

MARTA AJCHLER, MAŁGORZATA ŁOBOCKA, TOMASZ OSZAKO

Patogenne lęgniowce z rodzaju *Phytophthora* – nowe zagrożenie lasów w Europie

Pathogenic oomycetes of *Phytophthora* genus – a new threat to forests in Europe

ABSTRACT

Ajchler M., Łobocka M., Oszako T. 2017. Patogenne lęgniowce z rodzaju *Phytophthora* – nowe zagrożenie lasów w Europie. Sylwan 161 (10): 870-880.

Pathogenic oomycetes represented mainly by the species of *Phytophthora* genus are among the most dangerous plant pathogens. They pose a serious threat for agricultural as well as wild plants, and are involved in forest decline worldwide. Over 140 pathogenic *Phytophthora* species have been identified so far. The common infection symptoms include rotting of below- and above-ground parts of plants, causing weakness and slow decline of infected trees. The economic losses caused by certain *Phytophthora* species may reach even 100%. Globalization and border opening have facilitated the transport of plant material between countries and continents, thus increased the risk of transfer of various *Phytophthora* genus representatives to new geographical locations. Global warming (e.g. mild winters) have facilitated the expansion of species from southern to northern Europe. Among Polish *Phytophthora* isolates are species that have previously been known only in nurseries (e.g. *P. cactorum*), but nowadays they are also isolated from forests (e.g. oak stand in the Krotoszyn Plateau). It suggests the pathway from nurseries to stands with plant for plantings and attached soil. There are also new species, that have not been isolated so far in the world (*P. polonica*) or found far away from Poland (*P. fragariaefolia* in Japan on strawberry). The possible natural pathways are birds and water courses. In Mazowsze and Wielkopolska regions (C and W Poland) the polyphagous *P. cinnamomi* was found on pedunculate oaks (*Quercus robur*). This species causes significant damage to red oak forest in France, but also threatens Jarrah forests in the Australian ecosystem (it attacks ca. 1000 species of plants). Fortunately, in addition to time consuming and laborious classic methods of *Phytophthora* identification, based on morphology and physiological properties, molecular methods that are based on immunological tests and chromosomal or mitochondrial DNA markers identification have come into common use. Despite morphological similarity to true fungi, oomycetes are more closely related to diatoms and brown algae, and have several structural features that differentiate them from fungi, including the cell wall composed of cellulose instead of chitin. That is one of the reasons that fungicides have a limited use in the fight with *Phytophthora* infections. Additionally, type of ecological niches that are settled by pathogenic oomycetes (root remnants in soil, watercourses) hinders the chemical combating. Biocontrol, i.e. the use of interspecies interactions between microorganisms (bacteria, fungi) to limit the growth and development of pathogens, seems to be a reasonable alternative.

KEY WORDS

oomycetes, *Phytophthora*, molecular typing, plant pathogens, biocontrol

ADDRESSES

Marta Ajchler ⁽¹⁾ – e-mail: marta.ajchler@gmail.com
 Małgorzata Łobocka ^(1, 2) – e-mail: malgorzata_lobocka@sggw.pl
 Tomasz Oszako ⁽³⁾ – e-mail: T.Oszako@ibles.waw.pl

⁽¹⁾ Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Zakład Biochemii Drobnoustrojów, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk; ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa

⁽³⁾ Zakład Ochrony Lasu, Instytut Badawczy Leśnictwa; Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

Wstęp

Ekosystemy wodne oraz lądowo-wodne zasiedlane są między innymi przez łęgniowce – *Oomycetes*. Organizmy te początkowo utożsamiane były z grzybami, jednak badania genetyczne potwierdziły pokrewieństwo łęgniowców z glonami takimi jak brunatnice i złotowiciowce oraz wykazały znaczne różnice pomiędzy nimi a grzybami właściwymi, m.in. na poziomie molekularnym [Dick 1982; Beakes 1987; Erwin, Ribeiro 1996]. We współczesnym systemie taksonomicznym łęgniowce zaklasyfikowane są do królestwa *Chromista* [Blackwell 2009; Cavalier-Smith 2010]. W obrębie gromady łęgniowców wyróżnia się rząd *Peronosporales*, do którego należy m.in. rodzaj *Phytophthora*. Gatunki należące do tego rodzaju są czynnikiem etiologicznym chorób wielu gatunków roślin [Erwin, Ribeiro 1996].

Epidemiologia i czynniki sprzyjające rozwojowi patogenów

Patogeny z rodzaju *Phytophthora* stanowią poważne zagrożenie dla wielu lasotwórczych gatunków drzew, przy czym liczba potencjalnych roślin-gospodarzy niepokojąco wzrasta. W Australii patogen *Phytophthora cinnamomi* od 1970 roku występuje już na obszarze 282 tys. ha lasów eukaliptusowych i zasięg choroby, którą powoduje, co roku zwiększa się o 20 tys. ha [Erwin, Ribeiro 1996]. Patogen *Phytophthora lateralis* pojawił się w lasach stanu Oregon w ubiegłym wieku, przyczyniając się do zamierania cyprysów Lawsons, przez co ich dostępność dla przemysłu w tym regionie znacznie się zmniejszyła [Hansen i in. 2000]. Natomiast patogen *Phytophthora ramorum* od 1995 roku jest sprawcą nagłego zamierania dębów (Sudden Oak Death – SOD) w Kalifornii i Oregonie. Straty liczy się w setkach tysięcy drzew [Goheen i in. 2002]. Gatunek ten został zaliczony do 10 najgroźniejszych patogenów roślin wśród łęgniowców [Kamoun i in. 2015]. W Polsce obserwuje się ekspansję gatunków znanych już fitopatologom, ale stwierdza się też całkiem nowe, jak *Phytophthora polonica*, zidentyfikowana w 2006 roku nad rzeką Ner w Nadleśnictwie Koło [Belbahri i in. 2006].

Większość gatunków *Phytophthora* atakuje tylko zdrowe tkanki roślinne bądź świeżo zranione rośliny. Początkowo infekcja przebiega bezobjawowo. Stan utajenia może trwać od kilku miesięcy do nawet kilku lat przed pojawieniem się symptomów choroby [Erwin, Ribeiro 1996]. Aby mogło dojść do zakażenia, zarodniki muszą wykiełkować w warunkach wysokiej wilgotności, następnie w zarodniach wytwarzane są zarodniki pływkowe – zoospory. Reagują one na atraktanty, którymi są specyficzne wydzieliny korzeni roślin-żywicieli. Zoospory osiadają na korzeniach, wciągają wici i otorbijają się, tworząc tzw. cysty. W następstwie ich kiełkowania dochodzi do infekcji, co skutkuje penetracją tkanek korzeniowych i ich zamieraniem. W rezultacie korzenie mateczne są ogółacane z drobnych korzeni, po których zostają charakterystyczne zakończenia (wielkości główki od szpilki).

Woda przenosi inokulum patogenów z rodzaju *Phytophthora* w szkółkach leśnych [Hong, Mormann 2005]. W zbiornikach wody do podlewania roślin gromadzą się fitopatogeny w efekcie zakażeń wtórnych (przez ptaki czy spływ zakażonej wody z powierzchni szkółki). Ponadto mogą się one poprzez naturalny system cieków wodnych rozprzestrzeniać daleko poza region pierwotnego wystąpienia [Orlikowski i in. 2008, 2013]. Woda pobierana bezpośrednio z rzek i jezior stanowi główne źródło przenoszenia fitopatogenów do szkółek, a później wraz z sadzonkami na uprawy i do drzewostanów leśnych. W Polsce około $\frac{1}{5}$ szkółek leśnych korzysta z powierzchniowych źródeł wody do podlewania sadzonek. Nadmiar wody w glebie i jej mała przepuszczalność czy obciążenie związkami zawierającymi azot są czynnikami zwiększającymi ryzyko wystąpienia fytoftoroz roślin [Erwin, Ribeiro 1996].

Objawy fytoftorazy

Na porażonych przez lęgniowce roślinach w szkółkach obserwuje się wiele różnych symptomów chorobowych, w zależności od wieku i gatunku drzewa. Najważniejsze zmiany patologiczne u siewek to zgnilizna korzeni, brunatnienie i zgnilizna podstawy pnia, a u starszych drzew nekrozy tkanek pni, wysięki soków ponad szyją korzeniową oraz plamistości i nekrozy liści. Penetracja tkanek korzeniowych przez patogen powoduje zgniliznę drobnych, młodych korzeni (0-2 mm), które porażone odpadają, a rośliny tracą możliwość wchłaniania wody z gleby [Erwin, Ribeiro 1996]. Powstałe na korzeniach matecznych blizny po odpadnięciu drobnych korzeni (potem rakowate zmiany) są atrakcyjnym miejscem zasiedlenia dla innych mikroorganizmów, np. ryzomorfi opieńki. Jednocześnie martwe szczątki roślinne pozostają w glebie przez wiele lat, będąc potencjalnym źródłem infekcji. Infekcja przemieszcza się od korzenia w górę rośliny, powodując gnicie tkanek szyi korzeniowej tuż ponad poziomem gleby [Drenth, Sendall 2001] oraz tzw. zgorzel siewek, w wyniku której rośliny przewracają się i zamierają. U gatunków mających cienką korę (buk czy olsza) często dochodzi w drzewostanach do charakterystycznych zmian na korze, która wygląda, jakby została pochłapana tuszem – podobnie jak w chorobie atramentowej kasztana jadalnego *Castanea sativa* (ang. ink disease) wywołanej przez *Phytophthora cambivora*. Na pniach pod korą tworzą się rozległe martwice tkanek, kora drzew ulega spękaniu, a ze szczelin wydobywają się soki (zasiedlające je bakterie i grzyby nadają im charakterystyczny zapach) [Sierota, Szczepkowski 2014]. Gatunki patogenów atakujące pędy, jak np. *P. ramorum*, powodują zmiany patologiczne w postaci widocznych plam na liściach, prowadząc nawet do całkowitej defoliacji drzew.

Metody identyfikacji

Klasyczna metoda wstępnej identyfikacji gatunków z rodzaju *Phytophthora* bazuje na ocenie ich cech morfologicznych, zdolności do wytwarzania form przetrwalnikowych (chlamydospor), a także charakterystyce wzrostu na pożywkach przy określonej temperaturze kardynalnej (kryterium fizjologiczne) [Waterhouse 1963]. Zazwyczaj optymalna temperatura wzrostu oscyluje około 20°C, z wyjątkiem gatunku *P. polonica*, który najlepiej rośnie w 27°C. Jest to zatem gatunek przygotowany do globalnego ocieplenia klimatu i w zmieniających się warunkach środowiska będzie wygrywał konkurencję z innymi organizmami, dla których temperatura optymalna wynosi np. tylko 19°C. Rozwój technik biologii molekularnej umożliwił pewniejszą i szybszą identyfikację przedstawicieli poszczególnych grup zarówno w tkankach porażonych roślin, jak również w wodzie i glebie. Metodą, która przechodzi do historii, jest identyfikacja za pomocą markerów białkowych [Nwaga i in. 1990]. Rozdzielone elektroforetycznie w żelu poliakrylamidowym i wybarwione białka enzymatyczne porównywane są do białek enzymatycznych znanego patogenu, widocznych w postaci wybarwionych prążków o charakterystycznym rozmieszczeniu na żelu po rozdziale.

W celu identyfikacji najczęściej wykorzystuje się izomerazy glukozofosforanowe, enzymy z klasy oksydoreduktaz czy transferazy.

Sposobem na szybkie wykrycie infekcji *Phytophthora* w próbkach materiału roślinnego są techniki immunoenzymatyczne, jak ELISA, czyli interakcja wysoce specyficznych przeciwciał z antygenami patogenu [MacDonald i in. 1990; Pettitt i in. 2002; Kox i in. 2007; Avila i in. 2010]. Testy działające w oparciu o te techniki dostępne są jako płytkowe zestawy ELISA do detekcji patogenów, np. z rodzaju *Phytophthora*. Wykorzystują przeciwciała poliklonalne przeciwko rodzajowo specyficznemu antygenowi dla rodzaju *Phytophthora* (ELISA Reagent Set for Phytophthora (Phyt), produkowane przez firmę Agdia). Pozwalają one na identyfikację patogenu tylko do rodzaju, za to umożliwiają szybką diagnostykę tkanek zakażonych przez gatunki *Phytophthora* w warunkach polowych. Identyfikacja opiera się na reakcji antygen-przeciwciała i w przypadku pozytywnego testu na płycie pojawiają się dwa paski. Pozwalają one na wykrycie zakażeń spowodowanych przez przedstawicieli ponad 53 gatunków *Phytophthora*. Płytkę zanurza się w tkance roślinnej rozartej i zawieszanej w buforze, a wynik można odczytać po 5-30 minutach, zależnie od stopnia zakażenia. Metody immunologicznej detekcji *Phytophthora* traktowane są jako wstępne metody przesiewowe w celu zmniejszenia liczby próbek wymagających oznaczenia gatunku. Identyfikację, zarówno do rodzaju, jak i do gatunku, umożliwiają metody analizy DNA, bazujące głównie na wykorzystywaniu reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Jako standardowe markery w ustaleniu przynależności gatunkowej oraz analizie filogenetycznej lęgniowców stosuje się chromosomalne regiony ITS kodujące zmienne fragmenty transkryptów pomiędzy genami dla rybosomalnego RNA oraz loci mitochondrialnego DNA: geny *cox2*, *nad9*, *rps10* i *secY* [Martin i in. 2014; Choi i in. 2015]. Wszystkie te geny lub rejony DNA znajdują się pomiędzy fragmentami o zakonserwowanej sekwencji, dla których zaprojektowano uniwersalne startery [Tooley i in. 2006; Nowakowska i in. 2016a, b]. Różnicowania do poziomu gatunku można dokonać w oparciu o analizę sekwencji DNA powielonych fragmentów ITS lub też w oparciu o ich wzory trawień enzymami restrykcyjnymi, tzw. RFLP [Drenth i in. 2006]. W różnicowaniu do gatunku, jak i wewnątrzgatunkowym dobrze sprawdza się również zmienny rejon pomiędzy genami mitochondrialnymi *cox1* i *cox2* [Martin, Tooley 2004]. Zwiększenie czułości reakcji osiągane jest dzięki wykorzystaniu reakcji PCR w czasie rzeczywistym (ang. Real-Time PCR), w której mierzona jest fluorescencja produktu amplifikacji, najczęściej dzięki inkorporacji fluorescencyjnego barwnika (zwykle SYBR Green) pomiędzy zasadami w dwuniciowym DNA [Nowakowska i in. 2016a, b]. Opracowano też metodę detekcji patogenów rodzaju *Phytophthora* oraz ich identyfikacji do gatunku z wykorzystaniem Real-Time PCR i takich zakonserwowanych rejonów hybrydyzacji ze starterami, które są nieobecne lub zbyt oddalone od siebie u spokrewnionych lęgniowców z rodzaju *Phytophthora*, *Pythium* oraz u roślin [Bilodeau i in. 2014]. Uniemożliwia to powstawanie produktu reakcji z matrycowym DNA, innym niż DNA gatunków *Phytophthora*. Co więcej, wybrane startery pozwalają na amplifikację rejonu genomu mitochondrialnego pomiędzy genami *atp9* i *nad9*, które są gatunkowo specyficzne dla przynajmniej 70 znanych przedstawicieli rodzaju *Phytophthora*, a 14 różnych sond TaqMan komplementarnych do zróżnicowanych rejonów zapewnia powstanie produktu tylko wtedy, gdy DNA należy do gatunków wybranej grupy.

W szybkiej detekcji przedstawicieli poszczególnych gatunków *Phytophthora* może także pomóc test z wykorzystaniem mikromacierzy DNA opracowany w 2012 roku na bazie rejonu ITS-1 chromosomu obecnego u 88 gatunków *Phytophthora* [Sikora i in. 2012].

Aby określić podobieństwa (i różnice) w sekwencji DNA pomiędzy poszczególnymi gatunkami *Phytophthora* lub izolatami tego samego gatunku, generuje się markery molekularne. Ich źródłem są powielone fragmenty DNA (w reakcji PCR) za pomocą różnych technik: RAPD – poli-

morfizm losowo powielonych fragmentów DNA poprzez zastosowanie niespecyficznych, arbitralnie dobranych starterów, AFLP – polimorfizm długości powielonych fragmentów DNA oraz ISSR – amplifikacja fragmentów DNA położonych pomiędzy dwoma mikrosatelitarnymi regionami usytuowanymi przeciwległe względem siebie [Wiejacha i in. 2004; Rytönen 2011]. Powielone fragmenty mogą służyć jako markery, a różnice we wzorze rozmieszczenia powielonych tymi technikami fragmentów po rozdziale elektroforetycznym w żelu są doskonałym wskaźnikiem zróżnicowania sekwencji całego genomu pomiędzy badanymi w ten sposób izolatami. Alternatywnie można w identyfikacji izolatów *Phytophthora* do gatunku zastosować tzw. metodę SSCP, wykorzystującą gatunkowo specyficzne różnice we wzorze migracji w żelu poliakrylamidowym powielonego metodą PCR i zdenaturowanego do form jednoniciowych rejonu ITS-1 genomowego DNA [Gallegly, Hong 2008].

Postępy w identyfikacji gatunków *Phytophthora* na przełomie ostatnich 25 lat są ogromne. Erwin i Ribeiro [1996] informowali, że na świecie występują 64 gatunki *Phytophthora*. Dane z ostatnich lat potwierdzają występowanie już ponad 140 gatunków [Abad 2014]. Najbardziej znaczącymi patogenami dla leśnictwa pojawiającymi się w Europie Środkowej są *Phytophthora alni*, *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. quercina*, *P. plurivora* i *P. ramorum*.

Najważniejsze gatunki *Phytophthora* występujące w Polsce

P. ALNI. W latach 90. XX wieku odnotowano w Europie nową chorobę dotyczącą drzewostany olszowe. W 1993 roku po raz pierwszy w Europie stwierdzono masowe zamieranie olszy w Wielkiej Brytanii [Brasier i in. 1995]. W kolejnych latach choroba zajmowała nowe tereny, aż swym zasięgiem objęła prawie cały kontynent, co wskazuje na niezwykle szybkie rozprzestrzenianie się tego patogenu [Brasier i in. 2004]. Czynnikiem etiologicznym zamierania leśnych i parkowych drzewostanów olszowych, a także przydrożnych i przybrzeżnych zadrzewień jest gatunek *P. alni*. W obrębie tego gatunku wyróżniono kilka podgatunków, w zależności od liczby chromosomów, która wynosi 11-22, a także na podstawie różnic morfologicznych i charakteru wzrostu kolonii na pożywkach: typ standardowy (*P. alni* subsp. *alni*), charakteryzujący się największą patogennością względem olszy, typ szwedzki (*P. alni* subsp. *uniformis*) oraz typ brytyjski, holenderski i niemiecki (*P. alni* subsp. *multiformis*) [Oszako 2010]. Objawy chorobowe występują na wszystkich etapach rozwojowych roślin. Fytoftoroza siewek objawia się zgnilizną i zamieraniem tkanek, na porażonych kilkuletnich drzewach obserwuje się zgniliznę podstawy pni oraz czerwono-brunatne, nekrotyczne plamy na korze. Można je odróżnić z daleka od zdrowych drzew po ażurowych koronach ze zdrowiałymi, żółknącymi liśćmi, które stopniowo opadają, następnie w konarach pojawiają się martwe gałęzie, a w miejscu rdzawych wysięków zamiera i odpada kora [Orlikowski, Oszako 2009].

P. CACTORUM. Gatunek jest spotykany prawie na całym świecie, najczęściej w umiarkowanej strefie klimatycznej. Jest patogenem niespecyficznym, pasożytuje na roślinach ponad 200 gatunków. Do jego gospodarzy zalicza się różne gatunki drzew, m.in. olsze, brzozy, buki, dęby, klony, modrzewie, sosny, świerki i wiązy. Do zakażeń dochodzi przede wszystkim w dużych szkółkach hodujących wiele gatunków roślin oraz po podlewaniu sadzonek zakażoną wodą ze źródeł powierzchniowych. W zależności od gatunku rośliny żywicielskiej obserwuje się zróżnicowane symptomy chorobowe. Generalnie fytoftoroza siewek objawia się zbrunatnieniem ich korzonków, całego pędu, a w przypadku kilkumiesięcznych siewek drzew (brzoza, dąb) również żółknięciem i brązowieniem liści (lub igieł w przypadku drzew iglastych). Testy patogenności wykonane na siewkach sosny zwyczajnej wskazały gatunek *P. cactorum* jako najbardziej agresywny patogen

spośród badanych gatunków [Tkaczyk i in. 2016]. Kilkunasto- i kilkudziesięcioletnie drzewa często miały zredukowane korony i zamierające gałęzie oraz nekrozy pni z wysiękami soków [Orlikowski, Oszako 2009].

P. CAMBIVORA. Gatunek ten opisany został po raz pierwszy w 1917 roku przez Petriego jako czynnik wywołujący chorobę atramentową kasztana jadalnego [Vannini, Vettrains 2001]. Powoduje on fytoftorozę u ponad 30 gatunków roślin [Erwin, Ribeiro 1996]. Oprócz kasztana jadalnego zagrożone są przede wszystkim gatunki drzew o twardym drewnie, m.in. buki, orzechy, wiśnie, śliwy i dęby [Černý i in. 2008]. W Polsce gatunek ten wyizolowano z klonu pensylwańskiego, jodły, olszy, jabłoni, cyprysika Lawsona i irgi poziomej [Orlikowski, Oszako 2005a]. Gatunek *P. cambivora* jest najbardziej agresywny w stosunku do młodych roślin. Objawami chorobowymi są zbrunatnienie i zgnilizna korzeni, żółknięcie i zamieranie siewek oraz brunatne nekrozy na najniższych liściach. Niekiedy obserwuje się również zgniliznę podstawy pędu. Na starszych drzewach pojawiają się brunatne plamy, pod którymi zamierają tkanki pni, a liście żółkną, tracą turgor i zwisają na gałęziach. Obserwuje się też skarłowacenie drzew i zamieranie konarów [Orlikowski, Oszako 2009].

P. CINNAMOMI. Gatunek ten stanowi potencjalny czynnik chorobotwórczy dla około tysiąca gatunków roślin na całym świecie [Orlikowski, Szkuta 2002]. Powodowana przez niego fytoftorozę znajduje się na liście kluczowych chorób niosących poważne zagrożenie dla zdrowia i kondycji wielu gatunków roślin wymienianych w ustawie o ochronie środowiska i bioróżnorodności z 1999 roku uchwalonej przez rząd australijski. Do roślin będących jednocześnie gospodarzami patogenu *P. cinnamomi* należą między innymi: ananas jadalny, cynamonowiec, eukaliptus, migdałowiec, śliwa, brzoskwinia, wiśnia oraz gatunki roślin ozdobnych, w szczególności różaneczniki [Erwin, Ribeiro 1996; Chavarriaga i in. 2007]. Patogeny *P. cinnamomi* i *P. cambivora* są uważane za sprawców choroby atramentowej kasztana jadalnego *C. sativa* [Crandall 1938 za Hayden i in. 2013]. Według Brasiera i Scotta [1994] szanse na ekspansję gatunku *P. cinnamomi* z południa na teren środkowej Europy są znikome ze względu na panujące mroźne zimy, bowiem patogen nie toleruje temperatury gleby poniżej 5°C. Jednak w drugiej połowie XX wieku wykryto tego lęgniowca we francuskich i holenderskich szkółkach roślin ozdobnych. W latach 2002-2004 stwierdzono go w składzie mikroorganizmów w glebie szkółek leśnych oraz w drzewostanach dębu szypułkowego w okolicach Warszawy [Orlikowski, Oszako 2005b]. Po upływie dekady był dominującym gatunkiem mikroflory porażonych korzeni i podstawy pędów borówki wysokiej [Orlikowski i in. 2015]. Symptomami chorobowymi w przypadku fytoftorozy są: utrata przyrostów, żółknięcie i/lub czerwienienie liści, ich drobnienie, natomiast u podstawy pni widoczne martwice tkanek. U dębów czerwonych powstające rakowate zmiany w szyjach korzeniowych prowadzą do poważnych deformacji pni [Marçais i in. 2007].

P. CITROPHTHORA. Gatunek ten jest patogenem niespecyficznym. Pasożytuje m.in. na cytrusach, kakaowcu, drzewach i krzewach owocowych oraz roślinach ozdobnych z rodziny *Rosaceae* [Erwin, Ribeiro 1996]. W szkółkach i drzewostanach leśnych jest sprawcą zamierania świerków. Wywołana przez niego fytoftorozę objawia się brązowieniem i martwicą korzeni i pni oraz przebarwieniem igieł. Pędy szczytowe świerków obumierają, a postępująca zgnilizna korzeni uniemożliwia efektywne zakotwiczenie drzew w glebie, w wyniku czego porażone przez patogen świerki przewracają się [Oszako, Orlikowski 2004].

P. QUERCINA. Gatunek ten jest patogenem specyficznym, związanym z uszkodzeniami dębów na terenie Europy. Pierwsze dane dotyczące jego występowania na naszym kontynencie pochodzą z 1993 roku. Patogen zidentyfikowany został wówczas na terenie Włoch i środkowej Europy [Jung

i in. 1999]. Objawy zakażenia podobne są do tych powodowanych przez inne lęgniowce związane z dębami. W efekcie porażenia dochodzi do obumarcia 80-90% wszystkich drobnych korzeni (średnicy około 2 mm). U dębu burgundzkiego *Q. cerris* patogen uszkadza również szyje korzeniowe, stopniowo rozprzestrzeniając się na całym obwodzie pni, i powoduje odcięcie przepływu asymilatów do korzeni, które w konsekwencji giną. W koronach drzew liście żółkną i opadają, co skutkuje przerzedzeniem koron i zahamowaniem wzrostu drzew [Orlikowski, Oszako 2009].

P. PLURIVORA (DAWNIEJ *P. CITRICOLA*). Patogen ten jest jednym z najczęściej spotykanych w szkółkach i drzewostanach, zazwyczaj dębowych [Jankowiak i in. 2014; Schoebel i in. 2014] lub bukowych środkowej Europy [Jung i in. 2000]. Zamieranie dębów w wyniku fytoftorazy obserwuje się prawdopodobnie od niespełna 300 lat. W Polsce tego typu epizody zdarzały się na przestrzeni XX wieku. W drzewostanach dębowych Płyty Krotoszyńskiej uszkodzenia drobnych korzeni dochodzą nawet do 90%. W ryzosferze zamierających dębów obok wymienionego wcześniej wyspecjalizowanego gatunku *P. quercina* znajdowano często także patogen *P. plurivora* [Oszako 2007]. Symptomy chorobowe, jakie obserwuje się na porażonych roślinach, to nekrozy tkanek kory i kambium, zamieranie gałęzi i przerzedzenie koron drzew oraz pojawianie się pędów epikormicznych, tzw. wilków [Tarasiuk, Szczepkowski 2006]. Ryzyko zakażenia fytoftorazą spowodowaną przez gatunek *P. plurivora* występuje również u brzozy, buka, jesionu, jodły oraz modrzewia.

P. RAMORUM. W 2004 roku patogeniczność tego gatunku stwierdzono w stosunku do 68 roślin należących do 40 rodzajów. Patogen *P. ramorum* rozpoznano m.in. jako sprawcę nagłego zamierania dębów w Kalifornii i Oregonie, co przyniosło w USA ogromne straty dla gospodarki leśnej. W Ameryce atakuje on przede wszystkim dęby, buki i rośliny wrzosowate, chociaż na zakażenie podatne są także kalina, pieris japoński czy borówka brusznica. Służby kwarantannowe coraz częściej odnotowują występowanie tego lęgniowca na terenie Europy. W zachodniej części Wielkiej Brytanii wskutek porażenia pędów modrzewi japońskich zamierają miliony drzew na obszarze kilku tysięcy hektarów [Brasier, Webber 2010]. Do 2003 roku jego typy kojarzeniowe w rozmnażaniu płciowym (gatunek heterotaliczny) objęte były izolacją geograficzną: typ A1 stwierdzano tylko w Europie, natomiast typ A2 tylko na terenie Ameryki Północnej. Dziś odnotowuje się występowanie obu typów A1 i A2 na tych samych obszarach, co zwiększa ryzyko pojawienia się bardziej wirulentnych gatunkowych mieszańców (hybryd). W 2013 roku gatunek ten zamieszczono na liście alertowej międzynarodowej organizacji EPPO, zajmującej się organizmami kwarantannowymi. Patogen poraża zarówno system korzeniowy swoich gospodarzy, jak i doprowadza do zniszczenia aparatu asymilacyjnego, na skutek czego dochodzi do zamierania całych roślin [Orlikowski, Oszako 2009]. Podobnie jak w zarazie ziemniaka powodowanej przez *Phytophthora infestans*, zarodniki przenoszą się wraz z wiatrem i deszczem, a zarodnie tworzą się na pędach modrzewia, co utrudnia ochronę drzew przed infekcjami. Dużym ułatwieniem w dalszych badaniach nad patogenicznością i metodami zwalczania jest dostępność sekwencji genomu patogenu [Tyler i in. 2006; Mata Saez i in. 2015].

Chemiczne, biologiczne i fizyczne sposoby zwalczania gatunków *Phytophthora*

Z uwagi na poważne szkody, które wyrządzają przedstawiciele chorobotwórczych lęgniowców w leśnictwie, oraz ryzyko większych dalszych strat z tytułu ekspansji gatunków *Phytophthora* niezbędne jest podjęcie zintegrowanej ochrony roślin. Powszechnie stosowane są środki ochrony

roślin, m.in. z grupy karbaminianów, izoksazoli czy fenyloamidów. Zarejestrowane przez Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dla leśnictwa środkki (które posiadają ważne zezwolenie na dopuszczenie do obrotu i stosowania oraz są wymienione w rejestrze MRiRW) przeciwko lęgniowcom to: Planet 72 WP, Mildex 71,1 WG, Penncozeb 80 WP i Signum 33 WG [Rosa-Gruszecka 2016]. Ze względu na różnice pomiędzy grzybami i lęgniowcami oferowane współcześnie fungicydy nie zawsze wykazują wystarczającą skuteczność w ochronie roślin przed lęgniowcami z rodzaju *Phytophthora*. Poza tym istnieje ryzyko skażenia środowiska w przypadku ich częstego stosowania. Zwraca się również uwagę na ekologię gatunków chorobotwórczych lęgniowców, które znajdują się w glebie i na resztkach korzeni, a także w ciekach wodnych, co bardzo utrudnia zabiegi ochronne. Stosowanie nawozów fosforynowych (Actifos, Kalex) potencjalnie zwiększa szanse efektywnej ochrony roślin zagrożonych przez patogeniczne lęgniowcowe. Nawozy fosforynowe po ich dolistnym zaaplikowaniu chronią także drobne korzenie, najbardziej narażone na atak ze strony gatunków rodzaju *Phytophthora*, pobudzając układ odpornościowy roślin do walki z patogenami [Oszako i in. 2014].

Poszukiwane są także alternatywne metody ochrony przed gatunkami z rodzaju *Phytophthora*, np. ochrona biologiczna, która opiera się na interakcjach pomiędzy mikroorganizmami antagoniściwnymi w stosunku do patogenów. Amensalizm, konkurencja oraz nadpasożytnictwo [McSpadden Gardener, Fravel 2002], a także mechanizmy indukcji odpowiedzi obronnej roślin wobec organizmów szkodliwych [Salas-Marina i in. 2011] zwiększają szanse zapobiegania rozwojowi groźnych chorób roślin. Mikroorganizmy wykorzystywane do zwalczania patogenów roślin to wirusy, bakterie z grupy PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), promieniowce, bakterie mykofagiczne oraz grzyby. Najpowszechniej stosowane są bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, *Streptomyces* i *Bacillus* oraz grzyby z rodzaju *Trichoderma* i *Gliocladium* [Nelson 2004]. Czynniki mikrobiologiczne za sprawą wytwarzanych antybiotyków, enzymów i innych metabolitów wchodzi w interakcję ze strukturami wegetatywnymi i generatywnymi gatunków *Phytophthora*, powodując inhibicję wzrostu grzybni i uniemożliwiając rozmnażanie patogenu.

Coraz większą popularność zyskują piaskowe filtry powolnego oczyszczania (ang. Slow Sand Filters – SSF) stosowane w szkółkach do nawadniania kwater produkcyjnych. Woda z naturalnych ujęć zostaje dzięki takiej filtracji oczyszczona z zarodników patogenów z rodzaju *Phytophthora* i dzięki temu znacznie zmniejsza się ryzyko infekcji [Ufer i in. 2008; Lee, Oki 2013].

Udział międzynarodowych organizacji w ograniczaniu szkód z powodu fytoftorazy

Dzięki szybkiej wymianie informacji na temat patogenów z rodzaju *Phytophthora* możliwe jest dalsze rozwijanie badań leśnych oraz tworzenie sieci współpracy naukowej w tej dziedzinie. Budują ją organizacje finansowane przez Komisję Europejską COST oraz Międzynarodowa Unia Leśnych Organizacji Badawczych (IUFRO), zrzeszające naukowców z całego świata. Ustalają one programy horyzontalne i strategie postępowania w leśnictwie oraz dziedzinach pokrewnych, a także dbają o sprawny transfer wiedzy i informacji naukowych, organizując cykliczne konferencje i sympozja. Ostatnie spotkanie w ramach IUFRO dotyczące problemu ekspansji i szkód wyrządzanych przez przedstawicieli *Phytophthora* odbyło się w dniach 19-25 marca 2017 roku w Wietnamie.

Podziękowania

Autorzy dziękują za wsparcie Projektu Life+ HESOFF finansowanego ze środków Uni Europejskiej oraz Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.

Literatura

- Abad G. Z. 2014. The Taxonomy of *Phytophthora*: What is done and what is needed for the correct identification and diagnostics of species in the Genus. 7th International Union of Forest Research Organizations, IUFRO Working Party 7-02-09 Meeting, *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems, Esquel, Chubut, Patagonia, Argentina, November. 10-14.
- Avila F. J., Schoedel B., Abad Z. G., Coffey M. D., Blomquist C. 2010. ELISA and ImmunoStrip for detection of *Phytophthora ramorum*, *P. kernoviae* and other *Phytophthora* species. Proc. Sudden Oak Death Fourth Sci. Symp. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-229. U. S. Dep. Agric. For. Serv. Pac. Southwest Res. Stn. Albany, CA.
- Beakes G. W. 1987. Oomycete phylogeny: Ultrastructural perspectives. W: Rayner A. D. M., Brasier C. M., Moore D. [red.]. Evolutionary biology of the fungi. Cambridge University Press, Cambridge. 405-421.
- Belbahri L., Moralejo E., Calmin G., Oszako T., Garcia J. A., Descals E., Lefort F. 2006. *Phytophthora polonica*, a new species isolated from declining *Alnus glutinosa* stands in Poland. FEMS Microbiol. Lett. 261: 165-174.
- Belbahri L., Woodward S. 2007. *Phytophthora cinnamoni* and other fine root pathogens in north temperate pine forest. FEMS Microbiol. Lett. 276: 67-74.
- Benson D. M., 1991. Detection of *Phytophthora cinnamomi* in azalea with commercial serological assay kits. Plant Diseases 75: 478-482.
- Bilodeau G. J., Martin F. N., Coffey M. D., Blomquist C. L. 2014. Development of a multiplex assay for genus- and species-specific detection of *Phytophthora* based on differences in mitochondrial gene order. Phytopathology 104 (7): 733-48. DOI: 10.1094/PHYTO-09-13-0263-R.
- Blackwell W. H. 2009. *Chromista* revisited: A dilemma of overlapping putative kingdoms, and the attempted application of the botanical code of nomenclature. Phytologia 91 (2).
- Brasier C. M., Kirk S. A., Delcan J., Man In't Veld W. A. 2004. *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. Mycol. Res. 108 (10): 1172-1184.
- Brasier C. M., Moore D. 1987. Evolutionary Biology of the Fungi, Cambridge Univ. Press, Cambridge. 405-421.
- Brasier C. M., Rose G., Gibbs J. N. 1995. An unusual *Phytophthora* associated with widespread alder mortality in Britain. Plant Pathology 44 (6): 999-1007.
- Brasier C. M., Scott J. 1994. European oak declines and global warming: a theoretical assessment with special reference to the activity of *Phytophthora cinnamomi*. EPPO Bulletin 24: 221-232.
- Brasier C. M., Webber J. F. 2010. Sudden larch death. Nature 466 (7308): 824-825.
- Cavalier-Smith T. 2010. Kingdoms *Protozoa* and *Chromista* and the eozoan root of the eukaryotic tree. Biol. Lett. 6 (3): 342-345. DOI: 10.1098/rsbl.2009.0948.
- Černý K., Gregorová B., Strnadová V., Tomšovský M., Holub V., Gabrielová Š. 2008. *Phytophthora cambivora* causing ink disease of sweet chestnut recorded in the Czech Republic. Czech Mycol. 60: 265-274.
- Chavarrriaga D., Boddles W. J. A., Leifert C., Belbahri L., Woodward S. 2007. *Phytophthora cinnamoni* and other fine root pathogens in north temperate pine forest. FEMS Microbiol. Lett. 276: 67-74.
- Chavarrriaga D., Boddles W. J. A., Leifert C., Choi Y. J., Beakes G., Glockling S., Kruse J. 2015. Towards a universal barcode of oomycetes – a comparison of the *cox1* and *cox2* loci. Mol. Ecol. Resour. 15: 1275-1288.
- Choi Y. J., Beakes G., Glockling S., Kruse J., Nam B., Nigrelli L., Ploch S., Shin H.-D., Shivas R. G., Telle S., Voglmayr H., Thines M. 2015. Towards a universal barcode of oomycetes – a comparison of the *cox1* and *cox2* loci. Mol. Ecol. Resour. 15: 1275-1288.
- Dick M. W. 1982. *Oomycetes*. W: Parker S. B. [red.]. Synopsis and classification of living organisms. Vol. 1. McGraw-Hill Book Co., New York. 179-180.
- Drenth A., Sendall B. 2001. Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*. CRC-TPP, Brisbane. 5-37.
- Drenth A., Wagels G., Smith B., Sendall B., O'Dwyer C., Irvine G., Irwin J. A. G. 2006. Development of a DNA-based method for detection and identification of *Phytophthora* species. Australasian Plant Physiol. 35: 147-159.
- Erwin D. C., Ribeiro O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Gallegly M. E., Hong C. 2008. *Phytophthora*: Identifying species by morphology and DNA fingerprints. APS Press, St. Paul, MN.
- Goheen E. M., Hansen E. M., Kanaskie A., McWilliams M. G., Osterbauer N., Sutton W. 2002. Sudden Oak Death Caused by *Phytophthora ramorum* in Oregon. APS Plant Diseases 86 (4): 441.
- Hansen E. M., Goheen D. J., Jules E. S., Ullian B. 2000. Managing Port-Orford-Cedar and the Introduced Pathogen *Phytophthora lateralis*. APS Plant Diseases 84 (1): 4-14.
- Hayden K. J., Hardy G. E. St. J., Garbelotto M. 2013. Oomycete Diseases. W: Gonthier P., Nicolotti G. [red.]. Infectious Forest Diseases. CABI, Grugliasco. 518-545.
- Hong C. X., Mormann G. W. 2005. Plant Pathogens in Irrigation Water: Challenges and Opportunities. Crit. Rev. Plant. Sci. 24: 189-208.

- Jankowiak R., Stępniewska H., Bilański P., Koralik M. 2014. Occurrence of *Phytophthora plurivora* and other *Phytophthora* species in oak forests of southern Poland and their association with site conditions and the health status of trees. *Folia Microbiol.* 59: 531-542.
- Jung T., Blaschke H., Osswald W. 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathol.* 49: 706-718.
- Jung T., Cooke D. E. L., Blaschke H., Duncan J. M., Oswald W. 1999. *Phytophthora quercina* sp. nov., causing root rot of European oaks. *Mycol. Res.* 103: 785-798.
- Kamoun S., Furzer O., Jones J. D., Judelson H. S., Ali G. S., Dalio R. J., Roy S. G., Schena L., Zambounis A., Panabičres F., Cahill D., Ruocco M., Figueiredo A., Chen X. R., Hulvey J., Stam R., Lamour K., Gijzen M., Tyler B. M., Grünwald N. J., Mukhtar M., Tomé D. F., Tör M., Van Den Ackerveken G., McDowell J., Daayf F., Fry W. E., Lindqvist-Kreuzer H., Meijer H. J., Petre B., Ristaino J., Yoshida K., Birch P. R., Govers F. 2015. The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 16 (4): 413-34. DOI: 10.1111/mpp.12190.
- Kox L. F. F., van Brouwershaven I. R., van de Vossen B. T. L. H., van den Beld H. E., Bonants P. J. M., de Gruyter J. 2007. Diagnostic values and utility of immunological, morphological, and molecular methods for in planta detection of *Phytophthora ramorum*. *Phytopathology* 97: 1119-1129.
- Lee E., Oki L. 2013. Slow sand filters effectively reduce *Phytophthora* after a pathogen switch from *Fusarium* and a simulated pump failure. *Water Research* 47 (14).
- MacDonald J., Stites J., Kabashima J. 1990. Comparison of serological and culture plate methods for detecting species of *Phytophthora*, *Pythium*, and *Rhizoctonia* in ornamental plants. *Plant Dis.* 74: 655-659.
- Marçais B., Dupuis F., Desprez-Loustau M. L. 2007. Susceptibility of the *Quercus rubra* root system to *Phytophthora cinnamomi*; Comparison with chestnut and other oak species. DOI: 10.1111/j.1439-0329.1996.tb00718.x.
- Martin F. N., Blair J. E., Coffey M. D. 2014. A combined mitochondrial and nuclear multilocus phylogeny of the genus *Phytophthora*. *Fungal Genet. Biol.* 66: 19-32.
- Martin F. N., Tooley P. W. 2004. Identification of phytophthora isolates to species level using restriction fragment length polymorphism analysis of a polymerase chain reaction-amplified region of mitochondrial DNA. *Phytopathology* 94: 983-991.
- Mata Saez de L., McCracken A. R., Cooke L. R., O'Neill P., Grant M., Studholme D. J. 2015. Draft genome sequences of seven isolates of *Phytophthora ramorum* EU2 from Northern Ireland. *Genom. Data.* 2015 Sep 22;6:191-2. DOI: 10.1016/j.gdata.2015.09.009.
- McSpadden Gardener B. B., Fravel D. R. 2002. Biological Control of Plant Pathogens: Research, Commercialization, and Application in the USA. *Plant Health Progress*. DOI: 10.1094/PHP-2002-0510-01-RV.
- Nelson E. B. 2004. Biological Control of Oomycetes and Fungal Pathogens. W: Goodman R. M. [red.]. *Encyclopedia of Plant and Crop Science*. CRC Press. 137-140.
- Nowakowska J. A., Malewski T., Tereba A., Borys M., Oszako T. 2016a. Molekularna diagnostyka wybranych patogenów z rodzaju *Phytophthora* w ramach integrowanej ochrony roślin. *Sylwan* 160 (5): 365-370.
- Nowakowska J. A., Malewski T., Tereba A., Oszako T. 2016b. Rapid diagnosis of pathogenic *Phytophthora* species in soil by real-time PCR. *Forest Pathology* 47 (2): 1-4. DOI: 10.1111/efp.12303.
- Nwaga D., Le Normand M., Citharel J. 1990. Identification and differentiation of *Phytophthora* by electrophoresis of mycelial proteins and isoenzyme. *EPPO Bulletin* 20: 35-45.
- Orlikowski L. B., Oszako T. 2005a. *Phytophthora cambivora* on *Alnus glutinosa*: isolation and colonisation of plants. *J. Plant Protection Res.* 44: 267-272.
- Orlikowski L. B., Oszako T. 2005b. Pierwsze dane o występowaniu *Phytophthora cinnamomi* na dębie szypułkowym w Polsce. *Sylwan* 148 (10): 47-53.
- Orlikowski L. B., Oszako T. 2009. Atlas fytoftoroz siewek i drzew leśnych. W: Orlikowski L. B., Oszako T. [red.]. *Fytoftorazy w szkółkach i drzewostanach leśnych*. CILP, Warszawa. 29-67.
- Orlikowski L. B., Ptaszek M., Meszka B. 2015. *Phytophthora cinnamomi* – new pathogen of high blueberry in Poland. *Prog. Plant Prot.* 55 (4): 472-477.
- Orlikowski L. B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. 2008. Współzależność pomiędzy źródłem wody i porą roku a występowaniem *Phytophthora* spp. w środowisku. *Prog. Plant Prot.* 48 (1): 246-251.
- Orlikowski L. B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. 2013. Woda jako źródło zagrożenia roślin w środowisku przez *Phytophthora* spp. *Polish J. Agron.* 15: 8-13.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2002. Occurrence of *Phytophthora cinnamomion* ericaceous plants in container grown nurseries. *J. Plant Prot. Res.* 42 (2): 157-163.
- Oszako T. 2007. Przyczyny masowego zamierania drzewostanów dębowych. *Sylwan* 159 (6): 62-72.
- Oszako T. 2010. Nowe inwazyjne patogeny powodujące fytoftorazy drzew leśnych oraz możliwości ograniczenia ich rozwoju. *Postępy Techniki w Leśnictwie* 109: 38-44.
- Oszako T., Hilszczańska D., Nowakowska J., Sikora K., Szmidla H., Tkaczyk M., Zajęczkowski P., Malewski T., Okorski A., Pszczółkowska A., Olchowik J. 2014. Zintegrowana ochrona szkółek przed nowymi, inwazyjnymi patogenami w warunkach ograniczonego wyboru fungicydów. Dokumentacja Instytutu Badawczego Leśnictwa.

- Oszako T., Orlikowski L. B. 2004. The first noting of *Phytophthora citrophthora* on *Picea abies* in a forest stand. *Phytopathol. Pol.* 34: 81-85.
- Pettitt T. R., Wakeham A. J., Wainwright M. F., White J. G. 2002. Comparison of serological, culture, and bait methods for detection of *Pythium* and *Phytophthora* zoospores in water. *Plant Pathol.* 51: 720-727.
- Rosa-Gruszecka A. 2016. Fytoftorazy w szkółkach leśnych. W: Głowacka B. [red.]. Środki ochrony roślin, środki biobójcze oraz środki i produkty do rozkładu pni drzew leśnych zalecane do stosowania w leśnictwie w roku 2017. Instytut Badawczy Leśnictwa. Analizy i Raporty 27: 73-76.
- Rytkönen A. 2011. *Phytophthora* in Finnish nurseries. *Dissertationes Forestales* 137: 24-26.
- Salas-Marina M. A., Silva-Flores M. A., Uresti-Rivera E. E., Castro-Longoria E., Herrera-Estrella A., Casas-Flores S. 2011. Colonization of Arabidopsis roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *Eur. J. Plant Pathol.* 131: 15-26.
- Sambles C., Schlenzig A., O'Neill P., Grant M., Studholme D. J. 2015. Draft genome sequences of *Phytophthora kernoviae* and *Phytophthora ramorum* lineage EU2 from Scotland. *Genomics Data* 6: 193-194. DOI: 10.1016/j.gdata.2015.09.010.
- Schoebel C. N., Stewart J., Gruenwald N. J., Rigling D., Prospero S. 2014. Population History and Pathways of Spread of the Plant Pathogen *Phytophthora plurivora*. *PLOS ONE* 9 (1): 1-11.
- Sierota Z., Szezepkowski A. 2014. Rozpoznawanie chorób infekcyjnych drzew leśnych. CILP, Warszawa.
- Sikora K., Verstappen E., Mendes O., Schoen C., Ristaino J., Bonants P. 2012. A Universal Microarray Detection Method for Identification of Multiple *Phytophthora* spp. Using Padlock Probes. *APS* 102 (6): 635-645.
- Stamps D. J., Waterhouse G. M., Newhook F. J., Hall G. S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycol. Papers.* 162: 1-28.
- Tarasiuk S., Szezepkowski A. 2006. The health status of endangered oak stands in Poland. *Acta Sci. Pol. Silv. Calendar. Rat. Ind. Lignar.* 5 (1): 91-106.
- Tkaczyk M., Sikora K., Nowakowska J. A., Aniśko E., Oszako T., Belbahri L., Milenković I. 2016. Four different *Phytophthora* species that are able to infect Scots pine seedlings in laboratory conditions. *Folia Forestalia Polonica* 58 (3): 123-130.
- Toljamo A., Blande D., Kärenlampi S., Kokko H. 2016. Reprogramming of Strawberry (*Fragaria vesca*) Root Transcriptome in Response to *Phytophthora cactorum*. *PLOS ONE* 11 (8): 1-21.
- Tooley P. W., Martin F. N., Carras M. M., Frederick R. D. 2006. Real-time fluorescent polymerase chain reaction detection of *Phytophthora ramorum* and *Phytophthora pseudosyringae* using mitochondrial gene regions. *Phytopathology* 96 (4): 336-345.
- Tyler B. M., Tripathy S., Zhang X., Dehal P., Jiang R. H., Aerts A., Arredondo F. D., Baxter L., Bensasson D., Beynon J. L., Chapman J., Damasceno C. M., Dorrance A. E., Dou D., Dickerman A. W., Dubchak I. L., Garbelotto M., Gijzen M., Gordon S. G., Govers F., Grunwald N. J., Huang W., Ivors K. L., Jones R. W., Kamoun S., Kramps K., Lamour K. H., Lee M. K., McDonald W. H., Medina M., Meijer H. J., Nordberg E. K., Maclean D. J., Ospina-Giraldo M. D., Morris P. F., Phuntumart V., Putnam N. H., Rash S., Rose J. K., Sakihama Y., Salamov A. A., Savidor A., Scheuring C. F., Smith B. M., Sobral B. W., Terry A., Torto-Alalibo T. A., Win J., Xu Z., Zhang H., Grigoriev I. V., Rokhsar D. S., Boore J. L. 2006. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis. *Science* 313 (5791): 1261-1266.
- Ufer T., Werres S. K., Posner M., Wessels H.-P. 2008. Filtration to eliminate *Phytophthora* spp. from recirculating water systems in commercial nurseries. *Plant Health Progress*. DOI: 10.1094/PHP-2008-0314-01-RS.
- Vannini A., Vetraino A. M. 2001. Ink disease in chestnuts: impact on the European chestnut. *For. Snow Landsc. Res.* 76 (3): 345-350.
- Waterhouse G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora de Bary*. *Mycol. Papers.* 92: 1-22.
- Wiejacha K., Szruta G., Orlikowski L. B., Orlikowska T. 2004. *Phytophthora* – patogeny drzew i krzewów. Detekcja i identyfikacja. *Biotechnologia* 66: 55-67.