.I.:** Patologia lesa. Moskva 1978

Summary

Certain diseases of coniferous trees and essential oil compositions

The results of the investigation of the essential oils extracted from needles of spruce *Picea abies* Karst. Pine *Pinus sylvestris* L. and larch *Larix europeae* L. are reported. The composition of the essential oils from healthy and infected by fungi (or insects) trees has been compared.

It has been determined that infected by insects spruce and larch trees produce large quantities of monoterpenoids and small quantities of monoterpenes, comparing to non-infected trees (Tab. 1, 2, 3). On the contrary, in case of fungi infected pine, contents of sesquiterpenoids has been decreased by half comparing to healthy trees. Composition of the essential oils isolated from samples of pine is shown in Table 4.

The results of the research indicate, that composition of the essential oils can be important indicator in ecological monitoring of condition of forests.