

## CIEKI I ZBIORNIK WODNY JAKO POTENCJALNE ŹRÓDŁA *Phytophthora* spp.

**Leszek B. ORLIKOWSKI, Magdalena PTASZEK,  
Aleksandra TRZEWIK, Teresa ORLIKOWSKA**

Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

*Słowa kluczowe: detekcja, gatunek, kolonizacja, Phytophthora, źródło wody*

### Streszczenie

Przedmiotem niniejszych badań było występowanie *Phytophthora* spp. w rzece, kanale szkółkarskim, zbiorniku wodnym w szkółce oraz chorobotwórczość izolatów 4 gatunków tego rodzaju dla olszy i różanecznika. W 3 źródłach wody wykryto 7 gatunków *Phytophthora* oraz taxon *Salixsoil*. W rzece wykryto 5 gatunków, w tym *P. cinnamomi* i taxon *Salixsoil*, w kanale – 5, w zbiorniku wodnym – 4, w tym *P. cambivora*, nie notowanego w innych źródłach. Mniej gatunków wykrywano w I i IV kwartale, ale zawsze izolowano *P. citricola*. Wszystkie izolaty *P. citricola* i *P. citrophthora* kolonizowały liście olszy niezależnie od źródła wody i okresu ich detekcji. Spośród 3 gatunków, użytych do inokulacji liści różanecznika, istotnie najszybszym kolonizatorem okazał się *P. cinnamomi*.

### WSTĘP

Nowe systemy produkcji oraz intensywna uprawa roślin wiąże się z koniecznością częstego podlewania roślin. W przypadku występowania patogenów glebowych są one roznoszone z nadmiarem wody wypływającej z pojemników i często dostają się do lokalnych cieków i zbiorników wodnych. Zdaniem MILIGROOMA i PEEVERA [2003] woda jest najpowszechniejszym i najszybszym źródłem rozprzestrzeniania czynników chorobotwórczych, w tym *Phytophthora*, w obrębie regionu, kraju, a nawet kontynentu. W ostatnim 10-leciu coraz częściej mówi się o roślinnym bioterroryzmie, z możliwością wręcz błyskawicznego rozprzestrzenienia

określonego patogena razem z wodą. Przykładem może być pojawienie się *Phytophthora alni*, jako przyczyny zgnilizny korzeni i podstawy pnia, na nadrzecznych olszach w Wielkiej Brytanii i Francji i rozprzestrzenienie się patogena niemal w całej Europie, w tym w Polsce, w ciągu kilku lat [BRASIER i in. 2004; TRZEWIK i in. 2008]

Wspomniany rodzaj *Phytophthora* został określony przez ZENTMYERA i THORNA [1967] jako czynnik destrukcyjny roślin. Większość spośród ok. dotychczas poznanych 160 gatunków tego rodzaju to groźne lub bardzo groźne patogeny roślin, powodujące straty dochodzące nawet do 100% [ORLIKOWSKI i PTASZEK 2010]. Celem niniejszych badań była detekcja, identyfikacja i ocena chorobotwórczości izolatów *Phytophthora*, uzyskanych z rzeki, kanału i zbiornika wodnego w szkółkach.

## MATERIAŁ I METODY

**Detekcja *Phytophthora* spp. w wodzie.** Jako pułapki do wykrywania *Phytophthora* w wodzie użyto wierzchołkowe liście różanecznika odm. Nova Zembla, bardzo wrażliwej na tę grupę patogenów, stosując metodę opisaną przez THEMANN i WERRES [1998]. Liście pułapkowe wykładano do rzeki Okrzesza oraz do kanału i zbiornika wodnego w szkółkach kontenerowych, usytuowanych w województwach łódzkim i lubelskim. Pułapkowanie prowadzono w odstępach miesięcznych przez cały 2008 r. Po 4–5 dniach liście pułapkowe wyjmowano, przewożono w workach foliowych do laboratorium, a dalszy sposób postępowania był podobny jak w pracy ORLIKOWSKIEGO i SZKUTY [2002].

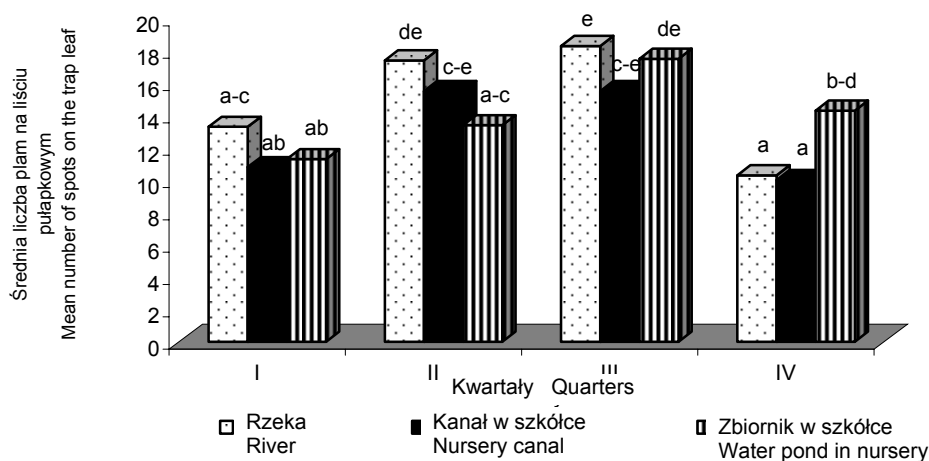
**Izolacja i identyfikacja *Phytophthora* z liści pułapkowych.** W trakcie izolacji tego rodzaju zastosowano metodę opisaną przez ORLIKOWSKIEGO i SZKUTĘ [2002]. Uzyskane izolaty reprezentacyjne oznaczano do gatunku na podstawie ich cech morfologicznych oraz stosując technikę PCR [TRZEWIK i in. 2006; 2010].

**Ocena chorobotwórczości wybranych izolatów *Phytophthora* dla roślin.** Badania przeprowadzono w laboratorium stosując metodę opisaną przez ORLIKOWSKIEGO i in. [2007], polegającą na inokulacji liści kulturami *Phytophthora* spp. i pomiarze wielkości nekrozy. W doświadczeniach wykorzystano izolaty: *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citricola* i *P. citrophthora*, a jako rośliny testowe wybrano olszę i różanecznik. Doświadczenia założono w układzie bloków kompletnie losowanych w 4 powtórzeniach po 5 liści i powtórzono je 2-krotnie w odstępach 2 tygodni.

## WYNIKI

**Detekcja gatunków *Phytophthora* w różnych źródłach wody.** Niezależnie od pory roku oraz źródła wody wykrywano w niej *Phytophthora* spp. W ciągu roku z wody uzyskano 220 izolatów, z czego 40 z rzeki, 100 z kanału i 80 ze zbiornika

w szkółce. Analiza liczby nekrotycznych plam na liściach pułapkowych, jako wskaźnik częstotliwości występowania tej grupy czynników chorobotwórczych, wskazuje na nieznacznie mniejszą ich liczbę w I i IV kwartale 2008 r. (rys. 1). Różnice w liczbie plam na liściach pułapkowych, w zależności od cieku czy zbiornika wodnego są niewielkie i w większości przypadków statystycznie nieistotne. Tylko w IV kwartale istotnie więcej nekrotycznych plam stwierdzono na liściach pułapkowych, wykładanych do zbiornika wodnego w szkółce (rys. 1). Analiza składu gatunkowego *Phytophthora* wskazuje na różnice w ich występowaniu w zależności od źródła wody i okresu detekcji (tab. 1).



Rys. 1. Współzależność między źródłem wody, okresem detekcji *Phytophthora* spp. a kolonizacją liści pułapkowych; średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana; źródło: wyniki własne

Fig. 1. Relationship between water source, period of *Phytophthora* spp. detection and the colonization of trap leaves; means in columns followed by the same letter do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple rank test; source: own studies

W rzece stwierdzono występowanie 4 gatunków oraz taksonu *Phytophthora* Salixsoil, przy czym najwięcej z nich wykrywano w III kwartale. Tylko w rzece stwierdzono występowanie taksonu Salixsoil (tab. 1). W kanale szkółkarskim wykryto 5 gatunków, ale nie stwierdzono w nim *P. cinnamomi*, natomiast wyizolowano *P. cryptogea* (tab. 1). W zbiorniku wodnym, oprócz już wymienionych gatunków, wykryto również *P. cambivora* (tab. 1).

Analiza częstotliwości występowania poszczególnych gatunków wskazuje na dominację *P. citricola* w 3 źródłach wody (tab. 2). Najliczniej izolowano ten gatunek ze zbiornika (69%), a najrzadziej z rzeki (45%). *P. citrophthora*, który wykryto w 3 badanych źródłach wody, stanowił od 2,5 do 15% uzyskanych izolatów, podobnie jak *P. cryptogea* (tab. 2). W analizowanej rzece wykryte *P. cinnamomi*

**Tabela 1.** Gatunki *Phytophthora* spp. wykryte w 2 ciekach i zbiorniku wodnym**Table 1.** *Phytophthora* spp. found in river, nursery canal and water pond

Źródła wody Source of water	Kwartaly 2008 r. Quarters of 2008			
	I	II	III	IV
Rzeka River	<i>P. citricola</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. cactorum</i>	<i>P. cinnamomi</i>
	<i>Phytophthora</i>	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. cinnamomi</i>	<i>P. citricola</i>
	taxon Salixsoil	taxon Salixsoil	<i>P. citricola</i>	
Kanał w szkółce pojemnikowej Nursery canal	<i>P. citricola</i>	<i>P. cambivora</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. citricola</i>
	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. megasperma</i>
	<i>P. megasperma</i>	<i>P. megasperma</i>	<i>P. cryptogea</i> <i>P. megasperma</i>	
Zbiornik w szkółce Water pond in nursery	<i>P. citricola</i>	<i>P. cambivora</i>	<i>P. cambivora</i>	<i>P. citricola</i>
	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. citricola</i>	
		<i>P. citrophthora</i> <i>P. cryptogea</i> <i>P. cryptogea</i>	<i>P. cryptogea</i>	

Źródło: wyniki własne. Source: own studies.

**Tabela 2.** Współzależność pomiędzy źródłem wody a częstotliwością detekcji *Phytophthora* spp.**Table 2.** Relationship between the source of water and the detection frequency of *Phytophthora* spp.

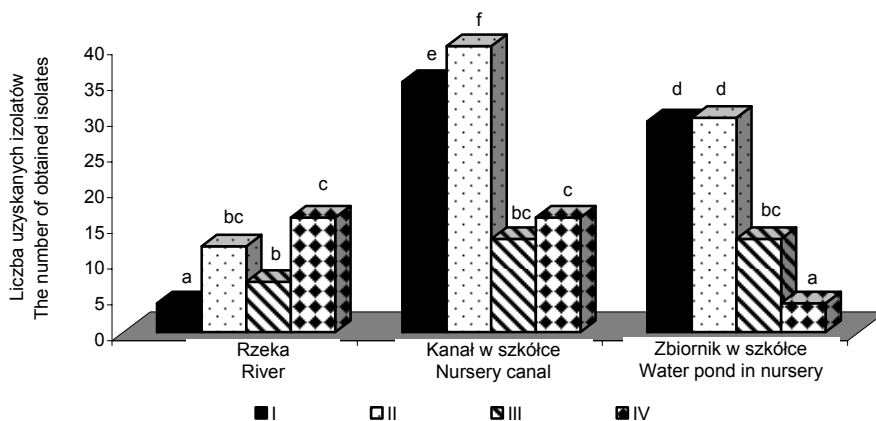
Źródło wody Source of water	Wykryte gatunki <i>Phytophthora</i> Found species of <i>Phytophthora</i>	% uzyskanych izolatów % of obtained isolates
Rzeka River	<i>P. cactorum</i>	2,5 a
	<i>P. cinnamomi</i>	20 b
	<i>P. citricola</i>	45 d
	<i>P. citrophthora</i>	2,5 a
	taxon Salixsoil	30 c
Kanał w szkółce pojemnikowej Nursery canal	<i>P. citricola</i>	57 d
	<i>P. citrophthora</i>	15 b
	<i>P. cryptogea</i>	6 a
Zbiornik w szkółce Water pond in nursery	<i>P. megasperma</i>	22 bc
	<i>P. cambivora</i>	15 b
	<i>P. citricola</i>	69 c
	<i>P. citrophthora</i>	5 a
	<i>P. cryptogea</i>	11 b

Objaśnienie: średnie w kolumnie, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana.

Explanation: means in column followed by the same letter do not differ at 5% of significance acc. to Duncan's multiple rank test.

Źródło: wyniki własne. Source: own studies.

i taxon *Salix* stanowiły odpowiednio 20 i 30% izolatów (tab. 2). Analiza częstotliwości izolacji *Phytophthora* spp., w zależności od źródła wody i pory roku, wskazuje na istotnie częstsze wykrywanie tej grupy patogenów w I i II kwartale w kanale i zbiorniku, a najrzadsze w I i IV kwartale w rzece (rys. 2).



Rys. 2. Częstotliwość wykrywania *Phytophthora* spp. w zależności od źródła wody i czasu detekcji; objaśnienie: jak pod rysunkiem 1; źródło: wyniki własne

Fig. 2. Frequency of *Phytophthora* spp. detection in relation to water source and detection time; explanation as in fig. 1; source: own studies

**Chorobotwórczość izolatów *Phytophthora* spp. dla roślin.** Inokulacja olszy izolatami *P. citricola* i *P. citrophthora*, uzyskanymi z 3 źródeł wody w 4 terminach detekcji (tab. 3), spowodowała rozwój nekrotycznych plam na liściach. W większości przypadków nekrotyczne plamy rozwijały się istotnie szybciej, gdy do inokulacji blaszek liściowych użyto *P. citricola* z rzeki. Niezależnie od źródła wody, izolaty *P. citrophthora* wykryte w lipcu i październiku, kolonizowały liście istotnie wolniej niż *P. citricola* (tab. 3).

Użycie do inokulacji liści różanecznika izolatów *P. cactorum*, *P. cinnamomi* i *P. citricola* z rzeki spowodowało ich kolonizację w ciągu 6 dni inkubacji (tab. 4). Zarówno po 4, jak i 6 dniach od inokulacji nekrotyczne plamy rozszerzały się istotnie najszybciej, gdy blaszki liściowe zakażono *P. cinnamomi*. Nekroza rozwijała się 3,7 mm na dobę, podczas gdy po zakażeniu blaszek *P. cactorum* i *P. citricola* ok. 2-krotnie wolniej (tab. 4).

Użycie do inokulacji liści olszy izolatów wykrytych z 3 źródeł wody od marca do października było spowodowane próbą określenia w jakim stopniu zanieczyszczenie wody resztkami środków ochrony roślin i nawozów miało wpływ na patogeniczność *P. citricola* i *P. citrophthora*. Uzyskane dane wskazują, że to oddziaływanie było niewielkie na pierwszy z gatunków, natomiast drugi z nich istotnie reagował na wpływ warunków zewnętrznych spadkiem patogeniczności. Stwierdzono to szczególnie, gdy do inokulacji liści użyto izolaty uzyskane z wody w lip-

**Tabela 3.** Kolonizacja liści osłsy izolatami *Phytophthora citricola* (A) i *P. citrophthora* (B) w zależności od źródła wody i okresu detekcji; średnica plam na liściach (mm) po 7 dniach od inokulacji

**Table 3.** Colonization of alder leaves by isolates of *Phytophthora citricola* (A) and *P. citrophthora* (B) in relation to water source and detection period; diameter of necrotic spots (mm) 7 days after inoculation

Źródło wody Source of water	Miesiące detekcji izolatów Months of isolates detection							
	III		V		VII		X	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Rzeka River	29,6 gh	28,5 g	28,3 g	13,5 c	26,3 f	12,3 bc	30,3 gh	13,5 c
Kanał w szkółce pojemnikowej Nursery canal	27,5 fg	24,4 f	22,3de	17,0 d	23,0 de	9,8 a	20,0 de	12,0 b
Zbiornik w szkółce Water pond in nursery	25,0 ef	21,5 d	24,0 e	24,8 ef	21,0 d	11,3 b	23,5 e	10,8 ab

Objaśnienie: jak pod tabelą 2. Explanation: as in tab. 2.

Źródło: wyniki własne. Source: own studies.

**Tabela 4.** Kolonizacja liści różanecznika izolatami *Phytophthora* z rzeki, wykrytymi w czerwcu 2008 r.

**Table 4.** Colonization of rhododendron leaves by *Phytophthora* isolates from river found in June 2008

Gatunki <i>Phytophthora</i> <i>Phytophthora</i> species	Średnica plam (mm) po dniach od inokulacji Diameter of spots (mm) after days after inoculation	
	4	6
<i>P. cactorum</i>	5,4 a	10,7 b
<i>P. cinnamomi</i>	10,3 b	22,5 d
<i>P. citricola</i>	6,8 a	13,7 bc

Objaśnienie: jak pod tabelą 2. Explanation: as in tab. 2.

Źródło: wyniki własne. Source: own studies.

cu i października. Średnica plam była co najmniej 2-krotnie mniejsza niż po inokulacji blaszek izolatami uzyskanymi w marcu, niezależnie od źródła wody. Jest prawdopodobne, że najistotniejszą rolę w spadku aktywności izolatów *P. citrophthora* odgrywają metalaksyl i fenamidon, stosowane w szkółkach do ochrony roślin przed gatunkami *Phytophthora* [ORLIKOWSKI i in. 2009].

Uzyskane dane dotyczące detekcji *Phytophthora* spp. w wodzie potwierdzają wyniki badań FERGUSONA i JEFFERSA [1999], OUDEMANS [1999], THOMPSONA i ALLENA [1974] oraz THEMANN i in. [2002], wskazujące na zróżnicowany skład gatunkowy tej grupy patogenów. HONG i MOORMAN [2005] uważają, że skażona woda jest głównym, jeśli nie jedynym, źródłem *Phytophthora* w szkółkach, sadach i warzywnikach. Obecność *P. cactorum*, *P. cambivora*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea* w 3 analizowanych źródłach wody wiąże się z występowaniem tych gatunków w lasach i szkółkach roślin ozdobnych [ORLIKOWSKI i in. 2003; 2004; OSZAKO, ORLIKOWSKI 2005; PTASZEK i in. 2009] a rozprzestrzeniają się głównie z wodą deszczową, w czasie powodzi oraz podlewania roślin. Wyniki ba-

dań wskazują na *P. citricola* jako dominujący gatunek w wodzie. Jest to najprawdopodobniej związane z możliwościami rozwoju tego gatunku już w temperaturze powyżej 6°C [JUNG, BLASCHKE 1996; WERRES 1995], ale również z liczną grupą jego roślin żywicielskich [ORLIKOWSKI, PTASZEK 2010].

## WNIOSKI

1. *Phytophthora* spp. wykrywano w wodzie niezależnie od pory roku.
2. Dominującym gatunkiem okazał się *P. citricola*.
3. Izolaty *P. citricola* i *P. citrophthora* z 3 źródeł wody kolonizowały blaszki liściowe olszy, przy czym bardziej patogeniczny okazał się gatunek *P. citricola*.
4. Izolaty *P. cactorum*, *P. cinnamomi* i *P. citricola* z rzeki zasiedlały liście różanecznika. Nekroza rozwijała się najszybciej w wyniku inokulacji roślin *P. cinnamomi*.

Badania zostały sfinansowane w ramach Programu Wieloletniego, Zadanie 1.8.

## LITERATURA

- BRASIER C.M., KIRK S.A., DELCAN J., COOK D.E.L., JUNG T., MAN IN'T VELD W.A. 2004. *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycological Research*. Vol. 108 s. 1172–1184.
- FERGUSON A.J., JEFFERS S.N. 1999. Detection multiple species of *Phytophthora* in container mixes from ornamental crop nurseries. *Plant Disease*. Vol. 83 s. 1129–1136.
- HONG C.X., MOORMAN G.W. 2005. Plant pathogens in irrigation water: challenges and opportunities. *Critical Reviews in Plant Sciences*. Vol. 24 s. 189–208.
- JUNG T., BLASCHKE H. 1996. *Phytophthora* root rot in declining forest trees. *Phyton*. Vol. 36 s. 95–101.
- MILIGROOM M.G., PEEVER T.L. 2003. Population biology and plant pathogens. *Plant Disease*. Vol. 87 s. 608–617.
- ORLIKOWSKI L.B., DUDA B., SZKUTA G. 2004. *Phytophthora citricola* on European beech and silver fir in Polish forest nurseries. *Journal Plant Protection Research*. Vol. 44 s. 57–64.
- ORLIKOWSKI L.B., OSZAKO T., SZKUTA G. 2003. First record of alder *Phytophthora* in Poland. *Journal Plant Protection Research*. Vol. 43 s. 33–40.
- ORLIKOWSKI L.B., PTASZEK M. 2010. Narastające problemy występowania chorób w pojemnikowej produkcji roślin ozdobnych. *Postępy w Ochronie Roślin/Progress in Plant Protection*. Vol. 50 (2) s. 678–686.
- ORLIKOWSKI L.B., PTASZEK M., TRZEWIK A., ORLIKOWSKA T. 2009. Increase of plant threat by *Phytophthora* species in Poland. *Phytopathologia Polonica*. T. 48 s. 39–43.
- ORLIKOWSKI L.B., SZKUTA G. 2002. Dieback of *Pieris japonica* caused by *Phytophthora citrophthora*. *Acta Mycologica*. Vol. 36 s. 251–256.
- ORLIKOWSKI L.B., TRZEWIK A., ORLIKOWSKA T. 2007. Water as potential source of *Phytophthora citricola*. *Journal Plant Protection Research*. Vol. 47 s. 125–132.
- OSZAKO T., ORLIKOWSKI L.B. 2005. Pierwsze dane o występowaniu *Phytophthora cinnamomi* na dębie szypułkowym w Polsce. *Sylvan*. Nr XX s. 1–7.

- OUDEMANS P.V. 1999. *Phytophthora* species associated with cranberry root rot and surface irrigation water in New Jersey. Plant Disease. Vol. 83 s. 251–258.
- PTASZEK M., ORLIKOWSKI L.B., SKRZYPCZAK Cz. 2009. Zagrożenie upraw bylin przez *Phytophthora cryptogea*. Postępy w Ochronie Roślin. Progress in Plant Protection. Vol. 49 s. 701–704.
- THEMANN K., WERRES S. 1998. Verwendung von Rhododendronblättern zum Nachweis von *Phytophthora*-Arten in Wurzeln- und Bodenproben. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes. Nr 50 s. 37–45.
- THEMANN K., WERRES S., LUTTMANN R., DIENNER H.A. 2002. Observation of *Phytophthora* in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stock. European Journal Plant Pathology. Vol. 108 s. 337–343.
- THOMPSON S.V., ALLEN R.M. 1974. Occurrence of *Phytophthora* species and other potential plant pathogens in recycled irrigation water. Plant Disease Report. Vol. 58 s. 945–949.
- TRZEWIK A., PTASZEK M., ORLIKOWSKA T., ORLIKOWSKI L.B. 2010. Wykorzystanie techniki PCR w identyfikacji *Phytophthora* do gatunku. Postępy w Ochronie Roślin/Progress in Plant Protection. Vol. 48 s. 246–251.
- TRZEWIK A., ORLIKOWSKA T., OSZAKO T. 2008. Zagrożenie olszy czarnej przez *Phytophthora alni* w Polsce. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. Z. 529 s. 227–233.
- TRZEWIK A., WIEJACHA K., ORLIKOWSKI L.B., ORLIKOWSKA T. 2006. Identification of five *Phytophthora* species, causing agents of diseases of nursery perennials, trees and shrubs on the base of DNA markers amplified with non-specific primers. Phytopathologia Polonica. T. 41 s. 27–37.
- WERRES S. 1995. Influence of *Phytophthora* isolate and the seed source on the development of beech (*Fagus sylvatica*) blight. European Journal Forest Pathology. Vol. 25 s. 381–390.
- ZENTMYER G.A., THORN W.A. 1967. Hosts of *Phytophthora cinnamomi*. Avocado Society Yearbook. Vol. 51 s. 177–186.

Leszek B. ORLIKOWSKI, Magdalena PTASZEK, Aleksandra TRZEWIK, Teresa ORLIKOWSKA

### **RUNNING WATERS AND A POND AS POTENTIAL SOURCES OF *Phytophthora* spp.**

*Key words:* colonization, detection, *Phytophthora*, species, source of water

#### S u m m a r y

The subject of this study was the occurrence of *Phytophthora* spp. in a river, canal and water reservoir in forest nursery and the pathogenicity of 4 isolates of this genus to alder tree and rhododendron. Seven species of *Phytophthora* and the Salixsoil taxon were found in 3 water sources. There were 5 species in the river, including *P. cinnamomi* and the taxon Salixsoil, 5 species in the canal and 4 in the pond including *P. cambivora* not noted in other water sources. Less species were noted in the first and fourth quarter of a year but *P. cambivora* was always isolated. All isolates of *P. citricola* and *P. citrophthora* colonized alder leaves irrespective of water source and period of detection. From among 3 species used to inoculate rhododendron leaves, *P. cinnamomi* appeared the significantly fastest colonizer.

#### Recenzenci:

prof. dr hab. Wiesław Barabasz

prof. dr hab. Stefan Russel

Praca wpłynęła do Redakcji 08.03.2011 r.