

LESZEK B. ORLIKOWSKI, MAGDALENA PTASZEK

Gatunki *Phytophthora* jako przyczyna zamierania żywotników (*Thuja* spp.) w polskich szkółkach kontenerowych*

Phytophthora species as the causal agents of thuja (*Thuja* spp.) decay in Polish hardy ornamental nursery stocks

ABSTRACT

Orlikowski L. B., Ptaszek M. 2010. Gatunki *Phytophthora* jako przyczyna zamierania żywotników (*Thuja* spp.) w polskich szkółkach kontenerowych. Sylwan 154 (4): 242-248.

Phytophthora citricola was isolated from individual diseased shoots of *Thuja orientalis* 'Aurea Nana', *T. occidentalis* 'Smaragd' and rotting tips of *T. plicata* 'Zebrina'. *P. cinnamomi*, *P. citricola* and *P. cryptogea* were isolated from rotting stem bases of *T. occidentalis* 'Smaragd'. Shoot inoculation of 14 cultivars caused the colonization of tissues, but faster spread of necrosis was observed on yellow than other cultivars. *P. cinnamomi* was more aggressive to thuja than other isolated species.

KEY WORDS

nursery, *Thuja* spp., symptoms, cultivars, *Phytophthora*, occurrence, colonization

ADDRESSES

Leszek B. Orlikowski – e-mail: lorlikow@insad.pl
Magdalena Ptaszek

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa im. Szczepana Pieniążka; Pomologiczna 18; 96-100 Skierniewice

Wstęp

W piśmiennictwie krajowym, dotyczącym występowania i szkodliwości gatunków *Phytophthora* w szkółkach kontenerowych roślin ozdobnych, wymieniano dotychczas żywotnika zachodniego i wschodniego tylko sporadycznie jako żywicieli tego rodzaju. Orlikowski i Szkuta [2003a] podają gatunek *P. citricola* (Sawada) jako przyczynę zarazy wierzchołków pędów żywotnika. Dalsze badania wykazały, że źródłem patogena jest woda skażona tym gatunkiem, pobierana do zraszania roślin ze zbiorników w szkółkach [Orlikowski i in. 2007]. Z kolei Ridings i McRitchie [1973] wymieniają żywotnik jako żywiciela dla *P. cinnamomi* (Rands). Międzynarodowy obrót materiałem roślinnym, w tym import do polskich szkółek sadzonek roślin ozdobnych, spowodował, że począwszy od 1993 roku pojawiły się w nasadzeniach nowe zagrożenia wywołane przez *Phytophthora* spp., w tym *P. cinnamomi*, *P. cryptogea* Pethybr. et Laff. i *P. citricola* [Orlikowski i in. 1995]. W ciągu następnych 15 lat gatunek *P. citricola* stwierdzano głównie na roślinach wrzosowatych [Orlikowski, Szkuta 2003b], a w szkółkach leśnych jako przyczynę zamierania siewek buka, jesionu i jodły [Orlikowski i in. 2004a, b, 2006]. Na roślinach wrzosowatych gatunek ten powodował zamieranie wierzchołków pędów, podczas gdy w innych uprawach był przyczyną zgnilizny korzeni i podstawy pędu. Zdaniem Brasiera [2008] wprowadzenie nowego

* Badania współfinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (475/N-COST/2009/0)

czynnika chorobotwórczego lub jego rozprzestrzenienie się w określonym regionie czy kraju, może prowadzić często do znacznych strat w uprawach. Pojawienie się *P. citricola* w 2002 roku w nasadzeniach żywotników spowodowało rozszerzenie się tego czynnika chorobotwórczego w szkółkach oraz zakażenie gleby w miejscach, gdzie posadzono rośliny pozornie zdrowe, ale już zakażone przez omawiany gatunek. Celem niniejszej pracy było opisanie symptomów chorobowych występujących na roślinach, izolacja *Phytophthora* spp. z porażonych pędów i podłoża, identyfikacja wybranych izolatów oraz ocena zagrożenia żywotników przez trzy gatunki tego rodzaju.

Materiał i metody

OBJAWY CHOROBY, IZOLACJA *PHYTOPHTHORA* SPP. Z PORĄŻONYCH TKANEK ŻYWOTNIKA I PODŁOŻA. Badania przeprowadzono w latach 2005-2009 w 10 szkółkach pojemnikowych. Objawy chorobowe na roślinach w wieku od kilku miesięcy do 3 lat, głównie odmiany 'Smaragd', pojawiały się zwykle od połowy lipca. Pierwsze symptomy to wyraźne przejaśnienie pędów widoczne na tle otaczających roślin. W dalszym etapie zainfekowane pędy żółkły i brązowiały (fot. 1). Na porażonych pędach, począwszy od nasady, tkanki były zbrunatniałe i zgnilizna rozszerzała się ku górze, niekiedy na kilkanaście centymetrów (fot. 2). W szkółkach notowano również rośliny, które lekko żółkły, a następnie brązowiały (fot. 3). Po ich wyjęciu z pojemników widać było zbrunatniałe, rozpadające się korzenie oraz zgniliznę podstawy, rozszerzającą się ku górze (fot. 4). Na *Thuja orientalis* 'Aurea Nana' i *T. plicata* 'Zebrina' obserwowano zamieranie wierzchołków pędów na długości do 10 cm i pojedynczych pędów począwszy od miejsca rozgałęzienia.

W trakcie kilkunastokrotnych lustracji szkótek pobierano do analizy mikologicznej rośliny z opisanymi objawami chorobowymi razem z bryłą korzeniową i podłożem. Wkładano je pojedynczo do worków foliowych i po przewiezieniu do laboratorium tego samego lub następnego dnia odcinano rośliny od bryły korzeniowej, wycinano fragmenty pędów z objawami chorobowymi, płukano je pod wodą wodociągową, a następnie destylowaną i osuszano pomiędzy warstwami bibuły filtracyjnej. Następnie fragmenty pędów odkażano powierzchniowo przeciągając je dwukrotnie nad płomieniem palnika. Z pędów wycinano skrawki o długości około 5 mm na granicy zdrowej i porażonej tkanki i wykładano je do szalek Petriego o średnicy 90 mm z pożywką ziemniaczano-glukozową (PDA). W ciągu 3 dni inkubacji szalek w ciemności w temperaturze 25°C, co 24 godziny przeglądano je i odszczepiano około 5 mm średnicy fragmenty kolonii na skosy z PDA. Po ich segregacji i oczyszczeniu wybierano z nich kultury reprezentacyjne, które oznaczano do gatunku na podstawie cech morfologicznych [Erwin, Ribeiro 1996] i przy zastosowaniu metod molekularnych [Trzewik i in. 2006].

Podłoże uzyskane z otrząśnięcia bryły korzeniowej, zawierające również część porażonych korzeni, analizowano na obecność *Phytophthora* spp. stosując jako pułapkę wierzchołkowe liście różanecznika odmiany 'Nova Zembla'. Analizowane podłoże, w ilości 0,5 kg, wysypywano na tace fotograficzne (32×25×6 cm) i zalewano wodą wodociągową około 1 cm powyżej jego powierzchni. Następnie wykładano po 8 liści różanecznika i tace wkładano do worków foliowych. Po 3-5 dniach inkubacji w temperaturze 22-25°C wyjmowano liście, płukano je pod wodą wodociągową i destylowaną, liczono liczbę nekrotycznych plam na każdym z nich i ok. 3-5 mm fragmenty porażonych tkanek wykładano na PDA. Dalszy tok postępowania był taki sam jak przy analizie mikologicznej tkanek żywotnika.

KOLONIZACJA FRAGMENTÓW PĘDÓW ŻYWOTNIKA PRZEZ WYZOŁOWANE GATUNKI *PHYTOPHTHORA*. W doświadczeniach wykorzystano 14 odmian żywotników. Świeżo ścięte fragmenty pędów o długości do 5 cm wykładano na tace wyłożone wilgotną, sterylną bibułą filtracyjną, przykrytą



Fot. 1.

Zamieranie pojedynczych pędów żywotnika od miejsca ich rozgałęzienia

Decay of individual shoots of thuja from embranchment place



Fot. 2.

Zbrunatniałe tkanki porażonego pędu od miejsca rozgałęzienia w kierunku wierzchołka

Browning of shoot parts from embranchment place toward the tip



Fot. 3.

Przejaśnienie pędów żywotnika 'Smaragd' wskutek porażenia korzeni i podstawy pędu

Brightening of 'Smaragd' cultivar shoots because of root and stem base rot



Fot. 4.

Zgnilizna podstawy pędu żywotnika rozszerzająca się ku górze

Browning of thuja shoot base spreading upwards

cienką siatką. Na nasadę tych pędów nakładano krążki pożywki przerośnięte strzępkami *Phytophthora* o średnicy 3 mm. Tace wkładano w rękawy z folii w celu utrzymania wilgotności względnej powietrza około 90% i inkubowano w ciemności w temperaturze 22-25°C. Po 5 i 9 dniach inkubacji mierzono długość znekrotyzowanych tkanek. Doświadczenia założono w układzie bloków kompletnie losowanych w 4 powtórzeniach po 5 pędów i powtórzono dwukrotnie.

Wyniki

IZOLACJA *PHYTOPHTHORA* SPP. Z PORAZONYCH TKANEK ŻYWOTNIKA I PODŁOŻA. Pierwsze symptomy chorobowe żółknięcia i brązowienia części pędów stwierdzono na *T. orientalis* 'Aurea Nana'. W lipcu 2005 roku objawy wystąpiły na około 5% uprawianych roślin. Chore żywotniki występowały pojedynczo lub po kilka w jednym miejscu. Ze zbrunatniałych tkanek pobranych w miejscu rozgałęziania się pędów 20 roślin izolowano *P. citricola*. Podobne objawy (fot. 1) występowały również na żywotniku zachodnim 'Smaragd' w 2 szkółkach na około 3% roślin. Z porażonych pędów 20 roślin (fot. 2) pobranych do analizy mikologicznej izolowano *P. citricola* (tab. 1). W następnym roku w lipcu i w sierpniu wierzchołki pędów co najmniej 50 roślin *T. plicata* 'Zebrina' brązowiały, brunatniały na odcinku do 10 centymetrów i wyginały się ku dołowi. Z tkanek takich pędów, pobranych z 25 roślin z jednej szkółki, izolowano *P. citricola* (tab. 1).

Lata 2007-2009 to pojawianie się w 4 szkółkach żywotnika zachodniego 'Smaragd' roślin z objawami przejaśnienia pędów, ich żółknięcia i stopniowego zamierania (fot. 3). Na przekroju podłużnym takich pędów, począwszy od miejsca rozgałęzienia, stwierdzono zbrunatniałe tkanki, a zgnilizna rozszerzała się w kierunku wierzchołka. Z porażonych tkanek izolowano *P. citricola* (tab. 1). W latach 2008-2009 na około 2% obserwowanych roślin *T. occidentalis* 'Smaragd' stwierdzono przejaśnienia całych pędów, zmianę zabarwienia na kolor żółtozielony, a następnie brązowy (fot. 4). Z tkanek podstawy pędów 25 roślin izolowano *P. cinnamomi*, *P. citricola* i *P. cryptogea* (tab. 1). Niekiedy z tej samej rośliny izolowano *P. cinnamomi* i *P. cryptogea* lub *P. cinnamomi* i *P. citricola*.

Stosując liście różanecznika jako pułapki z podłoża, w którym rosły żywotniki z objawami zgnilizny korzeni i podstawy pędu, izolowano 3 wymienione już gatunki *Phytophthora*.

Tabela 1.

Gatunki *Phytophthora* wyizolowane z porażonych żywotników (*Thuja* spp.) w latach 2005-2009
Phytophthora species isolated from diseased thuja (*Thuja* spp.) in years 2005-2009

Gatunek i odmiana	Lata izolacji	Liczba analizowanych roślin	Objawy	Izolowany gatunek <i>Phytophthora</i>	Liczba roślin zasiedlonych	Liczba szkółek z <i>Phytophthora</i> spp.
<i>Thuja orientalis</i> 'Aurea Nana'	2005	40	Zamieranie pojedynczych pędów	<i>P. citricola</i>	20	2
<i>Thuja plicata</i> 'Zebrina'	2006-2007	25	Zamieranie wierzchołków i pojedynczych pędów	<i>P. citricola</i>	12	1
<i>Thuja occidentalis</i> 'Smaragd'	2008-2009	30	Zamieranie pojedynczych pędów	<i>P. citricola</i>	25	2
		45	Zgnilizna korzeni i podstawy pędu	<i>P. cinnamomi</i> <i>P. citricola</i> <i>P. cryptogea</i>	5 11 8	2 4 4

KOLONIZACJA FRAGMENTÓW PĘDÓW ŻYWOTNIKÓW PRZEZ GATUNKI *PHYTOPHTHORA*. *P. cinnamomi*, *P. citricola* i *P. cryptogea* kolonizowały tkanki pędów łącznie 14 odmian 3 gatunków żywotnika. Nekroza rozwijała się istotnie najszybciej na odmianach 'Golden Tufflet', 'Yellow Ribbon', 'Sunkist' i 'Columna' (tab. 2). Różnice w chorobotwórczości poszczególnych gatunków dla badanych odmian były niewielkie. Analiza kolonizacji pędów żywotnika zachodniego 'Smaragd' przez 3 gatunki *Phytophthora* wskazuje na brak istotnych różnic w długości znekrotyzowanych tkanek. Reakcja tej odmiany na 3 gatunki *Phytophthora* była podobna jak większości innych żywotników (tab. 2).

Dyskusja

Żywotniki należą do roślin najczęściej uprawianych w szkółkach i około połowa odmian używana jest do zakładania żywoplotów. Jeszcze do niedawna żywotnik należał do grupy najzdrowszych roślin uprawianych w szkółkach i ogrodach. Import sadzonek żywotnika odmiany 'Smaragd' oraz innych, nowych odmian mógł być przyczyną zawleczenia na ich korzeniach i podłożu *Phytophthora* spp. i stopniowego rozprzestrzenienia tej grupy patogenów w szkółkach, głównie z wodą używaną do zraszania roślin. W gorące, letnie dni deszczownie włączane są nawet trzykrotnie w ciągu dnia. W przypadku, gdy na kontenerowni występują nawet sporadycznie porażone rośliny, optymalna dla rozwoju temperatura oraz obecność wody powodują bardzo szybkie tworzenie się zoosporangiów na powierzchni porażonych tkanek [Kuske, Benson 1983]. Spadek temperatury nawet o kilka °C, spowodowany zraszaniem, sprzyja uwalnianiu się zoospor. Ich cysty roznoszone są po kontenerowni z nadmiarem wypływającej z pojemników wody, a także z deszczem. Spadająca na matę woda rozpryskuje znajdujące się na niej zoospory razem z resztkami podłoża, które po dostaniu się w rozgałęzienia pędów kiełkują i infekują tkanki [Kuske, Benson 1983]. Nie bez znaczenia jest możliwość przenoszenia *P. citricola* z wodą do zraszania pobieraną ze zbiorników w szkółkach [Orlikowski i in. 2007]. Uprawa różnych roślin w szkółce sprzyja rozprzestrzenianiu się *Phytophthora* spp. z jednego gatunku na inne. Przykła-

Tabela 2.

Długość [mm] nekrozy spowodowanej przez *Phytophthora* spp. po 5 (a) i 9 (b) dniach od inokulacji
Length [mm] of *Phytophthora* spp. caused necrosis 5 (a) and 9 (b) days after inoculation

Gatunek i odmiana żywotnika	<i>P. cinnamomi</i>		<i>P. citricola</i>		<i>P. cryptogea</i>	
	a	b	a	b	a	b
<i>T. occidentalis</i> 'Brabant'	7,8 d-i	10,5 e-j	6,2 b-f	9,7 d-f	5,4 a-e	10,1 e-h
<i>T. occidentalis</i> 'Columna'	13,0 o	18,5 p	9,0 h-m	11,6 g-l	10,5 l-m	16,8 o
<i>T. occidentalis</i> 'Globosa Aurea'	8,6 f-l	11,9 j-l	4,7 ab	7,7 d-i	8,7 g-l	10,1 e-h
<i>T. occidentalis</i> 'Globosa Compacta'	9,3 i-n	12,9 lm	7,8 e-j	10,9 f-k	8,2 f-l	11,0 f-k
<i>T. occidentalis</i> 'Golden Globe'	8,5 f-l	11,8 i-l	8,5 f-l	12,4 kl	7,4 c-i	8,4 b-d
<i>T. occidentalis</i> 'Golden Tufflet'	11,1 m-o	24,0 r	9,5 i-n	16,3 o	7,5 c-i	14,3 mn
<i>T. occidentalis</i> 'Little Gem'	9,4 i-n	12,8 l	3,9 a	9,1 b-e	7,9 e-j	10,2 e-h
<i>T. occidentalis</i> 'Milky'	12,9 o	16,6 o	6,2 b-f	8,2 bc	10,2 j-n	12,6 l
<i>T. occidentalis</i> 'Pyramidalis Compacta'	7,7 d-i	11,9 j-l	3,9 a	5,9 b-d	6,4 b-g	10,3 e-i
<i>T. occidentalis</i> 'Smaragd'	7,3 c-i	10,5 e-j	5,2 a-c	9,7 d-f	6,8 b-h	9,4 c-f
<i>T. occidentalis</i> 'Sunkist'	10,4 k-n	19,9 q	8,4 f-l	17,4 op	21,1 q	33,3 s
<i>T. occidentalis</i> 'Yellow Ribbon'	16,2 p	23,2 r	7,8 d-i	13,1 lm	11,4 no	16,2 o
<i>T. orientalis</i> 'Aurea Nana'	5,4 a-e	6,1 b-f	7,1 b-h	8,3 bc	9,9 d-f	10,3 e-i
<i>T. plicata</i> 'Zebrina'	7,7 d-i	9,7 d-f	10,3 k-n	14,8 n	7,4 c-i	10,8 e-h

Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie według testu Duncana na poziomie 0,05

Values assigned with the same letter do not differ significantly at 0.05 level (Duncan's multiple range test)

dem może być cyprysyk Lawsona, różanecznik i inne rośliny wrzosowate, na których stwierdzono występowanie od kilku do kilkunastu gatunków rodzaju *Phytophthora*, wśród nich *P. cinnamomi*, *P. citricola* i *P. cryptogea* [Orlikowski i in. 1995; Orlikowski, Szkuta 2002, 2008].

Badania nad kolonizacją pędów żywotników przez *Phytophthora* wykazały, że nekroza rozwijała się najszybciej na części odmian *T. occidentalis* o żółtym zabarwieniu pędów. Tymczasem w szkółkach na tychże odmianach nie występowały opisane symptomy chorobowe. Jest prawdopodobne, że mimo wyboru do doświadczeń pędów z roślin w tym samym wieku i w tym samym czasie, odmiany te mogły mieć tkanki mniej zdrewniałe od innych. Są to również odmiany uprawiane na niewielkich powierzchniach w porównaniu do dominującego w szkółkach żywotnika 'Smaragd'. Analiza uzyskanych danych wskazuje na *P. cinnamomi* jako gatunek kolonizujący tkanki pędów szybciej niż *P. citricola* i *P. cryptogea*. Dotychczas nie izolowano go z wierzchołków i środkowej części pędów. W przeprowadzonych badaniach czynnik ten był przyczyną zgnilizny podstawy pędu żywotnika. Jest prawdopodobne, podobnie jak to miało miejsce w przypadku cyprysyka Lawsona, że *P. cinnamomi* może być już w najbliższych latach przyczyną częstszego zamierania żywotników.

Literatura

- Brasier C. M. 2008. The biosecurity threat to the UK and global environment from international trade in plants. *Plant Pathology* 57: 792-808.
- Erwin D. C., Ribeiro O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. The APS, St. Paul, s. 562.
- Kuske C. R., Benson D. M. 1983. Survival and splash of *Phytophthora* parasitica, causing dieback of rhododendron. *Phytopathology* 73: 1188-1191.
- Orlikowski L. B., Duda B., Szkuta G. 2004a. *Phytophthora citricola* on European beech and silver fir in Polish forest nurseries. *J. Plant Prot. Res.* 44 (1): 57-64.
- Orlikowski L. B., Oszako T., Duda B., Szkuta G. 2004b. Występowanie *Phytophthora citricola* na jesionie wyniosłym (*Fraxinus excelsior*) w szkółkach leśnych. *Leśne Prace Badawcze* 4: 129-136.
- Orlikowski L. B., Oszako T., Szkuta G. 2006. First record of *Phytophthora* spp. associated with the decline of European beech stand in south-west Poland. *Phytopathol. Pol.* 42: 37-46.
- Orlikowski L. B., Skrzypczak Cz., Gabarkiewicz R. 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 ornamental nurseries in Poland. *J. Plant Prot. Res.* 42: 157-163.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2003a. First notice of *Phytophthora* tip blight on *Picea omorika* and *Thuja occidentalis* in Poland. *Phytopathol. Pol.* 28: 63-67.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2003b. *Phytophthora citricola* on *rhododendron* spp. in Polish nurseries. *J. Plant Prot. Res.* 43: 19-24.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2008. Zagrożenie szkótek pojemnikowych roślin ozdobnych przez *Phytophthora* spp. w minionym piętnastoleciu. *Sylwan* 152 (9): 44-50.
- Orlikowski L. B., Trzewik A., Orlikowska T. 2007. Water as potential source of *Phytophthora citricola*. *J. Plant Prot. Res.* 47 (2): 125-132.
- Ridings W. H., McRitchie J. J. 1973. *Phytophthora* root and wilt of azalea. *Pl. Pathol. Circular* 135: 2.
- Trzewik A., Wiejacha K., Orlikowski L. B., Szkuta G., Orlikowska T. 2006. The identification of five *Phytophthora* species on the basis of DNA markers obtained via the PCR technique with nonspecific primers. *Phytopathol. Pol.* 41: 27-37.

SUMMARY

Phytophthora species as the causal agents of thuja (*Thuja* spp.) decay in Polish hardy ornamental nursery stocks

Occurrence of *Phytophthora* spp. on 14 cultivars of 3 thuja species and their pathogenicity were studied in 10 hardy ornamental nursery stocks. *Phytophthora citricola* was isolated from *Thuja*

occidentalis 'Smaragd' tips and middle part of dying shoots. On *T. orientalis* 'Aurea Nana' the species was detected from middle part of diseased shoots whereas from *T. plicata* 'Zebrina' only from plant tips. *P. cinnamomi*, *P. citricola* and *P. cryptogea* were isolated from 'Smaragd' cultivars with yellowing and browning of shoots as well as root and stem base rot. All species colonized thuja shoots, but necrosis developed faster on yellow cultivars. *P. cinnamomi* was more aggressive than other *Phytophthora* species.