

TADEUSZ KOWALSKI

Chalara fraxinea – nowo opisany gatunek grzyba na zamierających jesionach w Polsce

Chalara fraxinea – new described fungus species on dying ash in Poland

ABSTRACT

Kowalski T. 2007. *Chalara fraxinea* – new described fungus species on dying ash in Poland. Sylwan 4: 44-48.

The paper provides the characteristics of the fungus *Chalara fraxinea* which may enable its identification. The disease symptoms on ashes regularly accompanied by this fungus were specified. Possible casual relationship between *Ch. fraxinea* and ash dieback is discussed in the paper.

KEY WORDS

Fraxinus excelsior, *Chalara fraxinea*, wilting, dieback

ADDRESSES

Tadeusz Kowalski – Katedra Fitopatologii Leśnej; Akademia Rolnicza;
Al. 29-listopada 46; 31-425 Kraków; e-mail: rltkowal@cyf-kr.edu.pl

Wstęp

Jesion wyniosły (*Fraxinus excelsior* L.) przez lata zaliczany był do gatunków drzew odpornych na choroby. Na ogół rzadko obserwowano takie nasilenie procesu chorobowego, które zagrażałoby całym drzewostanom lub egzystencji tego gatunku [Grzywacz 1995; Butin 1996; Mańka 2005]. Sytuacja w Polsce uległa zasadniczej zmianie w ostatniej dekadzie ubiegłego wieku, kiedy to zaczęto obserwować intensywne zamieranie jesionu, najpierw w części północno-wschodniej, a następnie we wszystkich rejonach kraju.

Chorują drzewa we wszystkich klasach wieku, niezależnie od zajmowanego siedliska i sposobu odnowienia. U chorych drzew powstają lokalne, z czasem rozszerzające się nekrozy na pędach głównych i gałęziach, co prowadzi do uwiędnięcia liści, zamierania szczytowych odcinków pędów, gałęzi lub całych drzew. Rozpoczęte zostały prace i analizy celem wyjaśnienia przyczyn tego zjawiska [Stocki, Stocka 1999; Szałkiewicz 1999; Przybył 2002; Kowalski, Łukomska 2005]. Autor, od początku badań tego procesu, stwierdzał szczególnie licznie w nekrotycznych tkankach pewien gatunek grzyba, który na podstawie cech morfologicznych zaklasyfikował do rodzaju *Chalara* [Kowalski 2001].

Dalsze badania taksonomiczne wykazały, że grzyb ten nie może być przyporządkowany do żadnego z dotychczas znanych gatunków [Nag Raj, Kendrick 1975; Holubová-Jechová 1984; Kowalski, Halmschlager 1996; McKenzie i in. 2002], w związku z czym został opisany jako nowy gatunek, o nazwie *Chalara fraxinea* T. Kowalski [Kowalski 2006 a].

W pracy przedstawiono jego cechy rozpoznawcze oraz zwrócono uwagę na możliwe związki z zamieraniem jesionów, a także perspektywy naukowego opracowania niepokojącego zjawiska.

Metodyka

Grzyb *Chalara fraxinea* izolowano z chorych i zamartwych tkanek jesionów zarówno na pożywkę agarowo-maltozową, jak i glukozowo-ziemniaczaną, przy czym rodzaj zastosowanej pożywki miał wpływ na makroskopowe cechy kolonii. Przed izolacją dokonywano szczegółowego opisu zewnętrznych i wewnętrznych objawów chorobowych. Dezynfekcji próbek pobranych z pędów lub innych organów dokonywano przez ich zanurzenie najpierw w 96% alkoholu etylowym (1 min), a następnie w 4% podchlorynie sodu (5 min) i w 96% alkoholu etylowym (0.5 min). Po ich osuszeniu w sterylnej bibule filtracyjnej i ścięciu wierzchniej warstwy kory, wycinano fragmenty o wymiarach 5 × 2 × 2 mm i wykładano na pożywkę zestaloną w płytkach Petriego. Wyrastające kolonie odszczepiano i inkubowano w temperaturze 20°C. Do potwierdzenia przynależności badanego gatunku grzyba do rodzaju *Chalara* i określenia jego pokrewieństwa do rodzaju *Ceratocystis*, przeprowadzono test polegający na hodowli kultur *in vitro* na pożywce z dodatkiem cykloheksimidu (0,1 g na litr pożywki), wykorzystując dla celów porównawczych kolonie *Ceratocystis polonica*, *Chalara ovoidea* i *Ophiostoma piceae*.

Objawy chorobowe

Grzyb *Chalara fraxinea* najczęściej stwierdzano na jesionach z objawami wędnięcia, które szczególnie uwidaczniają się w pierwszej połowie okresu wegetacyjnego (ryc. 1). Poza tym izolowano go bardzo często z lokalnych nekroz na żywych pędach głównych i bocznych. Nekrozy takie najczęściej powstają w rejonie odgałęzień bocznych oraz wokół pączków. Porażenie przez *Ch. fraxinea* wiąże się zwykle z jasno- lub ciemnobrunatnym przebarwieniem kory, nierzadko przybierającym postać nieregularnych smug. Nekrozom takim towarzyszy, zwłaszcza na grubszych pędach zapadanie tkanek, przez co zaznacza się wyraźnie granica między tkankami obumarłymi a żywymi [Kowalski 2006 b].

Charakterystyka grzyba

Grzybnia *Ch. fraxinea* osiąga po trzech tygodniach wzrostu na 2% pożywce agarowo-maltozowej w temperaturze 20°C od 9 do 28 mm średnicy. Rośnie więc stosunkowo wolno, stąd w trakcie prób izolacji z chorych tkanek nierzadko może być uprzedzona przez inne, szybko rosnące gatunki grzybów, np. z rodzaju *Alternaria*, *Epicoccum* lub *Phomopsis*. Tworzy kolonię welnistą, szarawobiałą, niekiedy z czarnymi, niewielkimi sklerotycznymi utworami. Wykazuje tendencję do wytwarzania sektorów o nieco odmiennej strukturze i barwie (ryc. 2). Na pożywce glukozowo-ziemniaczanej kolonia ma bardziej zwartą strukturę oraz przybiera barwę rdzawobrunatną. Wytwarza do pożywki substancje o charakterze antybiotycznym, co wiąże



Ryc. 1.

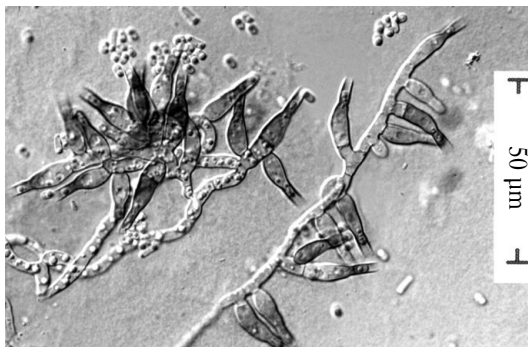
Jesion z objawami wędnięcia
An ash with wilting symptoms



Ryc. 2.

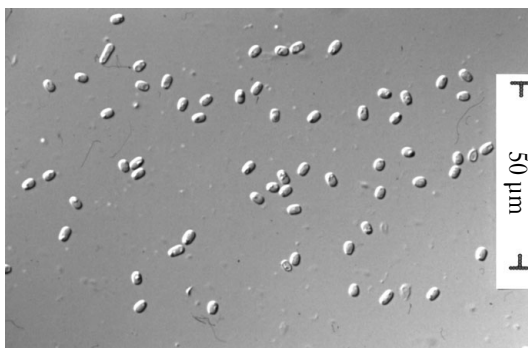
Kolonija *Ch. fraxinea* na pożywce agarowo-maltzowej (28 dni, 20°C)

A colony of *Ch. fraxinea* on malt extract agar (28 days, 20°C)



Ryc. 3.

Trzonki konidialne *Ch. fraxinea*
Phialophores of *Ch. fraxinea*



Ryc. 4.

Konidia *Ch. fraxinea*
Conidia of *Ch. fraxinea*

się często z wykształcaniem między jego kolonią a koloniami innych gatunków strefy inhibycyjnej o szerokości kilku milimetrów. Podobnie jak testowany *Ceratocystis polonica* i *Chalara ovoidea*, nie wykazuje wzrostu na pożywce z dodatkiem cykloheksimidu.

W grzybni powietrznej wytwarza charakterystyczne dla rodzaju *Chalara* trzonki konidialne (fialofory), często zredukowane do fialid. Są one 1- do 4-komórkowe, cylindryczne lub butelkowate, oliwkowo-brunatne, o długości 24-37 µm, w starszych koloniach dochodzące do 96 µm. Fialidy zakończone są cylindryczną kolaretą o długości 5-7 /9/ µm (ryc. 3).

Konidia wykształcają się endogenicznie, to znaczy wewnątrz fialid. Gromadzą się nad wylotem fialidy, tworząc kropelkowate skupienie, znacznie rzadziej układają się w łańcuszki (ryc. 3). Są one 1-komórkowe, bezbarwne, krótkocylindryczne, gładkościenne i osiągają wymiary 3,2-4,0 × 2,0-2,5 µm (ryc. 4). Jedyne te zarodniki, które tworzą się jako pierwsze w fialidach, osiągają nieco większe wymiary.

Dyskusja

Gdy ponad 10 lat temu obserwowano w Polsce pierwsze przypadki zamierania jesionu na szerszą skalę, można było odnieść wrażenie, że jest to wynik niekorzystnego wpływu czynników abiotycznych, zwłaszcza przymrozków w okresie wiosennym lub niedoboru wody i wysokiej temperatury latem. W takich przypadkach powinno jednak nastąpić po pewnym okresie zmniejszenie nasilenia procesu chorobowego i zamierania drzew tego gatunku. W rzeczywistości można było obserwować zjawisko odwrotne, proces chorobowy jesionów rozszerzał się, obejmując po kilku latach drzewostany w coraz to innych rejonach Polski. Rozprzestrzenianie się choroby jesionów trwa nadal. Wskazują na to ostatnie doniesienia z Litwy, Austrii oraz Szwecji [Bakys i in. 2005; Barklund 2005; Cech 2006].

Dotychczasowe badania i analizy wskazują, że zamieraniu ulega jesion w szkółkach i w drzewostanach w różnych

warunkach wzrostu, istnieje niekiedy tylko zróżnicowanie nasilenia tego zjawiska zależnie od siedliska, cech hodowlanych drzewostanu, czy sposobu odnowienia [Szwajkiewicz 1999; Matyjasik 2001; Przybył 2002; Kowalski 2001; Bielawska 2006]. Spośród czynników biotycznych wskazuje się na powodowanie nekrozy tkanek jesionów przez grzyby, spośród których dużą rolę przypisuje się *Diplodia mutila* [Przybył 2002]. Często na zamierających pędach stwierdza się obecność patogenów słabości z rodzaju *Phomopsis* i *Cytospora* [Przybył 2002; Kowalski, Łukomska 2005; Barklund 2006; Cech 2006]. Orlikowski i in. [2004] na jesionach w szkółkach stwierdzili *Phytophthora citricola*. Od strony poszukiwania biotycznych przyczyn zamierania jesionu ważne jest, zdaniem autora, wyizolowanie z chorych jesionów i zidentyfikowanie nowego gatunku grzyba, który opisano, nadając mu nazwę *Chalara fraxinea* [Kowalski 2006a]. Gatunek ten różni się od dotychczas poznanych w obrębie rodzaju *Chalara* pod względem wielu cech: wielkością i kształtem zarodników, wielkością fialid i kolaret, a także cechami morfologicznymi kolonii, włącznie z wytwarzaniem utworów sklerotycznych, co można obserwować zaledwie u kilku, spośród znanych około 120 gatunków z tego rodzaju. *Chalara fraxinea* tworzy konidia głównie w kropelkowatych skupieniach, tylko rzadko w łańcuszkach. Ta cecha najbardziej różni nowo opisany gatunek od typowych przedstawicieli rodzaju *Chalara*, dla którego charakterystyczną cechą jest wytwarzanie konidiów w łańcuszkach [Nag Raj, Kendrick 1975].

Rodzaj *Chalara* w obecnym ujęciu obejmuje heterogeniczną grupę grzybów, z czym wiąże się propozycja innego podziału taksonomicznego w obrębie tego rodzaju [Paulin-Mahady i in. 2002]. Stają się w tym bardzo pomocne badania genetyczne. I tak, w ostatnich latach wyodrębniono nowy rodzaj *Xenochalara* [Coetsee i in. 2000], a część gatunków z rodzaju *Chalara* wywarzających aleurokonidia przeniesiono do rodzaju *Thielaviopsis* [Paulin-Mahady i in. 2002].

Identyfikacja i taksonomiczne rozpracowanie licznie izolowanego z jesionów gatunku grzyba jest ważnym, ale dopiero wstępnym etapem w badaniach nad zjawiskiem dotyczącym zamierania jesionu. W związku z identyfikacją *Ch. fraxinea*, istnieją jednak przesłanki na wyjaśnienie przynajmniej części obserwowanych u jesionów symptomów chorobowych. Gatunek ten został przez autora wyizolowany z chorych jesionów z różnych rejonów Polski, co wskazuje, że jego występowanie nie jest tylko lokalne. Poza tym, należy on do gatunków najliczniej izolowanych z jesionów w początkowym stadium choroby, w którym jesiony wykazują objawy nekroz i nagłego wędnięcia. Wyklucza to raczej jego wtórną, saprotroficzną rolę. Przeprowadzony test, wskazujący na wrażliwość na cykloheksimid, czyni bardzo prawdopodobne stwierdzenie, że *Ch. fraxinea* jest stadium wegetatywnym (anamorfą) grzyba workowego z rodzaju *Ceratocystis* [Harrington 1981]. Wśród grzybów z rodzaju *Ceratocystis* i *Chalara* jest wiele gatunków, które powodują bardzo groźne choroby drzew leśnych, drzew owocowych i cennych roślin uprawnych [Nag Raj, Kendrick 1975; Holubová-Jechová 1984]. Na patogeniczne właściwości przynajmniej niektórych szczepów *Ch. fraxinea* zdają się wskazywać także wyniki wstępnych testów *in vivo* [Kowalski, niepubl.].

Konieczne jest przeprowadzenie wielu dalszych badań zarówno dotyczących samego grzyba, zasięgu jego występowania, rozmnażania w warunkach naturalnych, sposobów rozprzestrzeniania zarodników, infekcji, inkubacji oraz uwarunkowań przebiegu i nasilenia procesu chorobowego. Rozpoznanie te mogą dać dopiero pewne podstawy do rozważań nad możliwościami ochrony jesionów przed chorobą.

Literatura

- Bakys R., Vasiliauskas R., Barklund P., Ihrmark K., Stenlid J. 2005. Fungal attacks to root systems and crowns of declining *Fraxinus excelsior*. Proceed from the SNS meeting in Forest Pathology at Skogbrukets Kursinstitut, Biri Norway, 28-31. Aug. 2005, Aktuelt fraskogforskningen. 1/06: 71-72.

- Barklund P. 2005. Recent disease problems in Swedish forests. Proceed. from the SNS meeting in Forest Pathology at Skogbrukets Kursinstitut, Biri Norway, 28-31. Aug. 2005, Aktuelt fraskogforskningen. 1/06: 83.
- Bielawska K. 2006. Regres jesionu – spojrzeńie hodowlane. Głos Lasu 4:19-22.
- Butin H. 1996. Krankheiten der Wald- und Parkbaeume. Diagnose – Biologie – Bekaeempfung. G. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Cech L. T. 2006. Auffalende Schadfaktoren an Waldbaeumen im Jahr 2005. Forstschutz Aktuell 35: 6-7.
- Coetsee C., Wingfield M. J., Crous P. W., Wingfield B. D. 2000. *Xenochalara*, a new genus of dematiaceous hyphomycetes for chalara-like fungi with apical wall building conidial development. S. Afr. J. Bot. 66, 2: 99-103.
- Grzywaec A. 1995. Ważniejsze choroby infekcyjne. W: Jesion wyniosły *Fraxinus excelsior* L. Bugała W. [red.]. Wyd. Sorus, Poznań-Kórnik. 371-415.
- Harrington T. C. 1981. Cycloheximide sensitivity as a taxonomic character in Ceratocystis. Mycologia 73: 1123-1129.
- Holubová-Jechová V. 1984. Lignicolous hyphomycetes from Czechoslovakia. 7. *Chalara*, *Exochalara*, *Fusichalara* and *Dictyochaeta*. Folia Geobotanica et Phytotaxonomica 19: 387-438.
- Kowalski T. 2001. O zamieraniu jesionów. Trybuna Leśnika 4/359: 6-7.
- Kowalski T. 2006a. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. Forest Pathology 36: 264-270.
- Kowalski T. 2006b. Zamieranie jesionu – poszukiwanie przyczyn. Głos Lasu 12: 4-6.
- Kowalski T., Halmschlager E. 1996. *Chalara angustata* sp. nov. from roots of *Quercus petraea* and *Quercus robur*. Mycol. Res. 100, 9: 1112-1116.
- Kowalski T., Łukomska A. 2005. Badania nad zamieraniem jesionu (*Fraxinus excelsior* L.) w drzewostanach Nadleśnictwa Włoszczowa. Acta Agrobotanica 59, 2: 429-440.
- Matyjasik J. 2001. Zamieranie jesionu w Nadleśnictwie Jamy. Biuletyn RDLP w Toruniu Nr 2/15: 20-21.
- McKenzie E. H. C., Pinnoi A., Wong M. K. M., Hyde K. D., Jones E. B. G. 2002. Two new hyaline *Chalara* species and a key to species described since 1975. Fungal Diversity 11: 129-139.
- Nag Raj T. R., Kendrick B. 1975. A monograph of *Chalara* and Allied Genera. Dept. of Biology, University of Waterloo, Ontario, Canada.
- Orlikowski L. B., Oszako T., Duda B., Szkuta G. 2004. Występowanie *Phytophthora citricola* na jesionie wyniosłym (*Fraxinus excelsior*) w szkółkach leśnych. Leśn. Prace Bad. 4: 129-136.
- Paulin-Mahady A. E., Harrington T. C., McNew D. 2002. Phylogenetic and taxonomic evaluation of *Chalara*, *Chalaropsis*, and *Thielaviopsis* anamorphs associated with *Ceratocystis*. Mycologia 94, 1: 62-72.
- Przybył K. 2002. Fungi associated with necrotic apical parts of *Fraxinus excelsior* shoots. Forest Pathology 32: 387-394.
- Stocki J., Stocka T. 1999. Przyczyny zamierania drzew i drzewostanów jesionowych. Bibl. Leśn. Nr 118, Wyd. Świat, Warszawa.
- Szwałkiewicz J. 1999. Zamieranie drzew i drzewostanów jesionowych – przyczyny, skutki, prognoza. Postępy Tech. w Leśn. 69:24-30.

SUMMARY

Chalara fraxinea – new described fungus species on dying ash in Poland

The fungus of the genus *Chalara* has been frequently isolated by the author since 2000 when he started the research on ashes showing the symptoms of dieback. Most often the presence of the fungus was detected on ashes with the symptoms of wilting and in an area local necroses on live main and lateral shoots. In 2006, the author described the fungus as a new, previously unknown species named *Chalara fraxinea*.

The paper provides the major characteristics of the fungus which may enable its identification. The distinctive feature of the fungus are particularly small conidia and, unlike the majority of the *Chalara* species, they develop primarily in slimy droplets. A characteristic feature of a part of the colony is the development of sclerotic bodies. The author indicates the scope of the research necessary to confirm the role of the fungus in the process of ash dieback.