INFRASTRUKTURA I EKOLOGIA TERENÓW WIEJSKICH
INFRASTRUCTURE AND ECOLOGY OF RURAL AREAS

Nr 5/2011, POLSKA AKADEMIA NAUK, Oddział w Krakowie, s. 263–270
Komisja Technicznej Infrastruktury Wsi

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

WPŁYW ŹRÓDŁA WODY NA CZĘSTOTLIWOŚĆ WYSTĘPOWANIA *PHYTOPHTHORA*

INFLUENCE OF WATER SOURCES ON FREQUENCY OF PHYTOPHTHORA OCCURRENCE

Streszczenie

Badano obecność gatunków rodzaju *Phytophthora* w rzekach Jasieniec, Pisia i Wisła, 2 kanałach oraz 2 stawach. Jasieniec i Pisia przepływają przez tereny ogrodnicze w województwie łódzkim i mazowieckim, natomiast Wisłę badano na odcinku Puław. Kanały oraz stawy znajdują się w pobliżu, bądź na terenie gospodarstw szkółkarskich i są źródłem wody do podlewania upraw. Do wykrywania *Phytophthora* w wodzie zastosowano pułapki z liści różanecznika odmiany 'Nova Zembla', bardzo wrażliwej na *Phytophthora* spp. Pułapki zastawiano w każdym miesiącu od marca do listopada. Miarą liczebności *Phytophthora* spp. w wodzie była liczba nekrotycznych plam na liściach pułapkowych. Występowanie *Phytophthora* stwierdzono we wszystkich źródłach wody, niezależnie od okresu detekcji. W kanałach najwięcej plam na liściach odnotowano w maju i czerwcu, a w rzekach Jasieniec i Pisia oraz w stawach w marcu, kwietniu, maju oraz we wrześniu, październiku i listopadzie, natomiast w Wiśle w maju. Najczęściej izolowanym gatunkiem był *P. citricola*. Stosunkowo często izolowano *P. cryptogea*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora* oraz *P*. taxon Salixsoil, a najrzadziej *P. cactorum*, *P. cambivora* oraz *P megasperma*.

Słowa kluczowe: rzeki, kanały, stawy, liście pułapkowe, *Phytophthora*, częstotliwość występowania

Summary

Influence of water source on frequency of Phytophthora occurrence was the purpose of this study. Phytophthora spp. was detected in 3 rivers, 2 canals and 2 ponds. Rivers were situated in different part of Poland. Two of them (Jasieniec and Pisia) is following through horticulture areas, whereas Wisła – through area

with hardy ornamental nursery stocks. Water canals and ponds are situated nearly or in nursery. Rhododendron leaves baits cv. 'Nova Zembla' were used for detection Phytophthora in water from March to November. Number of necrotic spots on baiting leaves was the measure of population density of Phytophthora in water. Phytophthora spp. were detected from water from March to November. In canals, the most of necrotic spots on baiting leaves were observed in May and June. In rivers Jasieniec and Rawka and water ponds significantly more necrotic spots on baiting leaves were noticed in March, April, May and in September, October and November. P. cirticola was recovered as the most often occurring species and next P. cryptogea, P. cinnamomi, P. citrophthora, P. taxon Salixsoil.

Key words: *rivers, canals, ponds, leaf bait, Phytophthora, frequency of occurrence*

WPROWADZENIE

Gatunki rodzaju *Phytophthora* (z greckiego *phyto* – roślina, *phthora* – niszczyciel) to pierwotne patogeny glebowe, o wysokim stopniu pasożytnictwa w stosunku do roślin żywicielskich. Występują na wszystkich kontynentach poza Antarktydą, powodując niekiedy znaczne straty w ekosystemach, a w szczególności w szkółkach roślin ozdobnych i leśnych [Orlikowski i in. 2009]. Obecnie znanych jest ponad 100 gatunków tego rodzaju [CABI Bioscience database 2008], z których większość to groźne patogeny roślin, powodujące zgniliznę korzeni i podstawy pędu [Orlikowski i in. 2009]. W Polsce coraz częściej izoluje się gatunki rodzaju *Phytophthora* z chorych roślin, gleby i wody [Orlikowski i in. 2008; Trzewik i in. 2008]. Okres ostatnich kilku lat to czas wzrastającego zainteresowania wodą, jako jednego z głównych źródeł tej grupy patogenów. Związane jest to m. in., z masowym zamieraniem olszy od Grecji po Szwecję, powodowanym przez podgatunki *Phytophthora alni* [Cech 2004]. Hong i Moorman [2005] uważają, że woda zakażona przez *Phytophthora* spp. jest głównym, jeśli nie jedynym źródłem tych patogenów w szkółkach, sadach i uprawach warzyw. Dodatkowo woda daje możliwości rozwoju i rozprzestrzeniania patogenów bardzo szybko i na znaczne odległości od miejsca wystąpienia choroby. Orlikowski [2006, 2009] podaje, że woda pobierana ze zbiorników w szkółkach do nawadniania może być głównym źródłem *P. citricola*, gatunku powodującego zarazę wierzchołków świerka, jodły, żywotnika, cyprysika Lawsona, różanecznika oraz wrzosów. Ponadto, obok nadmiaru wody spływającej do zbiorników ze szkółki w czasie podlewania roślin, dodatkowym źródłem *Phytophthora* spp. może być woda uzupełniana z miejscowych strumieni lub rzek. Orlikowski i in. [2007] stwierdzili, że woda do podlewania roślin z innych źródeł niż studnie głębinowe, może być nośnikiem chorobotwórczych gatunków *Phytophthora*, które poprzez systematyczny wzrost ich liczebności w podłożu i na powierzchni tkanek mogą, stanowić zagrożenie dla roślin w szkółkach.

Celem badań było określenie składu gatunkowego *Phytophthora* oraz częstotliwości występowania patogenów tego rodzaju w rzekach, kanałach oraz stawach.

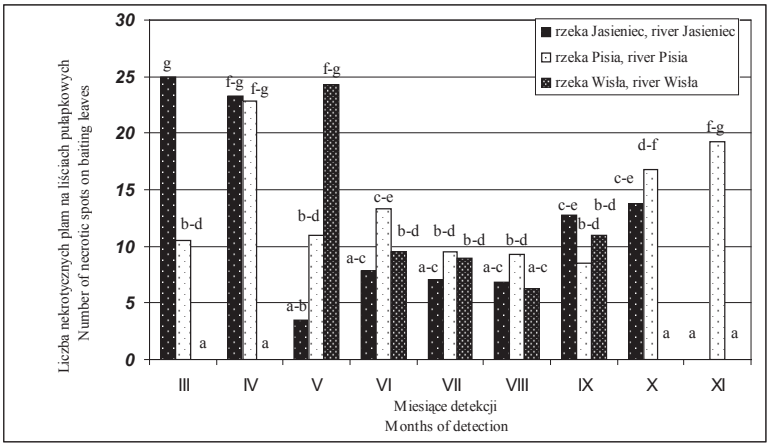
MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w rzekach: Jasieniec, Pisia i Wisła, 2 kanałach oraz 2 stawach. Jasieniec i Pisia są rzekami przepływającymi przez tereny ogrodnicze w województwie łódzkim i mazowieckim, natomiast Wisłę badano na odcinku Puław. Okolice Puław są jednym z większych regionów szkółkarskich w Polsce. Kanały oraz stawy znajdują się w pobliżu, bądź na terenie gospodarstw szkółkarskich i są źródłem wody do podlewania upraw.

Do wykrywania *Phytophthora* spp. w wodzie użyto liści różanecznika odmiany 'Nova Zembla', które umieszczano w wodzie od marca do listopada 2009 roku, w odstępach miesięcznych. Pędy z 6-8 liśćmi przywiązywano do sznurka o długości 3-4 metra i wrzucano do wody. Po 4-5 dniach pędy wyjmowano, wkładano do worków foliowych i przewożono do laboratorium. Po opłukaniu pod bieżącą wodą określano liczbę nekrotycznych plam na liściach, następnie liście płukano w wodzie destylowanej, osuszano pomiędzy warstwami bibuły filtracyjnej, odkażono nad płomieniem i fragmenty z plamami wykładano na agar ziemniaczano-glukozowy (PDA, Merck). Po 2 dniach inkubacji w ciemności, w temperaturze 24^{o}C, wyrastające wokół skrawków kolonie przeszczepiano na skosy, zawierające pożywkę PDA. Izolaty oznaczono do gatunków stosując techniki molekularne [Trzewik i in. 2010].

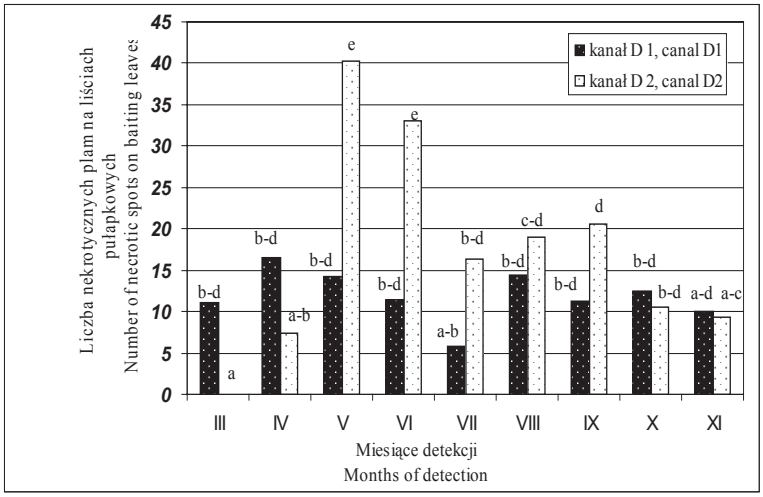
OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obecność *Phytophthora* spp. stwierdzono we wszystkich badanych rzekach, kanałach oraz stawach w okresie od marca do listopada. Analiza liczby plam na liściach pułapkowych różanecznika, jako miara liczebności gatunków *Phytophthora* w wodzie wykazała, że termin oraz miejsce zastawiania pułapek miało istotne znaczenie dla częstotliwości izolowania tej grupy patogenów. Istotnie więcej nekrotycznych plam na liściach pułapkowych stwierdzano w kanałach w maju i czerwcu, natomiast w rzekach Jasieniec i Pisia oraz 2 stawach w marcu, kwietniu, maju oraz we wrześniu, październiku i listopadzie (rys. 1-3). Niższą latem, aniżeli wiosną i jesienią, liczbę nekrotycznych plam na pułapkowych liściach różanecznika Themann i in. [2002] tłumaczą obecnością w wodzie fungicydów oraz częstym jej pobieraniu ze zbiorników do podlewania roślin i uzupełnianiem ze studni głębinowych. Orlikowski i in. [2007] stwierdzili, że w analizowanych źródłach wody *Phytophthora* spp. nie wykrywano tylko w studniach głębinowych.



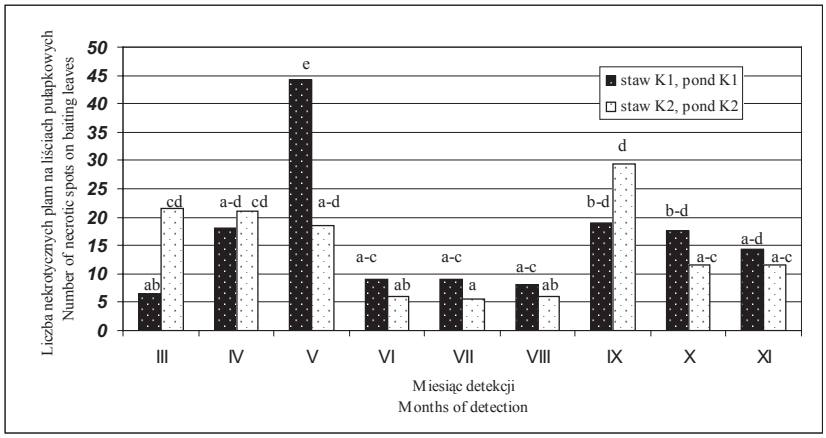
Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana; Mean values marked with the same letter do not differ at 5% significance level acc. to Duncan's multiple range test.

Rysunek 1. Liczba plam nekrotycznych na liściach pułapkowych w zależności od źródła wody i terminu detekcji
Figure 1. Number of necrotic spots on baiting leaves depending on water sources and period detection



Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana; Mean values marked with the same letter do not differ at 5% significance level acc. to Duncan's multiple range test.

Rysunek 2. Liczba plam nekrotycznych na liściach pułapkowych w zależności od źródła wody i terminu detekcji
Figure 2. Number of necrotic spots on baiting leaves depending on water sources and period detection



Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana; Mean values marked with the same letter do not differ at 5% significance level acc. to Duncan's multiple range test.

Rysunek 3. Liczba plam nekrotycznych na liściach pułapkowych w zależności od źródła wody i terminu detekcji
Figure 3. Number of necrotic spots on baiting leaves depending on water sources and period detection

Przeprowadzone badania wskazują na zróżnicowany skład gatunkowy *Phytophthora* w analizowanych źródłach wody. W rzekach odnotowano 4 gatunki, natomiast w kanałach oraz stawach odpowiednio 5 i 6 (tab. 1).

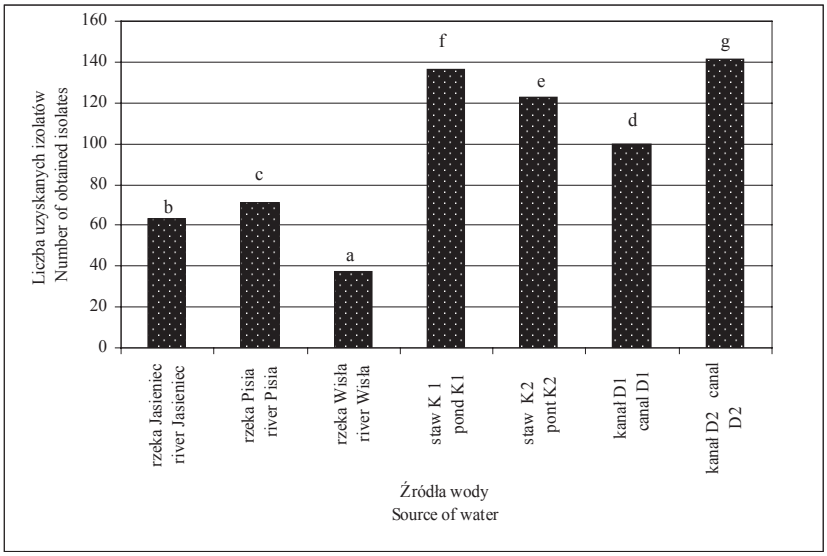
Tabela 1. Gatunki *Phytophthora* uzyskane z rzek, kanałów i stawów
Table 1. *Phytophthora* species obtained from rivers, canals and ponds

Gatunki *Phytophthora* *Phytophthora* species	Rzeki Rivers	Kanały Canals	Stawy Ponds
P. cactorum	-	-	+
P. cambivora	+	-	-
P. cinnamomi	-	+	+
P. citricola	+	+	+
P. citrophthora	-	+	+
P. cryptogea	-	+	+
P. megasperma	+	-	-
P. taxon Salixsoil	+	+	+

Wyniki wskazują na związek między składem gatunkowym *Phytophthora* w wodzie, a usytuowaniem rzek, kanałów i stawów. W rzekach, które przepływają przez tereny ogrodnicze stwierdzono, oprócz *P. megasperma* i *P.* taxon Salixsoil, także *P. cambivora* oraz *P. citricola*. Dwa ostatnie gatunki coraz częściej są spotykane jako patogeny roślin drzewiastych, iglastych oraz bylin [Orli-

kowski i in. 2009]. Również w kanałach i stawach usytuowanych w pobliżu, bądź na terenie gospodarstw szkółkarskich zaobserwowano podobne współzależności. Izolowane z kanałów gatunki *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, a w stawach dodatkowo jeszcze *P. cactorum*, są znanymi czynnikami chorobotwórczymi w szkółkach roślin ozdobnych. Obecność w/w gatunków *Phytophthora* w stawach i kanałach jest zapewne związana z ich występowaniem w szkółkach: *P. cinnamomi* na roślinach iglastych, *P. citricola* na roślinach iglastych i liściastych, *P. cactorum* na roślinach wrzosowatych [Orlikowski i in. 2009], *P. citrophthora* głównie na roślinach liściastych, a *P. cryptogea* na bylinach [Orlikowski i in. 2010]. Dodatkowo, ze wszystkich badanych źródłach wody izolowano *P*. taxon Salixsoil, który wg Nechwatal i Mendgen [2006] uważany jest za potencjalnego patogena wywołującego zgniliznę korzeni roślin nadrzecznych. Prowadzone były badania nad patogenicznością tego izolatu w stosunku do roślin uprawianych w szkółkach [Orlikowski i in. niepublik].

Ghimire i in. [2009] podają, że na zróżnicowanie gatunków występujących w wodzie ma wpływ zakres i liczba uprawianych roślin oraz geograficzne położenie szkółek. Obecne badania potwierdzają tę opinię. Spływający ze szkółek nadmiar wody wraz z zarodnikami *Phytophthora* trafia do rzek i zbiorników wodnych, zanieczyszczając je i dając możliwość ich roznoszenia na duże odległości. Ponadto analizując liczbę uzyskanych izolatów (rys. 4), potwierdzono wcześniejsze dane Ghimire i in. [2009] odnośnie usytuowania szkółki.



Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (5%) wg testu Duncana; Mean values marked with the same letter do not differ at 5% significance level acc. to Duncan's multiple range test

Rysunek 4. Liczba uzyskanych izolatów w zależności od miejsca pułapkowania
Figure 4. Number of obtained isolates depending on sources water

Rzeki przepływają co prawda przez tereny ogrodnicze, lecz szkółki są usytuowane w pewnym od nich oddaleniu, stąd niewielka liczba izolatów, od ok. 40 w Wiśle do 70 w rzece Pisi (rys. 4). Liczba izolatów *Phytophthora* z kanałów i stawów, które znajdują się na terenie bądź w niewielkiej odległości od szkółek była dwukrotnie, a w przypadku stawu nawet trzykrotnie większa (rys. 4).

WNIOSKI

1. Występowanie gatunków *Phytophthora* stwierdzono w badanych rzekach, kanałach oraz stawach od marca do listopada.
2. Stwierdzono istotne różnice pomiędzy terminem zastawiania liści różanecznika w wodzie, a liczbą nekrotycznych plam na liściach pułapkowych. W kanałach najwięcej plam na blaszkach liściowych odnotowano w maju i czerwcu, natomiast w rzekach Jasieniec i Pisia oraz w stawach, najwięcej plam stwierdzono w marcu, kwietniu, maju oraz we wrześniu, październiku i listopadzie. Tylko w Wiśle nie wykrywano w tych miesiącach *Phytophthora*.
3. Spośród zidentyfikowanych gatunków *Phytophthora* najczęściej izolowano *P. citricola*, stosunkowo często *P. cryptogea*, *P. cinnamomi, P. citrophthora* oraz *P*. taxon Salixsoil, a najrzadziej *P. cactorum P. cambivora* oraz *P. megasperma*.

Badania finansowane w ramach Programu Wieloletniego, Zadanie 1.8

BIBLIOGRAFIA

Cech T.L. *Development and spread of the Phytophthora disease of alders in Austria.* Proc. of 3rd IUFRO Working Party "*Phytophthora* in forest and natural ecosystems", Freising, Germany, 2004, s. 31.

Ghimre S.R., Richardson P.A., Moorman G.W., Lea-Cox J.D., Ross D.S., Hong C.X. *An in –situ baiting bioassay for detection Phytophthora species in irrigation runoff containment basins*. Plant Pathol., 58, 2009, s. 577-583.

Hong C.X., Moorman G.W. *Plant pathogens in irrigation water: challenges and opportunities.* Rev. Plant Sci., 24, 2005, s. 189-208.

Nechwatal J., Mendgen K. *Widespread detection of Phytophthora taxon Salixsoil in the littoral zone of Lake Constance, Germany*. E. J. of Plant Pathol., 114, 2006, s. 261-264.

Orlikowski L.B. *Relationship between source of water, used for plant sprinkling, and occurrence of Phytophthora shoot rot tip blight in container-ornamental nurseries.* J. Plant Prot. Res., 46(2), 2006, s. 163-168.

Orlikowski L.B., Trzewik A., Orlikowska T. *Woda jako potencjalne źródło Phytophthora spp. w szkółkach roślin ozdobnych*. Mat. z konferencji „Problemy i perspektywy produkcji szkółkarskiej roślin ozdobnych" Skierniewice, 2007, s. 189-193.

Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. *Increase of plant threat by Phytophthora species in Poland.* Phytopathol. Pol., 48(2), 2008, s. 39-43.

Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. *Water as the source of Phytophthora spp. pathogens for horticultural plants.* Sodininkyste ir Darzinikyste, 28(3), 2009, s. 145-151.

Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. *The occurrence and isolate differentiation of Phytophthora spp. in polish ornamental nursery stocks*. First Serbian Forestry Congress "Future with Forests", 11-13 November, 2010, Belgrade.

Themann K., Werres S., Lüttmann R., Diener H.A. *Observations of Phytophthora spp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stock.* E. J. Plant Pathol., 108, 2002, s. 337-343.

Trzewik A., Orlikowska T., Oszako T. *Zagrożenie olszy czarnej przez Phytophthora alni w Polsce.* Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 529, 2008, s. 227-233.

Trzewik A., Ptaszek M., Orlikowska T., Orlikowski L.B. *Wykorzystanie techniki PCR w identyfikacji Phytophthora do gatunku*. Post. w Ochr. Roś./Progr. in Plant Prot., 48, 2010, s. 246-251.

Mgr Aleksandra Trzewik
Prof. dr hab. Leszek B. Orlikowski
Prof. dr hab. Teresa Orlikowska
Mgr Magdalena Ptaszek
Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3
96-100 Skierniewice
e-mail: Aleksandra.Trzewik@insad.pl

Recenzent: *Prof.dr hab. Czesław Rzekanowski*