



WYKORZYSTANIE PUŁAPEK ROŚLINNYCH DO DETEKЦИИ PATOGENÓW GLEBOWYCH Z WODY I PODŁOŻY OGRODNICZYCH

Leszek B. Orlikowski, Magdalena Ptaszek, Waldemar Treder
Institut Ogrodnictwa w Skierniewicach

UTILIZATION OF PLANT BAITS FOR DETECTION OF SOILBORNE PATHOGENS FROM WATER AND HORTICULTURAL SUBSTRATA

Streszczenie

Wykorzystaniem roślin lub ich części do wykrywania gatunków *Phytophthora* z gleby i wody zainteresowano się w drugiej połowie XX wieku. Dzięki zastosowaniu owoców różnych gatunków roślin ich siewek lub fragmentów, izolowano z gleby i wody najgroźniejsze gatunki tego rodzaju. Celem przeprowadzonych badań było określenie przydatności liści różanecznika jako pułapki do detekcji z wody oraz z podłoży ogrodniczych gatunków rodzaju *Phytophthora*, *Cylindrocladium scoparium*, form specjalnych *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani*. Przy izolacji *Phytophthora* z rzeki, kanału i stawu wierzchołkowe liście różanecznika umieszczano na powierzchni wody i po 4-5 dniach określano liczbę nekrotycznych plam. Ich części wykładano na pożywkę PDA w celu izolacji i identyfikacji gatunków tego rodzaju. Przy detekcji innych gatunków i form spec. *F. oxysporum*, liście różanecznika wykładano do wodnej zawiesiny podłoży w kuwetach i po 3-5 dniach liczono liczbę nekrotycznych plam na ich powierzchni. Fragmenty nekrotycznych tkanek wykładano na pożywkę PDA w celu izolacji i identyfikacji uzyskanych kultur do gatunku. Uzyskane wyniki wykazały, iż metoda pułapkowa oparta na liściach różanecznika może być z powodzeniem stosowana do detekcji z wody

i gleby najgroźniejszych patogenów glebowych roślin. Metoda jest prosta, możliwa do wykorzystania przez cały rok i powszechnie dostępna.

Słowa kluczowe: liście różanecznika, detekcja, patogeny glebowe, woda, podłoża

Summary

Utilisation of plants or their parts for detection of Phytophthora from soil and water was the interesting object in the second part of XX century. Using of fruits, seedlings, seeds of different plant species gave possibility to detect the most dangerous pathogens. In this study the effectiveness of rhododendron leaves as the bait for detection of Phytophthora, Cylindrocladium scoparium, formae spec. of Fusarium oxysporum and Rhizoctonia solani from water and horticultural substrate was estimated. During the detection of Phytophthora from river, canal and water container rhododendron top leaves were placed on the surface of water and after 4-5 days number of necrotic spots/leaf was estimated. Parts of necrotic spots were transplanted on PDA medium for isolation and identification of species. In the detection of other species from substrate, rhododendron leaves were placed in the water suspension of soil and after 3-5 day-incubation number of necrotic spots/leaf was calculated. The necrotic spot parts were transferred on PDA medium for isolation and identification of fungal species. Results obtained indicated on rhododendron leaves as satisfactory bait for detection of the most dangerous pathogens from water and soil. The method is easy for application and may be used for all year round.

Key words: rhododendron leaves, detection, soilborne pathogens, water, substrate

WPROWADZENIE

Wykrywając patogeny z porażonych korzeni lub pędów roślin badacze starają się ustalić również źródło ich pochodzenia. Najbliższym z nich jest gleba lub podłoża ogrodnicze oraz woda stosowana do podlewania bądź nawadniania. Jest bardzo prawdopodobne, że już w starożytności na nawadnianych plantacjach roślin występowały straty z powodu porażania korzeni i podstawy roślin przez patogeny glebowe. Brakuje jednak danych dotyczących tego problemu. W 1921 roku Bewley i Buddin wykryli *Phytophthora cryptogea* w wodzie przeznaczonej do podlewania roślin. Minęło jednak półwiecze zanim naukowcy zainteresowali się glebą, a zwłaszcza wodą jako źródłem organizmów

chorobotwórczych. Thompson i Allen (1974) wykryli w wodzie 50 rodzajów grzybów i organizmów grzybobodobnych, z czego $\frac{1}{4}$ stanowiły patogeny roślin. Wśród mikroorganizmów wyizolowanych z wody przez Honga i Moormana (2005), 70 gatunków należało do organizmów grzybobodobnych, 8 – bakterii, 10 – wirusów, a 13 – pasożytniczych nicieni.

Czy warto się więc tym problemem zajmować? Odpowiedź znajduje się w stwierdzeniu Miligrooma i Peevera (2003), że woda może być najczęstszym i najłatwiejszym źródłem rozprzestrzeniania patogenów w określonym rejonie, kraju, a nawet kontynencie. Przykładem może być fitoftoroza olszy powodowana przez *Phytophthora alni*. Gatunek ten stwierdzono omal w tym samym czasie w Wielkiej Brytanii i we Francji (Gibbs i in. 1999, Streito i in. 2002). W ciągu 5 lat patogen rozprzestrzenił się od Grecji aż do krajów skandynawskich, w tym również w Polsce (Cech i Brandtstetter 2004, Orlikowski i in. 2003). Istnieje więc potrzeba szybkiej, prostej w zastosowaniu, taniej i możliwej do przeprowadzenia przez cały rok detekcji patogenów z wody i gleby. Zdaniem Bakera i Matkina (1978) szczególnie istotne są tu gatunki rodzaju *Pythium* i *Phytophthora*, które w obecności wody tworzą zoosporangia, z których uwalniają się dwuwiciowe zoospory, łatwo przemieszczające się w wodzie. Na zagrożenie cieków i zbiorników wodnych przez gatunki *Phytophthora* oraz ich szkodliwości dla roślin wskazują badania Orlikowskiego i in. (2012). Szybko rosnący, międzynarodowy obrót materiałem roślinnym (Brasier 2008) spowodował, że w minionym ćwierćwieczu zawleczono do kraju dotychczas nie notowane gatunki *Cylindrocladium* i formy specjalne *Fusarium oxysporum*, a także *Rhizoctonia solani*. Możliwości szybkiego wykrywania patogenów z wody i gleby szukano już począwszy od połowy XX wieku. Z uwagi na częste wykrywanie w wodzie i glebie *Phytophthora* spp., temu rodzajowi poświęcono najwięcej uwagi.

Dane przedstawione w tabeli 1 wskazują, że do detekcji *Phytophthora* wykorzystywano różne gatunki roślin i ich organy. Najczęściej stosowanymi były owoce, w tym jabłka i gruszki, wykładane do roztworu glebowego lub też zakażoną glebę umieszczano w otworach w owocach i po stwierdzeniu nekrozy miąższu wykładano jego części na pożywki, w celu izolacji i określenia gatunku *Phytophthora* (Dance i in. 1975, Jenkins 1962, Klemmer i Nakano 1962, Klotz i deWolfe 1955, McIntosh 1964, Molot i Beyeries 1976, Tsao 1960, Zentmyer 1980). Zadawalające wyniki uzyskiwano również stosując do detekcji nasiona konopi lub szafranu, siewki łubinu, eukaliptusa i liście cytryny (Dance i in. 1975, Harris i Bielenin 1986, Ioannou i Grygam 1977, Lee i Varghese 1974, Pratt i Heathem 1972, Erwin i Ribeiro 1996). Hansen i Delatour (1999) z powodzeniem stosowali pułapki roślinne do wykrywania *Phytophthora* spp. w rzekach przepływających przez lasy.

Tabela 1. Wykorzystanie pułapek roślinnych do detekcji gatunków *Phytophthora* z gleby i wody**Table 1.** Utilisation of plant baits for detection of *Phytophthora* species from soil and water

Gatunki <i>Phytophthora</i> <i>Phytophthora</i> species	Rodzaj pułapek Kind of baits	Sposób pułapkowania Baiting manner	Autorzy Authors
<i>P. cactorum</i>	jabłka i gruszki	zanurzyć owoce na kilka dni w zawieszynie gleby. Wyłożyć fragmenty znekrotyzowanych tkanek na pożywkę PDA	McIntosh (1964) Schwinn (1961)
	siewki jabłoni i szafranu	zanurzyć siewki w zawieszynie gleby na 14 dni. Wyłożyć fragmenty znekrotyzowanych tkanek na PDA	Harris i Bielenin (1986)
	owoce truskawek	do otworów w niedojrzałych owoców dodać wilgotnej, zakażonej gleby. Wyłożyć fragmenty znekrotyzowanych tkanek na pożywkę	Molot i Beyries (1976)
<i>P. cinnamomi</i>	owoce i siewki awokado	otoczyć owoce zawiesziną gleby na kilka dni, siewki wysadzić do zakażonej ziemi	Zentmyer (1980)
	owoce grejpfruta i ukorzenione sadzonki	zanurzyć w zawieszynie zakażonej gleby. Fragmenty znekrotyzowanych tkanek wyłożyć na pożywkę	Klemmer i Nakano (1962)
	siewki łubinu	zanurzyć w roztworze porażonej gleby na 5 dni i wyłożyć części chorej tkanki na pożywkę	Pratt i Heather (1972)
	igły cedru i sosny	Zanurzyć w zawieszynie gleby na 3 dni i porażone tkanki wyłożyć na pożywkę	Dance i wsp. (1975)
<i>P. citrophthora</i> <i>P. cryptogea</i> <i>P. drechsleri</i> <i>P. plurivora</i>	owoce awokado, jabłoni, gruszy, cytryny, liście eukaliptusa i azalii, siewki łubinu	Zanurzyć owoce lub liście w zawieszynie gleby na kilka dni, posadzić siewki do zakażonej gleby. Wyłożyć części porażonych tkanek na pożywkę	Dance i wsp. (1975) Klotz i DeWolfe (1958) Tsao (1960)

Gatunki <i>Phytophthora</i> <i>Phytophthora</i> species	Rodzaj pułapek Kind of baits	Sposób pułapkowania Baiting manner	Autorzy Authors
<i>P. nicotianae</i> var. <i>nicotianae</i>	owoce cytryny, pomarańczy, papryki, pomidorów, jabłoni, liście tytoniu	Zanurzyć owoce w wilgotnej glebie na kilka dni. Wyłożyć liście na powierzchnię gleby. Wyłożyć fragmenty porażonych tkanek na pożywkę	Klotz i DeWolfe (1958) Jenkins (1962) Tsao (1960) Lee i Varghese (1974) Ioannou i Grogan (1977)
Wiele gatunków <i>Phytophthora</i>	owoce różnych gatunków roślin i siewki, liście różanecznika, nasiona konopi i szafranu	Owoce, nasiona i siewki zanurzyć w zawieszynie zakażonej gleby na kilka dni. Wyłożyć części porażonych tkanek na pożywkę	Themann i in. (2002)

Celem pracy jest przedstawienie możliwości wykorzystania pułapek z liści różanecznika do detekcji patogenów z rodzajów *Phytophthora*, *Cylindrocladium scoparium*, form specjalnych *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* z wody oraz z podłoża ogrodniczych.

MATERIAŁ I METODY

Detekcja *Phytophthora* spp. z wody

Badania nad występowaniem gatunków *Phytophthora* przeprowadzono w rzece, przepływającej przez tereny ogrodnicze, w kanale oraz stawie usytuowanych w szkółce kontenerowej produkującej drzewa i krzewy liściaste i iglaste, w okresie od kwietnia do września 2012 roku. W odstępach miesięcznych wierzchołki pędów różanecznika odmiany Nova Zembla, zawierających co najmniej 8 liści, umieszczano około 1,5 m od brzegu tak, aby dolna strona blaszek była zanurzona w wodzie. Po 4-5 dniach pułapki wyjmowano z wody, wkładano do worków plastikowych i przewożono do laboratorium. Po dokładnym opłukaniu i osuszeniu pomiędzy 2 warstwami sterylnej bibuły filtracyjnej, na każdej z blaszek liczono liczbę nekrotycznych plam. Następnie blaszki odkażano nad płomieniem palnika i około 5 mm fragmenty nekrotycznych plam wykładano po 20 sztuk na szalki o średnicy 90 mm, z pożywką ziemniaczano-glukozową (PDA). Po 24-48 godzinach inkubacji szalek w 25°C określano liczbę kolonii wyrastających z wyłożonych części nekrotycznych plam. Wybrane kultury przeszczepiano na skosy z PDA, w celu uzyskania izolatów do identyfikacji. Prowadzono ją na podstawie cech morfologicznych kultur i potwierdzano stosując techniki biologii molekularnej.

Detekcja patogenów glebowych z podłoża ogrodniczych

W badaniach uwzględniono:

1. *Cylindrocladium scoparium* i podłoża zakażone przez ten gatunek, pobrane spod wrzosów, kufei, cissusa, pelargonii i różanecznika.
2. Podłoża zakażone przez formy specjalne *Fusarium oxysporum* pobrane spod zamierających roślin eustomy, goździka i papryki.
3. Podłoża zakażone przez *Rhizoctonia solani*, pobrane spod porażonej eustomy, fikusa, różanecznika i tamaryszka.

Po dokładnym wymieszaniu podłoża, usuwano z niego resztki korzeni i ewentualne liście. Następnie 0,5 l podłoża wsypywano do kuwet fotograficznych o wymiarach 35x25x5 cm i zalewano wodą destylowaną tak, aby nad jego powierzchnią było około 1 cm wody. Do każdej z kuwet wkładano po 8 liści różanecznika w ten sposób, aby dolna strona blaszek była pod wodą i okrywano cienką folią. Po 4-5 dniach inkubacji w 22-24°C liście wyjmowano, myto dokładnie pod wodą bieżącą, osuszano i na każdej blaszce liczone liczbę nekrotycznych plam. Dalszy sposób postępowania był taki sam jak przy detekcji *Phytophthora* spp. z wody.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Zastosowanie liści wierzchołkowych różanecznika odmiany 'Nova Zembla' umożliwiło detekcję *Phytophthora* spp. z wody. Gatunki tego rodzaju wykrywano przez cały okres wegetacji, niezależnie od źródła wody (tab. 2). Analiza liczby nekrotycznych plam na liściach pułapkowych wskazuje, że było ich około 3-krotnie więcej, gdy wykładano je do rzeki w kwietniu i maju i około 2-krotnie więcej we wrześniu, w porównaniu do miesięcy letnich. W badanym kanale przepływającym przez szkółkę, w większości miesięcy stwierdzano na liściach pułapkowych od 11 do 16 nekrotycznych plam. Tylko w lipcu było ich 2-krotnie mniej. Z kolei w stawie, usytuowanym w szkółce, najwięcej plam na liściach wyłożonych do wody stwierdzono w maju, a następnie w kwietniu i we wrześniu (tab. 2). Dane te wskazują, że nawożenie i ochrona roślin w szkółkach miała duży wpływ na zmiany w liczebności *Phytophthora* spp. w wodzie. Z uwagi na zagrożenie roślin przez fytoftorozę, producenci stosowali do ochrony roślin już w czerwcu środki zawierające propamokarb, metalaksyl i fosforan glinu, a także stymulatory rozwoju roślin zawierające w swoim składzie chitozan, wyciąg z grejpfruta lub nadtlenek wodoru. Są to związki ograniczające rozwój różnych gatunków *Phytophthora* (Orlikowski 1981, 1982, 2001, 2004, 2007). Ich pozostałości już w stężeniu 5 µg/ml redukują liczebność populacji gatunków tego rodzaju w wodzie (Orlikowski i Ptaszek, nie publ.).

Tabela 2. Częstotliwość detekcji *Phytophthora* spp. z wody w zależności od jej źródła i terminu wykrywania; liczba nekrotycznych plam na liść pułapkowy
Table 2. Frequency of *Phytophthora* spp. detection from water in relation to its source and time of baiting; number of necrotic spots/leaf

Miesiące detekcji Detection months	Rzeka River	Kanał w szkółce Nursery canal	Staw w szkółce Nursery pond
IV	25 c	16 c	18 b
V	24 c	14 bc	42 c
VI	8 a	11 b	8 a
VII	7 a	6 a	8 a
VIII	7 a	14 bc	7 a
IX	14 b	12 b	18 b

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

Niezależnie od źródeł wody stwierdzono występowanie w nich głównie *P. lacustris* i *P. plurivora*, a następnie *P. cinnamomi*, *P. citrophthora* i *P. crypto-gea*. Poza *P. lacustris* są to znane, bardzo groźne patogeny roślin ogrodniczych (Orlikowski i in. 2012). Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze dane uzyskane przez Themann i in. (2002). Autorzy ci wykazali, że zastosowanie do pułapkowania liści różanecznika, dało możliwość wykrycia w wodzie z zamkniętym obiegiem w szkółce pojemnikowej, 12 gatunków rodzaju *Phytophthora* i była to najskuteczniejsza metoda detekcji.

Badania nad wykorzystaniem liści różanecznika do detekcji *Cylindrocladium scoparium* z podłoży ogrodniczych, pobranych spod roślin z objawami zgnilizny korzeni i podstawy pędu wykazały, że niezależnie od rośliny żywicielskiej gatunek ten wykrywano w 5 analizowanych podłożach (tab. 3). Najwięcej nekrotycznych plam stwierdzono na liściach wyłożonych do podłoży spod różanecznika i kufeł, a najmniej spod wrzosa (tab. 3). Analiza zasiedlania liści pułapkowych przez *C. scoparium* wskazuje, że więcej kolonii uzyskano z blaszek wyłożonych do podłoży spod wrzosa, różanecznika i cissusa, aniżeli spod pozostałych 2 roślin (tab. 3). Dane te wskazują na różanecznik nie tylko jako żywiciela dla *C. scoparium*, ale również bardzo dobrą pułapkę do wykrywania tego patogena.

W doświadczeniach nad wykrywaniem form specjalnych *Fusarium oxysporum* z zakażonych podłoży, różanecznik okazał się bardzo dobrą rośliną pułapkową (tab. 4). Większą liczbę plam stwierdzono na liściach wyłożonych do podłoży spod eustomy i papryki aniżeli spod goździka. Można to tłumaczyć różnicowaną liczebnością populacji patogenów w tym środowisku uprawnym.

Analiza liczby kolonii form specjalnych patogena, uzyskanych z nekrotycznych plam wskazuje, że różnice w ich liczbie są niewielkie.

Tabela 3. Skuteczność wykrywania *Cylindrocladium scoparium* z zakażonych podłoży ogrodniczych przy zastosowaniu pułapek z liści różanecznika

Table 3. Efficacy of *Cylindrocladium scoparium* detection from infested horticultural substrata using rhododendron leaf baits

Źródło patogena The pathogen source	Liczba nekrotycznych plam na liść Number of necrotic spots/leaf	Liczba uzyskanych kolonii (n=20) Number of colonies obtained (n=20)
<i>Calluna vulgaris</i> (wrzos)	18,0 a	14,5 ab
<i>Cuphea hyssopifolia</i> (kufea)	43,0 bc	13,0 a
<i>Cissus striata</i> (cissus)	38,0 b	17,5 bc
<i>Pelargonium zonale</i> (pelargonja)	21,8 a	12,5 a
<i>Rhododendron</i> sp. (rózanecznik)	50,8 c	19,0 c

Uwaga: patrz tab. 2

Note: see tab. 2

Tabela 4. Skuteczność wykrywania form spec. *Fusarium oxysporum* z zakażonych podłoży ogrodniczych przy zastosowaniu pułapek z liści różanecznika

Table 4. Efficacy of formae spec. *Fusarium oxysporum* detection from infested horticultural substrata using rhododendron leaf baits

Źródło patogenów Source of pathogens	Liczba nekrotycznych plam na liść Number of necrotic spots /leaf	Liczba uzyskanych kolonii (n=20) Number of colony obtained (n=20)
<i>Eustoma grandiflorum</i> (eustoma)	45,8 b	18,3 ab
<i>Dianthus caryophyllus</i> (goździk szklarniowy)	27,3 a	16,5 a
<i>Capsicum annuum</i> (papryka)	35,3 a	19,3 b

Uwaga: patrz tabela 2

Note: see table 2

Zastosowanie liści różanecznika do wykrywania *Rhizoctonia solani* w podłożach ogrodniczych potwierdziły wyniki uzyskane z detekcji innych patogenów (tab. 5). Mniej nekrotycznych plam na liściach wyłożonych do podłoża spod tamaryszka, uprawianego w szkółce pojemnikowej, można tłumaczyć niższą liczebnością populacji tego patogena wskutek większych wahań temperatury i wilgotności aniżeli w uprawie roślin pod osłonami.

Tabela 5. Skuteczność pułapek z liści różanecznika w wykrywaniu *Rhizoctonia solani* z podłoży ogrodniczych**Table 5.** Efficacy of *Rhizoctonia solani* detection from infested horticultural substrata using rhododendron leaf bait

Źródło patogena Source of pathogen	Średnia liczba nekrotycznych plam na liść Mean number of necrotic spots/ leaf	Średnia liczba uzyskanych kolonii (n=20) Mean number of colonies obtained (n=20)
<i>Dianthus caryophyllus</i> (goździk szklarniowy)	12,8 ab	7,5 a
<i>Eustoma grandiflorum</i> (eustoma)	21,0 c	10,3 b
<i>Rhododendron</i> sp. (różanecznik)	15,5 b	12,3 b
<i>Tamarix parviflora</i> (tamaryszek)	8,5 a	6,5 a

Uwaga: patrz tabela 2

Note: see table 2

Wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań wskazują na różanecznik jako roślinę, którą można z powodzeniem wykorzystywać do wykrywania najgroźniejszych patogenów z wody i podłoży ogrodniczych i zapewne również z gleby. Spowodowane jest to podatnością tej rośliny na około 20 gatunków *Phytophthora* (Orlikowski i Ptaszek 2010) ale również *Cylindrocladium scoparium* (Timonin i Self 1955) i *Rhizoctonia solani* (Orlikowski i Ptaszek, nie publ.). Liście różanecznika są łatwo dostępne i można je wykorzystywać jako pułapki przez cały rok. Ich budowa sprawia, że nie ulegają one rozkładowi w wodzie przez co najmniej tydzień i nie są one źródłem energii dla fauny wodnej.

WNIOSKI

1. Liście z różanecznika okazały się bardzo przydatnymi pułapkami do wykrywania gatunków *Phytophthora*, *Cylindrocladium scoparium*, form specjalnych *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* z wody i podłoży ogrodniczych
2. W przypadku *Phytophthora*, liście z różanecznika dają możliwość detekcji gatunków tego rodzaju przez cały sezon wegetacyjny
3. Pułapkowanie, przy zastosowaniu liści różanecznika, jest możliwe do przeprowadzenia przez wszystkich zainteresowanych określeniem skażenia wody i gleby przez najgroźniejsze patogeny
4. Pułapkowanie jest łatwe do przeprowadzenia, proste w wykonaniu i dające szybką informację o skażeniu wody, podłoży czy gleb przez patogeny.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu Badań Stosowanych PBS3/A8/29/2015

LITERATURA

- Baker K.F., Matkin O.A. 1978. Detection and control of pathogens in water. Ornamental Norwest Newsletter 2 (2): 12-13.
- Bewley W.F., Buddin W. 1921. On the fungus flora of greenhouse water supplies in relation to plant disease. Ann. Appl. Biol. 8 (1): 10-19.
- Brasier C.M. 2008. The biosecurity threat to the UK and global environment from international trade in plants. Plant Pathol. 57 (5): 792-808.
- Cech Th.L., Brandtstetter M. 2004. Development and spread of the *Phytophthora* diseases of alders in Austria. Proc. of the 3rd International IUFRO Working Party "Phytophthora in forests and natural ecosystems", Germany, Freising, 11-17.09.2004, s. 31
- Dance M.H., Newhook F.J., Cole J.S. 1975. Bioassay of *Phytophthora* spp. in soil. Plant Dis. Rep. 59 (6): 523-527.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K. 1996. *Phytophthora* disease worldwide. APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 562
- Gibbs J.N., Lipscombe M.A., Peace A.J. 1999. The impact of *Phytophthora* disease on riparian populations of common alder (*Alnus glutinosa*) in southern Britain. Europ. J. For. Pathol. 29 (1); 39-50.
- Hansen E., Delatour C. 1999. *Phytophthora* species in oak forests of north-east France. Ann. For. Sci. 56 (7): 539-547.
- Harris D.C., Bielenin A. 1986. Evaluation of selective media and bait methods for estimating *Phytophthora cactorum* in apple orchard soils. Plant Pathol. 35 (4): 565-574.
- Hong C.X., Moorman G.W. 2005. Plant pathogens in irrigation water: challenges and opportunities. Critical Rev. in Plant Sci. 24 (3): 189-208.
- Ioannou N., Grogan R.G. 1977. The influence of soil matric potential on the production of sporangia by *Phytophthora parasitica* in relation to its isolation from soil by baiting techniques. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 4: 173.
- Jenkins S.F. 1962. Preliminary studies estimating the disease potential of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* in infested tobacco soils. Plant Dis. Rep. 46: 825-826.
- Klemmer H.W., Nokeno R. Y. 1962. Techniques in isolation of pythiaceous fungi from soil and diseased pineapple tissue. Phytopathology 52 (9): 848-852.(955-956)
- Klotz L.J., deWolfe T.A. 1958. Techniques for isolation *Phytophthora* spp. which attack citrus. Plant Dis. Rep. 42: 675-676.
- Lee B.S., Verghese G. 1974. Studies of the genus *Phytophthora* in Malaysia. I. Isolation techniques, comparative morphology and physiology and reaction to antibiotics. Mal. Agric. Res. 3: 13-21.
- McIntosh D.L. 1964. *Phytophthora* spp. in soils of the Okanagan and Similkameen valleys of British Columbia. Can. J. Bot. 42 (10): 1411-1415.

- Milgroom M.G., Peever T.L. 2003. Population biology of plant pathogens. *Plant Dis.* 87 (6): 608-617.
- Molot P.M., Beyries A. 1976. Contamination *in vitro* de la fraise et de la tomate immature par diverses espèces de *Phytophthora*. *Ann. Phytopathol.* 8: 91-94.
- Orlikowski L.B. 1981. Występowanie i zwalczanie fytoftorazy (*Phytophthora nicotianae* B. de Haan var. *nicotianae*) na siningii. *Pr. Inst. Sad., B*, 6: 127-135.
- Orlikowski L.B. 1982. Evaluation of fungicides for controlling of *Phytophthora* foot rot of gerbera. *Pr. Inst. Sad., B*, 7: 263-269.
- 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 (3): 288-294.
- Orlikowski L.B. 2004. Chemical control of rhododendron twig blight caused by *Phytophthora ramorum*. *J. Plant Prot. Res.* 44 (1): 41-46.
- Orlikowski L.B. 2007. Ochrona roślin ozdobnych w szkółkach pojemnikowych przed fytoftorą. *Prog. Plant Prot./Post. w Ochr. Roślin* 46 (1): 358-365.
- Orlikowski L.B., Oszako T., Szkuta G. 2003. First record of alder *Phytophthora* in Poland. *J. Plant Prot. Res.* 43 (1): 33-39.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T., Szkuta G., Meszka B., Skrzypczak Cz. 2012. Zagrożenie upraw ogrodnich przez gatunki rodzaju *Phytophthora*. *Prog. Plant Prot./Post. w Ochr. Roślin* 52 (1): 92-100.
- Pratt B.H., Heather W.A. 1972. Method for rapid differentiation of *Phytophthora cinnamomi* from other *Phytophthora* species isolated from soil by lupin baiting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 59 (1): 87-96.
- Schwinn F.J. 1961. The detection of *Phytophthora cactorum* (Leb. Et Cohn) Schroet in soil. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft.* 104, 42-44.
- Streito J.C., Legrand P.H., Tabary F., De Vilartay G.J. 2002. *Phytophthora* disease of alder (*Alnus glutinosa*) in France: investigation between 1995 and 1999. *Forest Pathol.* 32 (3): 179-191.
- Themann K., Werres S., Lüttmann R., Diener H.-A. 2002. Observation of *Phytophthora* in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stocks. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 337-343
- Thompson S.V., Allan R.M. 1974. Occurrence of *Phytophthora* species and other potential plant pathogens in recycled irrigation water. *Plant Dis. Repr.* 58 (10): 954-949.
- Timonin M.I., Self R.L. 1955. *Cylindrocladium scoparium* Morgan on azaleas and other ornamentals. *Plant Dis. Rep.* 39: 860-865.
- Tsao P.H. 1960. A serial dilution end-point for estimating disease potentials of citrus phytophthoras in soil. *Phytopathology* 50: 717-724.
- Zentmyer G.A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. of American Phytopathological Soc., St. Paul, Minnesota, Monograph 10, pp.96.

Prof. dr hab. Leszek B. Orlikowski
Mgr Magdalena Ptaszek
Prof. Waldemar Treder
Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3
96-100 Skierniewice
e-mail: leszek.orlikowski@inhort.pl

Wpłynęło: 12.01.2015

Akceptowano do druku: 25.06.2015