

*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 Moorman [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].

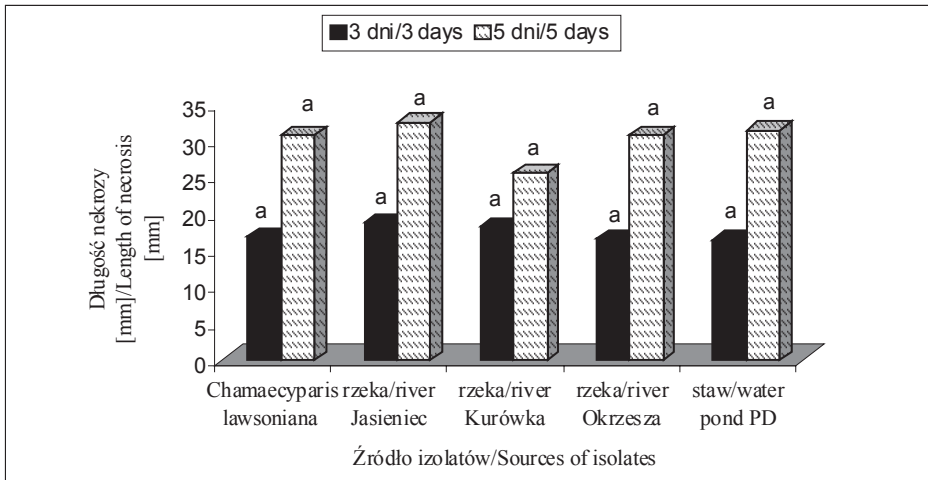
Ocena chorobotwórczości wybranych izolatów *Phytophthora* dla roślin: do testów laboratoryjnych i szklarniowych użyto izolaty *P. cinnamomi* i *P. citrophthora* pochodzące z cieków oraz zbiorników wodnych i dla porównania z roślin żywicielskich. Chorobotwórczość badanych kultur określano w stosunku do 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 mierzone 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).

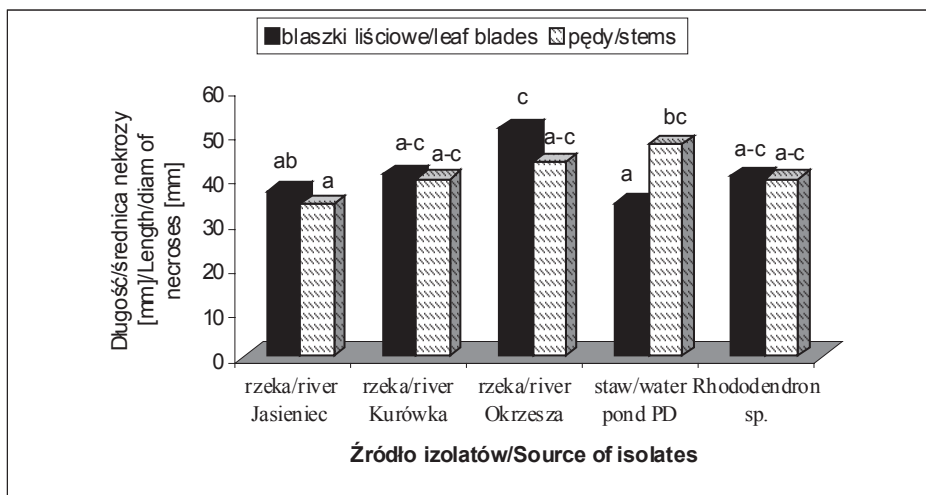
Tabela 1. Wpływ różnych izolatów *Phytophthora cinnamomi* na rozwój zgnilizny pędów lawendy; liczba porażonych roślin (n=5)

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
Lavandula angustifolia	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)

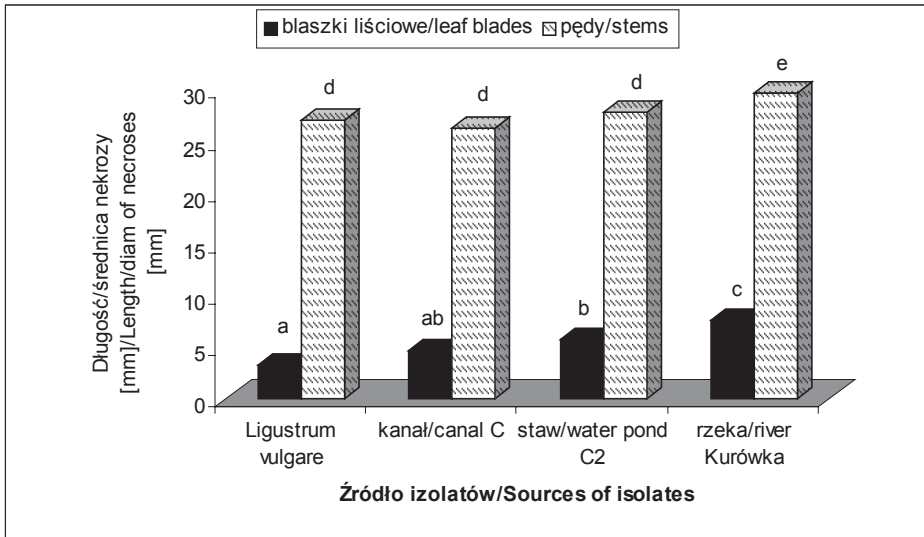
Table 2. Relationship between *Phytophthora cinnamomi* isolates from water and necroses development on *Rhododendron* sp.; number of diseased plants (n=5)

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 powtórnym 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*