

*Magdalena Ptaszek, Leszek B.Orlikowski, Aleksandra Trzewik, Teresa Orlikowska,  
Leszek Lenc*

**CHOROBOTWÓRCZOŚĆ IZOLATÓW  
PHYTOPHTHORA SPP.  
UZYSKANYCH Z CIEKÓW I ZBIORNIKÓW WODNYCH**

---

***PATHOGENICITY OF PHYTOPHTHORA SPP.  
ISOLATES OBTAINED FROM WATERCOURSES  
AND WATER RESERVOIRS***

**Streszczenie**

Badano chorobotwórczość izolatów *Phytophthora* spp. uzyskanych z cieków i zbiorników wodnych w stosunku do *Ligustrum vulgare*, *Chamaecyparis lawsoniana*, *Lavandula angustifolia* i *Rhododendron* sp. Źródłem izolatów były 3 stawy zlokalizowane na terenie szkółek ozdobnych, 3 rzeki oraz kanał odwadniający w szkółce. Wszystkie analizowane izolaty *P. citrophthora* i *P. cinnamomi* kolonizowały tkanki testowanych roślin w warunkach laboratoryjnych i szklarniowych. Nie stwierdzono różnic w patogeniczności izolatów z roślin żywicielskich, w porównaniu do kultur uzyskanych z wody.

**Słowa kluczowe:** *Phytophthora*, izolaty, źródła wody, rośliny, chorobotwórczość

***Summary***

Pathogenicity of *Phytophthora* isolates obtained from water reservoirs and watercourses toward *Ligustrum vulgare*, *Chamaecyparis lawsoniana*, *Lavandula angustifolia* and *Rhododendron* sp. was evaluated. Tested isolates were detected from 3 water ponds situated in ornamental nurseries, 3 rivers and drainage canal in nursery. All of analysed isolates of *P. citrophthora* and *P. cinnamomi* colonized tested plant tissues in the laboratory and greenhouse conditions. There were no differences in pathogenicity of isolates from host plants in comparison to cultures from different water sources.

**Key words:** *Phytophthora*, isolates, water sources, rośliny, colonisation

## WSTĘP

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się wodzie, jako jednemu z istotnych źródeł występowania i rozprzestrzeniania gatunków *Phytophthora* w środowisku. Baker i Matkin [1978] podają, że organizmy tworzące zoosporangia i zoospory, w tym *Pythium* i *Phytophthora*, są najliczniej występującymi w wodzie czynnikami chorobotwórczymi wielu gatunków roślin. Według Honga i Moormana [2005], woda używana do podlewania i skażona przez gatunki rodzaju *Phytophthora* jest głównym, jeśli nie jedynym, źródłem tej grupy patogenów w szkółkach, sadach czy warzywnikach. Pierwsze wyniki badań, przeprowadzonych w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarnictwa nad rolą wody jako źródła *Phytophthora*, wskazały na występowanie w ciekach i zbiornikach wodnych głównie *P. citricola* [Orlikowski i in. 2007]. Dotychczas brakowało danych o szkodliwości izolatów różnych gatunków *Phytophthora* dla roślin i jest to celem niniejszych badań.

## METODYKA

**Źródła wody:** Izolaty *Phytophthora* uzyskano z 3 stawów zlokalizowanych na terenie szkółek roślin ozdobnych, kanału w szkółce oraz 3 rzek: Kurówka i Jasieńca (przepływające przez tereny ogrodnicze i rolnicze, miejscami przez zagajniki) oraz Okrzeszy, przepływającej przez tereny rolnicze i lasy.

**Wykrywanie *Phytophthora* w wodzie:** do detekcji *Phytophthora* spp. użyto metodę pułapkową [Orlikowski 2006] z zastosowaniem liści różanecznika odm. 'Nova Zembla'. Do pędów różanecznika zawierających co najmniej 8 liści, przywiązywano sznurek długości 4 m i pułapkę wrzucano do wody ok. 2 m od brzegu. Po upływie 4-6 dni pułapki wyjmowano i w plastikowych workach przewożono do laboratorium. Liście pułapkowe odkażano i ich fragmenty wkładano na pożywkę PDA. Szalki inkubowano w około 25°C w ciągu 48 h. Fragmenty kolonii, wyrastających wokół wyłożonych skrawków, przeszczepiano na skosy z pożywką PDA. Następnie kultury segregowano, oczyszczano i wybrane izolaty reprezentacyjne *Phytophthora* spp. oznaczano do gatunku na podstawie cech morfologicznych [Erwin, Ribeiro 1996] zaś wyniki identyfikacji potwierdzano stosując technikę PCR [Trzewik i in. 2010].

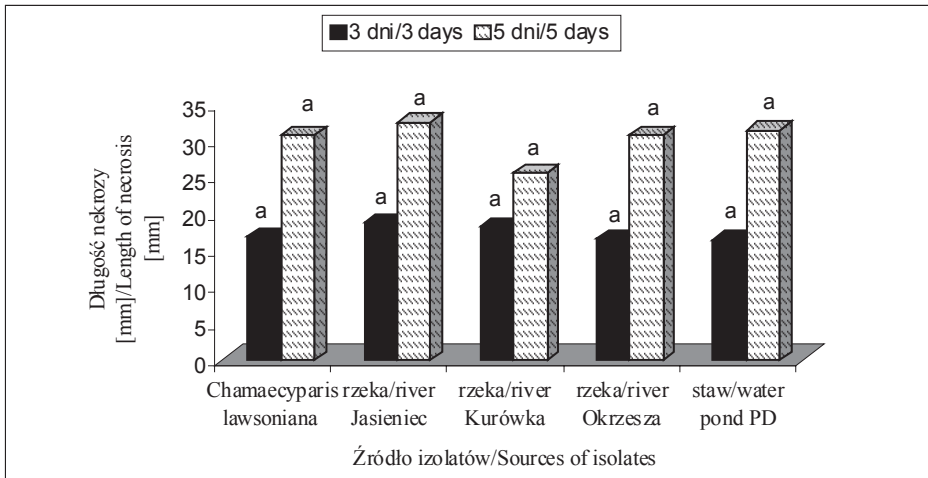
**Ocena chorobotwórczości wybranych izolatów *Phytophthora* dla roślin:** do testów laboratoryjnych i szklarniowych użyto izolaty *P. cinnamomi* i *P. citrophthora* pochodzące z cieków oraz zbiorników wodnych i dla porównania z roślin żywicielskich. Chorobotwórczość badanych kultur określano w stosunku do różanecznika, cyprysika, lawendy i ligustru. W warunkach laboratoryjnych blaszki liściowe i fragmenty pędów, umieszczone w kuwetach wyłożonych wilgotną bibułą filtracyjną i przykrytych nylonową siatką, inokulowano krążkami pożywki przerośniętymi badanymi patogenami [Orlikowski

Szkuta 2002]. Długość i średnicę nekrozy mierzono w przedziale od 3-5 dni inkubacji w 22-25°C. W doświadczeniach szklarniowych rośliny sadzono do substratu torfowego, zakażonego przez izolaty *Phytophthora* [Orlikowski 1999]. W ciągu miesiąca uprawy oceniano liczbę zamierających roślin. Doświadczenia laboratoryjne i szklarniowe założono w układzie bloków kompletnie losowych, w 4 powtórzeniach, po 5 roślin lub ich fragmentów.

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

### Chorobotwórczość izolatów *Phytophthora cinnamomi*.

*Chamaecyparis lawsoniana*. Wszystkie badane izolaty kolonizowały liście i fragmenty pędów cyprysika Lawsona (rys. 1). Nekroza rozwijała się na wierzchołkach pędów cyprysika niezależnie od izolatu użytego do inokulacji. Nie stwierdzono istotnych różnic w wielkości nekrozy zarówno po 3, jak i 7 dniach od inokulacji tkanek przez testowane izolaty (rys. 1).



Uwaga: Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg. testu Duncana; Means in columns, followed by the same letter, do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple range test

**Rysunek 1.** Kolonizacja wierzchołkowych części pędów cyprysika Lawsona przez izolaty *Phytophthora cinnamomi*

**Figure 1.** Colonisation of top parts of shoots of Lawson cypress by *Phytophthora cinnamomi* isolates

*Lavandula angustifolia*. W doświadczeniu szklarniowym, po 3 tygodniach od sadzenia roślin do zakażonego podłoża, wszystkie izolaty powodowały zamieranie lawendy, ale kultura z rzeki Jasieniec spowodowała wędnięcie i zamieranie około 4/5 roślin, podczas gdy izolat z rośliny żywicielskiej tylko 2/5 roślin (tab. 1).

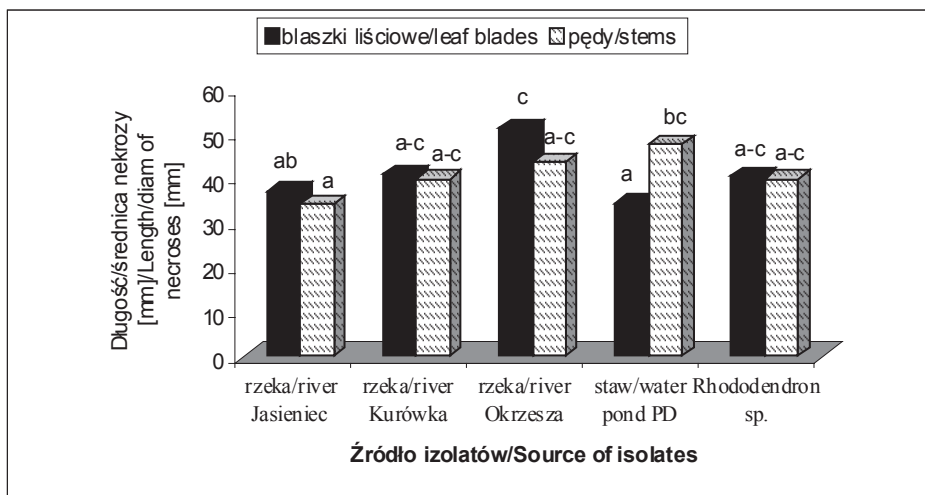
**Tabela 1.** Wpływ różnych izolatów *Phytophthora cinnamomi* na rozwój zgnilizny pędów lawendy; liczba porażonych roślin (n=5)

**Table 1.** Influence of different *Phytophthora cinnamomi* isolates on the development of stem base rot of *Lavandula angustifolia*; number of diseased plants (n=5)

Źródło izolatu Source of isolates	Dni od sadzenia / Days after planting	
	1	3
<b>Lavandula angustifolia</b>	0,8 ab	2,0 b
rzeka/river Jasieniec	2,5 c	3,5 c
rzeka/river Okrzesza	0 a	0,8 a
staw/water pond PD	1,0 b	2,0 b

Uwaga: Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg. testu Duncana; Means in columns, followed by the same letter, do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple range test

**Rhododendron sp.** W doświadczeniu laboratoryjnym z różanecznikiem odm. Nova Zembla 7 testowanych izolatów *P. cinnamomi* zasiedlało blaszki liściowe i pędy tej rośliny. Różnice statystyczne w tempie kolonizacji były niewielkie. Izolat z rzeki Okrzesza powodował nieznacznie szybszy rozwój nekrozy na blaszkach liściowych, aniżeli inne kultury *P. cinnamomi* (rys. 2). Z kolei w testach szklarniowych najmniejszą liczbę roślin z objawami chorobowymi po 4 tygodniach od ich sadzenia, obserwowano w podłożach inokulowanych kulturami *P. cinnamomi* ze stawu PD roślin ozdobnych oraz kanału C, do którego sphywa nadmiar wody ze szkółki (tab. 2).



Uwaga: Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg. testu Duncana; Means in columns, followed by the same letter, do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple range test

**Rysunek 2.** Współzależność pomiędzy źródłem izolatów *Phytophthora cinnamomi*, a kolonizacją blaszek liściowych i pędów różanecznika

**Figure 2.** Relationship between source of *Phytophthora cinnamomi* isolates and colonisation of *Rhododendron* sp. leaf blades and stem parts

**Tabela 2.** Współzależność pomiędzy izolatami *Phytophthora cinnamomi* z wody, a rozwojem nekrozy na różanecznikach; liczba porażonych roślin (n=5)

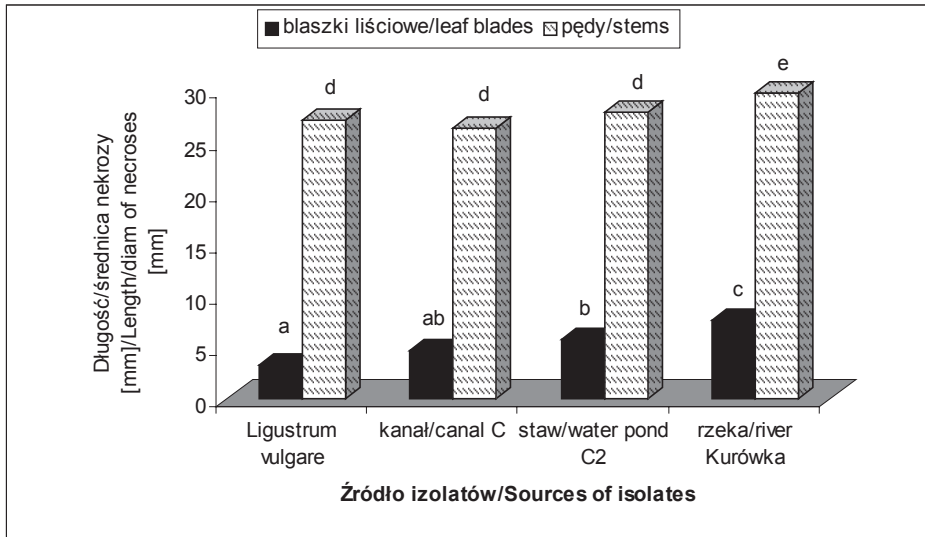
**Table 2.** Relationship between *Phytophthora cinnamomi* isolates from water and necroses development on *Rhododendron* sp.; number of diseased plants (n=5)

Źródło izolatów Source of isolates	Tygodnie od sadzenia / Weeks after planting	
	1	4
rzeka Jasieniec	2,5 cd	4,3 c
rzeka Kurówka	1,8 bc	4,0 c
rzeka Okrzesza	0 a	4,0 c
kanał C w szkółce	0,3 a	1,8 ab
staw PD w szkółce	0,8 ab	1,0 a
staw D w szkółce	3,3 d	5,0 c
<i>Rhododendron</i> sp.	2,0 b-d	3,8 c

Uwaga: Średnie w kolumnach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg. testu Duncana; Means in columns, followed by the same letter, do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple range test

### Chorobotwórczość izolatów *Phytophthora citrophthora*

*Ligustrum vulgare*. Testowane izolaty kolonizowały tkanki ligustru, przy czym nekroza rozwijała się istotnie szybciej na fragmentach pędów aniżeli na blaszkach liściowych. Istotnie najszybszy rozwój nekrozy obserwowano na tkankach zainokulowanych izolatem *P. citrophthora* z rzeki Kurówki (rys 3).



Uwaga: Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg. testu Duncana; Means in columns, followed by the same letter, do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple range test

**Rysunek 3.** Współzależność pomiędzy izolatami *Phytophthora citrophthora* z wody a kolonizacją liści i części pędów ligustru po 4 dniach od inokulacji

**Figure 3.** Relationship between *Phytophthora citrophthora* isolates from water and colonisation of *Ligustrum vulgare* leaves and stem parts 4 days after inoculation

W Polsce zagadnieniem chorobotwórczości izolatów *Phytophthora* z różnych gatunków roślin oraz z wody zajęto się przed kilku laty. Powodem zapoczątkowania takich badań były obserwacje zamierających wierzchołków pędów żywotnika, żółknięcia pędów bukszpanu i plamistości liści różanecznika, bardzo szybko rozszerzające się na całe blaszki liściowe, w komercyjnych szkółkach pojemnikowych roślin ozdobnych [Orlikowski 2006]. Stwierdzono wówczas, iż przyczyną choroby jest powszechnie występujący gatunek *P. citricola*, który w opisywanych badaniach izolowano z 3 zbiorników wodnych, usytuowanych poniżej poziomu szkółki, z których pobierano wodę do zraszania roślin. Z wyników badań opublikowanych przez autora wynika, że woda wykorzystywana do podlewania roślin była potencjalnym źródłem *Phytophthora* w szkółce i przyczyną zamierania omawianych roślin. Wspomniany gatunek izolowano również w 2007 roku z 4 rzek, 2 zbiorników wodnych i kanału melioracyjnego. Stosowanie do podlewania wody ze zbiornika w szkółce skażonej zarodnikami *P. citricola*, spowodowało pojawienie się objawów zarazy wierzchołków pędów [Orlikowski i in. 2007].

W badaniach Orlikowskiego i in. [2010] testowano patogeniczność *P. citricola* w stosunku do 4 gatunków roślin. Różaneczniki oraz olsza okazały się najbardziej wrażliwymi roślinami na tego patogena. Innym gatunkiem tego rodzaju, wykrytym w 2 badanych rzekach, był *P. ramorum*. Izolaty tego gatunku uzyskane z rzek Rawki i Ner kolonizowały tkanki 12 badanych gatunków roślin, przy czym najbardziej wrażliwymi okazały się różaneczniki i lilak, a najmniej wierzba iwa i cis [Orlikowski i in. 2007].

Wiele światowych doniesień o występowaniu *Phytophthora* spp. w wodzie dotyczy obiektów z zamkniętym obiegiem wody. W szkółkach nadmiar wody spływający z kontenerowni gromadzony jest w zbiorniku i uzupełniany wodą z rzeki lub studni głębinowych, a następnie ponownie wykorzystywany do podlewania [Bush i in. 2003]. Głównym ryzykiem związanym z wykorzystaniem systemu z zamkniętym obiegiem wody jest możliwość rozprzestrzeniania patogenów, głównie rodzaju *Phytophthora*, które dostają się do wody wraz z resztkami podłoża i fragmentami liści. Przy powtórny użyciu zanieczyszczonej wody, dochodzi do infekcji kolejnych, zdrowych roślin [Bush i in. 2003, Orlikowski 2006]. O występowaniu i szkodliwości gatunków *Phytophthora* omawianych w niniejszej pracy dowodzą badania Klotza i in. [1959], którzy wykrywali *P. citrophthora* w kanałach i zbiornikach skąd pobierano wodę do nawadniania drzew cytrusowych w południowej Kalifornii. Z kolei Thomson i Allen [1974] izolowali ten gatunek ze zbiornika wykorzystywanego do oczyszczania wody stosowanej do podlewania upraw cytrusowych. Gatunek ten powodował typowe objawy gumozy oraz brązową zgniliznę pędów, korzeni i owoców roślin. Wyniki badań przeprowadzonych przez MacDonalda i in. [1994] wykazały najczęstsze występowanie *P. citrophthora*, a następnie, *P. citricola*, *P. cinnamomi* w zbiornikach wodnych 3 kalifornijskich szkółek, gdzie gromadzono spływający z nich nadmiar wody. *P. cinnamomi* izolowano również ze

strumieni, zbiorników wodnych i kanałów odprowadzających nadmiar wody ze szkółki żurawinowej.

Przedstawione dane oraz uzyskane wyniki badań nad chorobotwórczością izolatów *Phytophthora* z wody wskazują na bardzo duże zagrożenie różnych gatunków roślin w szkółkach, jak również dziko rosnących wzdłuż cieków wodnych oraz na wodę jako istotne źródło tych patogenów.

## WNIOSKI

1. Stwierdzono patogeniczność kultur *Phytophthora cinnamomi* z 3 rzek, 2 stawów i kanału odwadniającego w stosunku do cyprysika Lawsona, lawendy i różanecznika

2. Izolaty *Phytophthora citrophthora* z rzeki, stawu i kanału w szkółce kolonizowały blaszki liściowe i fragmenty pędów ligustru

3. Uzyskane wyniki potwierdzają istniejące już dane wskazujące na wodę jako źródło *Phytophthora* spp.

## BIBLIOGRAFIA

- Baker K.F., Matkin O.A. *Detection and control of pathogens in water*. Ornamentals Northwest. 1978, Apr-May:12-13.
- Bush E.A. Hong C.X., Stromberg E.L. *Fluctuations of Phytophthora and Pythium spp. in components of recycling irrigation system*. Plant Dis. 87, 2003, s. 1500-1506.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K. *Phytophthora diseases worldwide*. APS Press, St. Paul Minnesota. 1996, 562 pp.
- Hong C.X., Moorman G.W. *Plant pathogens in irrigated water: challenges and opportunities*. Critical Rev. in Pl. Sci., 24, 2005, s. 189-208.
- Klotz L. J., Wong P. P., DeWolfe T. A. *Survey of irrigation water for the presence of Phytophthora spp. pathogenic to citrus*. Plant Dis. Rep. 43, 1959, s. 830-832.
- MacDonald J.D., Ali- Shtayeh M.S., Kabashima J. *Occurrence of Phytophthora species in recirculated nursery irrigation effluents*. Plant Dis. 78, 1994, s. 607-611.
- Orlikowski L.B. *Selective medium for the evaluation of biocontrol agents efficacy in the control of soil-borne pathogens*. Bull. Pol. Acad. Sci., Biol. Sci. 47, 1999, s. 167-172.
- Orlikowski L.B. *Relationship between source of water used for plant sprinkling and occurrence of Phytophthora shoot rot and tip blight in container-ornamental nurseries*. J. Plant Prot. Res. 46, 2006, s. 163-168.
- Orlikowski L.B., Trzewik A., Orlikowska T. *Water as potential source of Phytophthora citricola*. J. Plant Prot. Res., 47, 2007, s. 125-132.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T., Wojtkowska M. *Występowanie Phytophthora spp. w wodzie i chorobotwórczość wybranych izolatów Phytophthora citricola dla roślin*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 554, 2010, s. 159 - 164.
- Orlikowski L.B., Szkuta G. *First record of Phytophthora ramorum in Poland*. Phytopathol. Pol. 25, 2002, s. 69-79.
- Thomson S.V., Allen R.M. *Occurrence of Phytophthora species and other potential plant pathogens in recycled irrigation water*. Plant. Dis. Repr. 58, 1974, s. 945-949.
- Trzewik A. Ptaszek M., Orlikowska T., Orlikowski L.B. *Wykorzystanie techniki PCR w identyfikacji Phytophthora do gatunku*. Post. w Ochr. Roś./Prog. in Plant Prot., 48, 2010, s. 246-251.

*Magdalena Ptaszek, Leszek B.Orlikowski , Aleksandra Trzewik, Teresa Orlikowska, Leszek Lenc*

---

*Badania zostały sfinansowane przez Ministerstwo Nauki I Szkolnictwa  
Wyższego, decyzja Nr 475/N-COST/2009/0*

Magdalena Ptaszek  
Leszek B. Orlikowski  
Aleksandra Trzewik  
Teresa Orlikowska  
Instytut Ogrodnictwa  
Konstytucji 3-go Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Leszek Lenc  
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy  
Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Recenzent: *Prof. dr hab. Czesław Rzekanowski*