

TOMASZ OSZAKO, LESZEK B. ORLIKOWSKI, CZESŁAW SKRZYPCZAK

Możliwości chemicznej i biologicznej ochrony szkółek leśnych przed *Phytophthora citricola*

Possibilities of chemical and biological protection of forest nurseries against *Phytophthora citricola*

ABSTRACT

Oszako T., Orlikowski L. B., Skrzypczak C. 2009. Możliwości chemicznej i biologicznej ochrony szkółek leśnych przed *Phytophthora citricola*. Sylwan 153 (3): 164-170.

In *in vitro* trials dimethomorph, aluminium fosethyl, metalaxyl, fenamidon and fluopikolid protected the most beech seedlings against *Phytophthora citricola* and strongly inhibited the spread of necrosis. The compounds, applied as seedling spray immediately after their planting into soil infested with *P. citricola*, effectively protected plants for at least 50 day-growth. Both, grapefruit extract and chitosan may be used as biocides in the control of *Phytophthora* root and stem rot of beech seedlings.

KEY WORDS

Phytophthora, beech, control, effectiveness, biocides

ADDRESSES

Tomasz Oszako ⁽¹⁾ – e-mail: T.Oszako@ibles.waw.pl

Leszek B. Orlikowski ⁽²⁾ – e-mail: Leszek.Orlikowski@insad.pl

Czesław Skrzypczak ⁽²⁾

⁽¹⁾ Zakład Fitopatologii Leśnej; Instytut Badawczy Leśnictwa; ul. Braci Leśnej 3; 05-090 Raszyn

⁽²⁾ Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa; ul. Pomologiczna 18; 96-100 Skierniewice

Wstęp

O występowaniu *Phytophthora* spp. w szkółkach leśnych, jako przyczyny zgnilizny siewek, wspominają już Kozłowska i in. [1961]. W tym okresie gatunkom tego rodzaju poświęcano mało uwagi z powodu nierozpoznanego ich zagrożenia dla roślin. Od połowy lat sześćdziesiątych XX wieku wzrosło zainteresowanie gatunkiem *P. cactorum* (Leb. et Cohn) J. Schroet, występującym w sadach, ale głównie *P. cryptogea* Pethybr. et Laff., jako przyczyny masowego zamierania gerbery w szklarniach [Orlikowski 1978]. W latach dziewięćdziesiątych XX wieku w szkółkach roślin ozdobnych pojawiły się *P. cinnamomi* Rands, *P. citricola* Sawada i *P. cryptogea* [Orlikowski i in. 1995], a w następnych 10 latach *P. cambivora* (Petri) Buisman, *P. citrophthora* (Smith et Smith) Leonian i *P. ramorum* Werres et al. [Orlikowski, Szkuta 2005a, b]. Intensywniejszy aniżeli jeszcze przed kilku laty obrót materiałem szkółkarskim w kraju oraz importowanymi roślinami ozdobnymi powoduje, że wzrasta również prawdopodobieństwo rozprzestrzeniania *Phytophthora* spp. [Orlikowski 2006]. Zagrożeniem szkółek leśnych przez omawianą grupę patogenów zajęto się przed 6 laty. Lustracje zdrowotności roślin, przeprowadzone w ponad 40 szkółkach, wykazały występowanie fytoftorazy na większości uprawianych gatunków, a *P. citricola* na buku, jesionie i jodle [Orlikowski i in. 2004a, b; Stępniewska 2005]. W minionych dwóch latach gatunek ten stwierdzono również na brzozie, modrzewiu, olszy, sośnie i świerku. Nasilające się zagrożenie

szkólek leśnych przez ten gatunek stwarza potrzebę opracowania metod ich ochrony przed fytoftorozą.

Celem niniejszych badań była ocena przydatności różnych środków ochrony roślin przed *P. citricola* na przykładzie buka (*Fagus sylvatica* L.).

Materiał i metody

W założonych w latach 2006-2007 doświadczeniach laboratoryjnych, siewki buka o kiełkach dochodzących do 9 cm długości umieszczano na tacach wyłożonych wilgotną, sterylną bibułą, przykrytą cienką siatką plastikową. Następnie opryskano je stosując 10 środków ochrony scharakteryzowanych w tabeli 1. Po dwóch godzinach, u nasady pędów, naniesiono krążki inokulum *P. citricola*, izolatu z zamierającego korzenia buka, rosnącego w ciemności na pożywce PDA w temperaturze 24°C. Krążki przerośnięte strzępkami patogena pobrano z brzegu 7-dniowych kultur. Kontrolę stanowiły siewki, na które naniesiono tylko krążki pożywki oraz siewki opryskane tylko wodą i zainokulowane przez *P. citricola*. Po inokulacji, tace okrywano cienką folią i umieszczano w ciemności w temperaturze 22-24°C. Po 5 dniach określono liczbę porażonych siewek oraz mierzono długość nekrozy na każdej z nich. Doświadczenie założono w układzie bloków losowych w 4 powtórzeniach po 10 siewek w każdym z nich.

W doświadczeniach polowych, przeprowadzonych w latach 2006-2007, siewki o długości kiełka do 3 cm sadzono do gleby, zakażonej przez *P. citricola*. Inokulum patogena przygotowano na pożywce z płatków owsianych (18 g płatków + 20 ml wody w szalce o średnicy 90 mm i dwukrotne autoklawowanie przez 25 minut). Po dwóch tygodniach przerośnięte przez strzępki płatki rozdrabniano z niewielką ilością sterylnej wody i mieszano z 5 litrami gleby piaszczysto-gliniastej o pH 5,6, a następnie inokulum to dodano do 500 l takiej samej gleby i mieszano przez 15 minut w betoniarce. Przed rozsypaniem gleby do litrowych doniczek określono liczebność *P. citricola* stosując pożywkę selektywną na bazie kwasu gallusowego i procedurę opisaną przez Flowers i Hendrix [1969]. Wynosiła ona 211 i 265 jednostek propagacyjnych w 1 g powietrznie suchej gleby odpowiednio w roku 2006 i 2007. Siewki sadzono na środku pojemników i ustawiano je na kontenerowni z możliwością cieniowania i podlewania. Bezpośrednio potem, siewki opryskano 10 testowanymi środkami ochrony roślin (tab. 1). Kontrolę stanowiły siewki posadzone do gleby niezakażonej oraz rosnące w ziemi zakażonej, ale opryskane tylko wodą.

Tabela 1.

Środki ochrony roślin użyte w doświadczeniach nad ochroną buka przed *Phytophthora citricola*
Pesticides used in trials on protection of beech against *Phytophthora citricola*

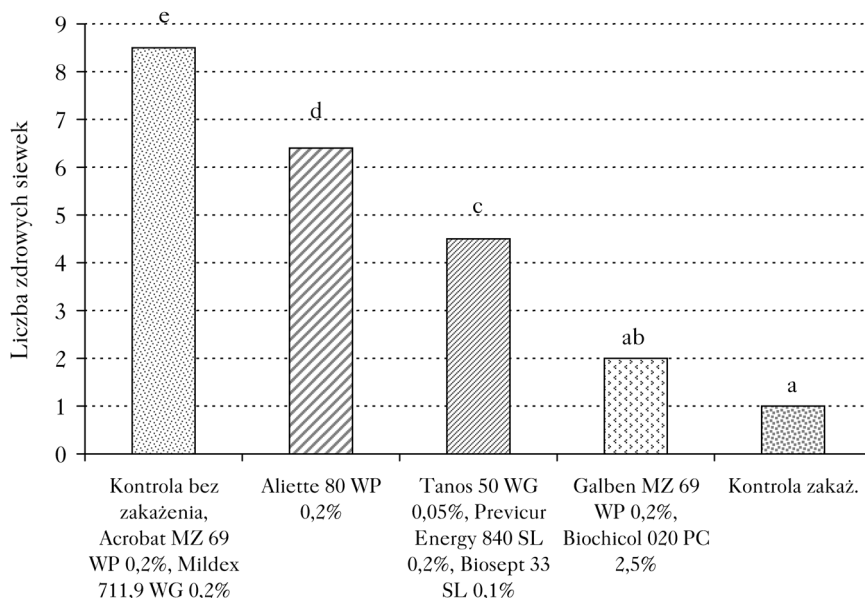
| Nazwa handlowa | Stężenie [%] | Zawartość substancji czynnej środka |
|------------------------|--------------|--|
| Acrobat MZ 69 WP | 0,2 | 9% dimetomorfu + 60% mankozebu |
| Aliette 80 WP | 0,2 | 90% fosetylu glinowego |
| Biochikol 020 PC | 2,5 | 20 g chitozanu w 1 litrze |
| Biosept 33 SL | 0,1 | 33% wyciągu grejpfruta |
| Galben M 73 WP | 0,2 | 8% benalaksylu + 65% mankozebu |
| Infinito 687,5 SC | 0,2 | 625 g chlorowodoru propamokarbu + 62,5 fluopikolidu w 1 litrze |
| Mildex 711,9 WG | 0,1 | 66,7% fosetylu glinowego + 4,4 % fenamidonu |
| Previcur Energy 840 SL | 0,25 | 530 g propamokarbu + 310 g fosetylu glinowego w 1 litrze |
| Ridomil Gold MZ 68 WP | 0,15 | 4% metalaksylu M + 64% mankozebu |
| Tanos 50 WG | 0,05 | 25% cymoksanilu + 25% famoksatu |

Doświadczenia założono w takim samym układzie jak w laboratorium. Miarą skuteczności testowanych środków była liczba siewek, które ukazały się nad powierzchnią gleby po 10 dniach uprawy oraz liczba porażonych roślin po 50 (rok 2006) i 66 dniach (rok 2007).

Wyniki

WPLYW BADANYCH ŚRODKÓW OCHRONY NA KOLONIZACJĘ SIEWEK BUKA PRZEZ *P. CITRICOLA* W WARUNKACH LABORATORYJNYCH. W doświadczeniu założonym w 2006 roku, po 5 dniach inkubacji zainokulowanych siewek, opryskanych wcześniej 8 fungicydami, najwyższą skuteczność w zabezpieczeniu roślin przed *P. citricola* uzyskano po zastosowaniu środków Acrobat MZ 69 WP, Mildex 711,9 WG, a następnie Aliette 80 WP. Natomiast Galben MZ 73 WP i Biochikol 020 PC okazały się nieskuteczne w ochronie siewek w warunkach *in vitro* (ryc. 1).

W następnym doświadczeniu, które założono w 2007 roku, najlepsze wyniki w hamowaniu rozwoju fytoftorazy spośród 10 testowanych środków uzyskano stosując Acrobat MZ 69 WP, Aliette 80 WP, Infinito 687,5 SC, Mildex 711,9 WG oraz Ridomil Gold MZ 68 WP (tab. 2). Użycie środka Acrobat MZ 69 WP do jednorazowego opryskania chroniło siewki całkowicie przed patogenem. Pozostałe z 5 wymienionych środków ograniczały rozwój nekrozy co najmniej ośmiokrotnie. Zastosowanie Previcur Energy 840 SL spowodowało około dwukrotne zmniejszenie liczby porażonych siewek i ograniczyło rozwój nekrozy na pędach siewek o około 50%. Użycie Biochikolu 020 PC istotnie ograniczyło liczbę porażonych siewek oraz zahamowało rozwój nekrozy w 17%. Biosept 33 SL nie ograniczał liczby porażonych siewek, natomiast w 20% hamował rozwój nekrozy (tab. 2).



Ryc. 1.

Skuteczność środków ochrony roślin użytych do opryskiwania siewek buka w ograniczaniu rozwoju fytoftorazy (*Phytophthora citricola*) po 10 dniach

Effectiveness of pesticides used to spray beech seedlings to limit the development of root and stem rot (*Phytophthora citricola*)

Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

Values indicated with the same letter do not differ significantly according to Duncan test at 0,05 level

Tabela 2.

Skuteczność środków w ochronie siewek buka przed *Phytophthora citricola* w doświadczeniu laboratoryjnym
Effectiveness of pesticides used to protect beech seedlings against *Phytophthora citricola* in laboratory trial

| Zastosowane środki | Stężenie [%] | Liczba porażonych siewek po 5 dniach* | Długość nekrozy [mm] na porażonych siewkach po 5 dniach* |
|------------------------|--------------|---------------------------------------|--|
| Kontrola bez zakażenia | – | 0 a | 0 a |
| Kontrola zakażona | – | 7,8 d | 79,5 f |
| Acrobat MZ 69 WP | 0,2 | 0,5 a | 0 a |
| Aliette 80 WP | 0,2 | 1,5 a | 10,3 a |
| Biochikol 020 PC | 2,5 | 5,8 c | 66,3 de |
| Biosept 33 SL | 0,1 | 7,0 d | 63,3 d |
| Galben M 73 WP | 0,2 | 3,8 b | 77,3 ef |
| Infinito 687,5 SC | 0,1 | 0,5 a | 5,0 a |
| Mildex 711,9 WG | 0,2 | 1,0 a | 7,3 a |
| Previcur Energy 840 SL | 0,25 | 4,3 b | 33,8 b |
| Ridomil Gold MZ 68 WP | 0,15 | 1,3 a | 10,8 a |
| Tanos 50 WG | 0,05 | 5,0 bc | 47,0 c |

* wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

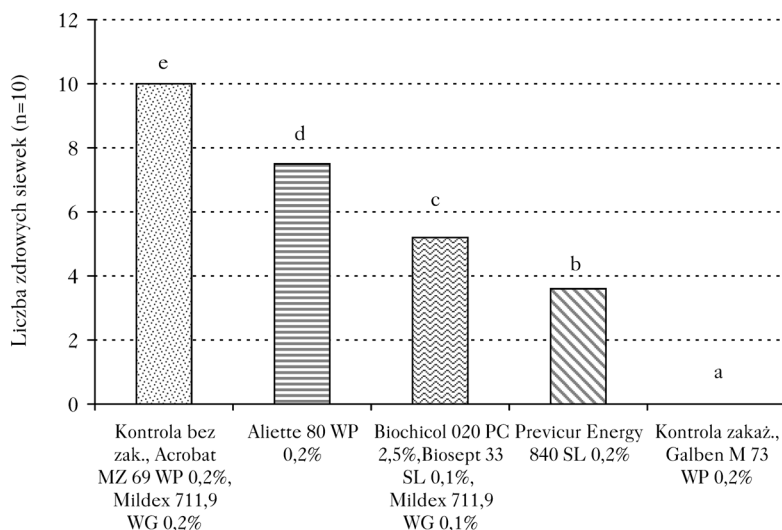
* values indicated with the same letter do not differ significantly according to Duncan test at 0,05 level

WPLYW BADANYCH ŚRODKÓW NA ROZWÓJ FYTOFTOROZY W WARUNKACH POŁOWYCH. Obserwacje zdrowotności roślin przeprowadzone po 50 dniach uprawy roślin potwierdziły najwyższą skuteczność w ograniczaniu rozwoju fytoftorazy buka środków Acrobat MZ 69 WP, Mildex 711,9 WG i Aliette 80 WP zastosowanych w stężeniu 0,2% (ryc. 2). W grupie środków zabezpieczających około 1/3 roślin przed patogenem znalazły się Biosept 33 SL i Biochikol 020 PC (ryc. 2).

W doświadczeniu założonym w 2007 roku, obserwacja wykonana po 10 dniach wykazała, że siedem z dziesięciu badanych środków, w tym Biosept 33 SL, zabezpieczało około 4/5 siewek przed patogenem (tab. 3). Po 66 dniach uprawy buka 3/4 siewek kontrolnych, rosnących w glebie zakażonej przez *P. citricola*, wykazywało objawy fytoftorazy. Z badanych środków najlepszymi w zabezpieczaniu roślin przed patogenem okazały się Acrobat MZ 69 WP, Aliette 80 WP, Infinito 687,5 SC, Mildex 711,9 WG i Ridomil Gold MZ 68 WP. Ich zastosowanie do jednorazowego opryskania siewek spowodowało, że objawy fytoftorazy wystąpiły tylko na około 1/5 roślin (tab. 3). Użycie środka Biosept 33 SL chroniło ponad połowę roślin przed *P. citricola*. Nieznacznie gorsze efekty uzyskano stosując do opryskania siewek Biochikol 020 PC (tab. 3).

Dyskusja

Uzyskane dane wskazują na możliwości wykorzystania co najmniej kilku dostępnych na rynku środków do ochrony roślin w szkółkach leśnych przed *P. citricola*. We wszystkich doświadczeniach bardzo dobre efekty w zabezpieczaniu roślin przed patogenem uzyskano stosując środki zawierające dimetomorf, metalaksyl i fosetyl glinowy pojedynczo lub z dodatkiem fenamidonu. Dwie z wymienionych na początku substancji czynnych już przy ich dodatku do pożywki w stężeniu 8 µg/cm³ całkowicie hamują wzrost kolonii *P. citricola*. Aby osiągnąć ten efekt trzeba dodać około 1000 µg/cm³ wyciągu z grejfruta [Orlikowski 2002], podczas gdy chitozan tylko nieznacznie ogranicza wzrost liniiowy *Phytophthora* spp. [Orlikowski i in. 1999]. Dimetomorf, metalaksyl oraz fenamidon, dodane do wyciągu glebowego, już w stężeniu 8 µg/cm³ hamują formowanie się zoosporangiów *Phytophthora* spp. [Orlikowski 2004], co z uwagi na ich układowe działanie w roślinie, drastycznie ogranicza liczebność populacji tej grupy patogenów w środo-



Ryc. 2.

Skuteczność środków ochrony roślin, użytych do opryskiwania siewek buka, w ograniczaniu rozwoju fytoftorazy buka (*Phytophthora citricola*) po 50 dniach uprawy

Effectiveness of pesticides used to spray beech seedlings in limitation of development of root and stem rot (*Phytophthora citricola*) after 50 days of cultivation

Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

Values indicated with the same letter do not differ significantly according to Duncan test at 0,05 level

Tabela 3.

Wpływ środków zastosowanych do opryskania na rozwój fytoftorazy na siewkach buka rosnących w ziemi zakażonej przez *Phytophthora citricola*

Influence of pesticides used to spray on the development of root and stem rot of beech on beech seedlings growing in ground inoculated with *Phytophthora citricola*

| | Stężenie [%] | Liczba siewek zdrowych po 10 dniach* | Liczba porażonych roślin po 66 dniach* |
|------------------------|--------------|--------------------------------------|--|
| Kontrola bez zakażenia | – | 9,0 d | 1,0 a |
| Kontrola zakażona | – | 4,5 a | 7,5 e |
| Acrobat MZ 69 WP | 0,2 | 8,3 bcd | 1,2 a |
| Aliette 80 WP | 0,2 | 7,3 bc | 2,2 ab |
| Biochicol 020 PC | 2,5 | 7,0 bc | 4,7 d |
| Biosept 33 SL | 0,2 | 8,0 bed | 3,2 bc |
| Galben M 73 WP | 0,2 | 8,5 cd | 4,0 cd |
| Infinito 687,5 SC | 0,2 | 7,8 bcd | 2,2 ab |
| Mildex 711,9 WG | 0,2 | 9,0 d | 2,0 ab |
| Previcur Energy 840 SL | 0,2 | 8,0 bcd | 3,7 cd |
| Ridomil Gold MZ 68 WP | 0,25 | 8,5 cd | 1,7 a |
| Tanos 50 WG | 0,05 | 6,8 b | 4,2 cd |

* wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncana

* values indicated with the same letter do not differ significantly according to Duncan test at 0,05 level

wisku korzeni. Rzutuje to z kolei na wysoką zdrowotność roślin. Hamujące działanie na formowanie się zoosporangiów *Phytophthora* spp. wykazuje również wyciąg z grejfruta [Orlikowski 2002, 2003]. Dodatkowo, po dostaniu się do gleby środek ten może przez co najmniej 30 dni

ograniczać rozwój *P. cryptogea* [Orlikowski 2001], co wiąże się z zahamowaniem zarodnikowania patogena i znacznie ogranicza możliwości infekcji korzeni. Obecność w wyciągu co najmniej kilkudziesięciu związków, w tym flawonoidów, może indukować odporność roślin na określonego patogena. Wymienione tu właściwości wyciągu z grejfruta zapewne spowodowały, że po zastosowaniu go w doświadczeniach polowych uzyskano istotne ograniczenie rozwoju fytoftorazy. Wcześniejsze badania Orlikowskiego [2002] wskazują na współzależność pomiędzy rośliną, patogenem a wyciągiem z grejfruta stosowanym do ochrony. Środek ten wykazywał około 70% skuteczność, gdy zastosowano go do ochrony cisa przed *P. cinnamomi* i około 50% efektywność w ochronie wrzósów przed tym patogenem. Z kolei chitozan znany jest od kilkudziesięciu lat jako związek indukujący odporność roślin na patogeny, w tym *Phytophthora* spp. [Orlikowski i in. 1999]. Przy jego niewielkim oddziaływaniu na rozwój *P. citricola* na siewkach w doświadczeniu laboratoryjnym, efekt ten był znacznie lepszy w badaniach polowych.

Podsumowanie

Niniejsze badania wskazują na możliwości wykorzystania kilku środków do ochrony siewek w szkółkach leśnych przed *P. citricola* bez obawy ich negatywnego oddziaływania na środowisko. Aliette 80 WP, w którym fosetyl glinowy w ciągu kilku godzin rozkłada się do kwasu fosforowego, a jego działanie to prawdopodobnie indukcja odporności na patogena, może być stosowany przemiennie z Bioseptem 33 SL i Biochikolem 020 PC. Wśród środków bezpiecznych dla środowiska, o bardzo wysokiej skuteczności, na uwagę zasługuje Mildex 711,9 WG, oparty głównie na fosetylu glinowym z niewielkim tylko dodatkiem fenamidonu, silnie hamującym rozwój *Phytophthora* spp. Bardzo dobre wyniki uzyskano również stosując Infinito 687,5 SC zawierający propamokarb, znany na polskim rynku od kilkudziesięciu lat, ale również fluopikolid, którego oddziaływanie na *Phytophthora* spp. wymaga dalszych badań.

Literatura

- Flowers R. A., Hendrix J. W. 1969. Gallic acid in a procedure for isolation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and *Pythium* spp. from soil. *Phytopathology* 59: 725-731.
- Kozłowska C., Brennejen B., Benben K. 1961. Stan zagrożenia lasów polskich przez ważniejsze choroby pochodzenia grzybowego. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 226: 47-56.
- Orlikowski L. B. 1978. The occurrence of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. in gerbera growing sites. *Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci* 7: 495-498.
- Orlikowski L. B. 2001. Effect of grapefruit extract on development of *Phytophthora cryptogea* and control of foot rot of gerbera. *J. Plant Prot. Res.* 41: 84-90.
- Orlikowski L. B. 2002. Wykorzystanie wyciągu z grejfruta w ochronie cisa, cyprysika Lawsona i wrzósów przed *Phytophthora cinnamomi*. *Sylvan* 146 (3): 91-97.
- Orlikowski L. B. 2003. Development and spread of *Phytophthora ramorum* in the presence of grapefruit extract. *J. Plant Prot. Res.* 43: 213-218.
- Orlikowski L. B. 2004. Chemical control of rhododendron twig blight caused by *Phytophthora ramorum*. *J. Plant Prot. Res.* 44: 41-46.
- Orlikowski L. B. 2006. Gatunki rodzaju *Phytophthora* jako czynniki ograniczające plon i jakość roślin ozdobnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 510: 407-411.
- Orlikowski L. B., Duda B., Szkuta G. 2004a. *Phytophthora citricola* on European beech and silver fir in Polish forest nurseries. *J. Pl. Prot. Res.* 44: 57-64.
- Orlikowski L. B., Oszako T., Duda B., Szkuta G. 2004b. Występowanie *Phytophthora citricola* na jesionie wyniosłym (*Fraxinus excelsior*) w szkółkach leśnych. *Leśne Pr. Badawcze* 4: 129-136
- Orlikowski L. B., Skrzypczak Cz., Wojdyła A. 1999. Biological activity of plant extracts and chitosan towards soil-borne and leaf pathogens. *Botanica Lithuanica* 3: 47-54.
- Orlikowski L. B., Skrzypczak Cz., Wojdyła A., Gabarkiewicz R. 1995. Fytoftorazy w uprawie roślin ozdobnych. *Mat. XXXV Sesji naukowej IOR. Poznań.* 94-99.
- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2005a. Occurrence of *Phytophthora citrophthora* on *Syringa vulgaris*. *Acta Mycol.* 40: 175-180.

- Orlikowski L. B., Szkuta G. 2005b. *Phytophthora ramorum* w Polsce i potencjalne zagrożenie lasów przez ten gatunek. Leśne Pr. Badawcze 1: 65-69.
- Stępniewska H. 2005. *Phytophthora* spp. na siewkach buka w wybranych szkółkach leśnych Polski południowej. Leśne Pr. Badawcze (suppl.) 1: 45-52.

SUMMARY

Possibilities of chemical and biological protection of forest nurseries against *Phytophthora citricola*

In laboratory trials beech (*Fagus sylvatica*) seedlings were sprayed with 10 tested products and after 2 hours of incubation, artificially inoculated with *P. citricola*. After 5 day-incubation dimethomorph, aluminium fosethyl and its mixture with fenamidon, propamocarb+fluopikolid and metalaxyl+mancozeb almost completely inhibited the disease spread on seedlings. In field trials seedlings transplanted into soil infested with *P. citricola* were sprayed with 10 chemical and biological products. After 10 days a number of germinated seedlings were checked and 56 days later a number of diseased plants were estimated. Dimetomorph, metalaxyl, fosethyl Al alone or in mixture with fenamidon and propamocarb with fluopikolid were the most effective chemicals in pathogen control.