

Podatność polskich proveniencji i rodów dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) na zasiedlenie przez *Phytophthora cambivora*

Susceptibility of Polish provenances and families of pedunculate oak (*Quercus robur* L.)
to colonization by *Phytophthora cambivora*

Robert Jankowiak¹✉, Jacek Banach², Angelika Balonek¹

Uniwersytet Rolniczy, Wydział Leśny, Al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków; ¹ Katedra Fitopatologii, ² Katedra Genetyki
i Selekcji Drzew Leśnych

✉Tel. +48 12 6625039; e-mail: rljankow@cyf-kr.edu.pl

Abstract. *Phytophthora cambivora* (Straminipila, Oomycota) causes root rot and stem canker on several deciduous tree species in Europe. However, very little is known about the variation in susceptibility to *P. cambivora* colonization among provenances and families of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). We studied variation in susceptibility of one French and 16 Polish provenances, representing 62 families. Samples were taken from three test plots located in the Brzesko Forest District. Oak susceptibility to *P. cambivora* was assessed by measuring lesion length following inoculation of excised shoots with two isolates of *P. cambivora*. There was significant variability in susceptibility among the 17 provenances tested. The highest susceptibility to *P. cambivora* was apparent in several provenances including Tronçais, Zaporowo, Runowo, Opole, and Krotoszyn; while the most resistant provenances originated from Chojnów, Siedlce, Płock, Krotoszyn-90 and Wioska. There was also significant within-provenances variation in susceptibility to *P. cambivora*.

Key words: defense, family, *Phytophthora cambivora*, provenances, resistance, shoot, susceptibility.

1. Wstęp

Zamieranie dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) jest obserwowane w Europie od ponad dwustu lat. Zjawisko to ma najczęściej charakter masowy, z okresami większego i mniejszego nasilenia choroby (Thomas et al. 2002). W Polsce symptomy obumierania drzewostanów dębowych były wielokrotnie rejestrowane na obszarze Płyty Krotoszyńskiej, a także w zachodniej i północnej części kraju (Oszako et al. 2009). Wzmoczone wydzielanie drzew widoczne jest także obecnie (Tarasiek, Szczepkowski 2006). Duży obszar występowania tego zjawiska, różne siedliska, różny wiek i pochodzenie drzew wskazują, że za ten proces chorobowy odpowiedzialne są czynniki zarówno abiotyczne, jak i biotyczne. Zamieranie rozpoczyna się często od niedoboru

wody w okresie wegetacyjnym, uszkodzeń od mrozów lub późnych przymrozków, później pojawiają się także szkody od owadów i patogenicznych grzybów. Efektem tego jest defoliacja lub uszkodzenia mrozowe, a w konsekwencji osłabienie i wydzielanie się drzew w drzewostanie (Thomas et al. 2002; Oszako 2007).

Groźnymi patogenami, które przyczyniają się do uszkodzenia systemu korzeniowego dębów, są organizmy z rodzaju *Phytophthora*. Te grzybopodobne lęgniowce mogą być przyczyną powstawania bardzo charakterystycznych objawów chorobowych towarzyszących zamieraniu dębu. Częstym symptomem związanym z infekcją drzew przez *Phytophthora* spp. są nekrozy połączone z wyciekami śluzu na pniach, szczególnie w dolnych ich partiach. Z biegiem czasu nekrozy kory i miazgi mogą zająć znaczną część obwodu pnia,

czego skutkiem jest zamieranie i żółknięcie liści w koronie drzew, a w końcowym etapie choroby nawet obumarcie całego drzewa (Jung et al. 2000; Vettraino et al. 2002; Jönsson et al. 2003). W Polsce znaczenie i występowanie organizmów z rodzaju *Phytophthora* w lasach jest jeszcze mało zbadane. W drzewostanach dębowych do tej pory stwierdzono obecność *Phytophthora uliginosa* T. Jung & E.M. Hansen (Jung et al. 2000), *P. quercina* T. Jung, *P. hedraiandra* De Cock & E.M. Hansen (Cordier et al. 2009), *P. cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt., *P. pseudosyringae* T. Jung & Delatour, *P. plurivora* T. Jung & T.I. Burgess (Olejarski et al. 2012) i *P. cambivora* (Petri) Buisman (Stępniewska et al. 2008). Ostatni wymieniony gatunek wydaje się być, obok *P. plurivora* i *P. quercina*, patogenem najczęściej infekującym korzenie drobne dębu szypułkowego w Polsce (Olejarski et al. 2012; Stępniewska, Jankowiak, niepublikowane). Gatunek ten jest pospolitym patogenem drzew liściastych w Europie (Brasier 2000; Jung et al. 2005), a na dębie szypułkowym został stwierdzony we Francji (Camy et al. 2003), Niemczech (Jung et al. 2000), Włoszech (Vettraino et al. 2002) oraz Szwecji (Jönsson et al. 2003). Stosunkowo wysoka agresywność *P. cambivora* w stosunku do różnych gatunków drzew liściastych została potwierdzona w licznych doświadczeniach infekcyjnych (Brasier, Kirk 2001; Saavedra et al. 2007; Balci et al. 2008).

Studia nad zmiennością wewnątrzgatunkową dębu szypułkowego zostały zapoczątkowane przez Kienitzą w Niemczech (Kleinschmit 1993), jednak dopiero w ostatnim 20-leciu obserwuje się znaczący rozwój badań w tym zakresie (Jensen 2000; Baliuckas, Pliura 2003; Bogdan et al. 2004; Barzdajn 2009; Banach 2011). W wymienionych pracach, zanotowano istotne różnicowanie badanych populacji dębu pod względem przeżywalności, wzrostu, formy strzał, fenologii czy zawartości związków organicznych w liściach. Przedmiotem zainteresowań badaczy była również podatność różnych pochodzeń dębu na szkodniki owadzie (Crawley, Akhteruzzaman 1988; Skrzypczyńska 2001; Banach, Lenowiecki 2011). Do tej pory brak jednak badań oceniających odporność różnych proveniencji dębu szypułkowego na infekcje przez patogeny grzybowe, choć już w latach 60. ubiegłego wieku Leibundgut (1969) analizował podatność różnych proveniencji dębów na porażenie przez *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. W Polsce wstępne badania w tym zakresie przeprowadził także Zwaduch (2005), który wykazał różny stopień porażenia liści dębu szypułkowego przez tego patogena w obrębie badanych populacji dębu. Ostatnio także Szczepkowski (2010) badał odporność drewna dębu szypułkowego pobranego z drzew o różnym stanie zdrowotnym, pochodzących z siedmiu polskich populacji, na rozkład powodowany przez *Coniophora puteana* (Schumach.) P. Karst., *Laeti-*

porus sulphureus (Bull.) Murrill i *Trametes versicolor* (L.) Lloyd. Dla innych drzew leśnych badania w tym zakresie przeprowadzono na wiązach w odniesieniu do *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier (Santini et al. 2005) oraz na sosnach i świerkach w stosunku do *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet (Roll-Hansen 1971; Hansson 1998), a także m.in. do *Cenangium ferruginosum* Fr. (Kuzmina, Kuzmin 2008). Podobne badania wykonano dla *Mycosphaerella pini* Rostr. ex Munk (Eldridge, Dowden 1980), *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton (Smith et al. 2002), *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell (Hodge, Dvorak 2007) i *Mycosphaerella* spp. (Carnegie et al. 2004). Stosunkowo dużo prac poświęcono także zmienności genetycznej różnych populacji *Castanea sativa* Mill. na infekcje przez *P. cambivora* (Miranda-Fontania et al. 2005; Robin et al. 2006). W Polsce dotychczas badano odporność polskich pochodzeń modrzewia na infekcje przez grzyba *Lachnellula willkommii* (Hartig) Dennis (Kulej 2006) oraz oszacowano stan zdrowotny świerków należących do 1100 proveniencji reprezentujących różne rejony Europy na powierzchni doświadczalnej w Krynicy (Żółciak et al. 2009). W cytowanych pracach, w wielu przypadkach, stwierdzono duże różnicowanie podatności różnych populacji drzew na infekcje przez groźne patogeny roślin.

Obecnie stosuje się różne metody pozwalające oszacować odporność drzew na infekcje przez patogeny korzeniowe. Może to być inokulacja pędów i korzeni żywych sadzonek lub metoda tzw. ciętych pędów (Miranda-Fontania et al. 2005). W obu metodach podatność drzew ocenia się na podstawie długości nekroz wytworzonych po sztucznym zakażeniu rośliny izolatem organizmu chorobotwórczego. Metoda „ciętych pędów” jest najczęściej stosowaną metodą oszacowania podatności drzew na infekcje przez patogeny, jednak wyniki uzyskane tą metodą mogą nie odzwierciedlać w pełni sytuacji występującej u „żywych” drzew. Ostatnio jednak Robin et al. (2006) wykazali, że inokulacja pędów pobranych z drzew z pomiarem długości nekroz jest odpowiednią metodą oszacowania podatności drzew na infekcje przez patogeny korzeniowe.

Celem badań było oszacowanie podatności różnych proveniencji i rodów dębu szypułkowego na zasiedlenie przez lęgniowca *Phytophthora cambivora*. Autorzy swoimi badaniami chcieli odpowiedzieć na następujące pytania:

- Czy występuje zmienność między- i wewnątrzpopulacyjna dębu szypułkowego w odniesieniu do infekcji przez *P. cambivora*?
- Czy możliwe jest wyselekcjonowanie odpornych i podatnych proveniencji i rodów dębu szypułkowego występujących w Polsce?

– Czy istnieje różnica w odporności różnych proveniencji dębu szypułkowego w zależności od właściwości izolatu *P. cambivora*?

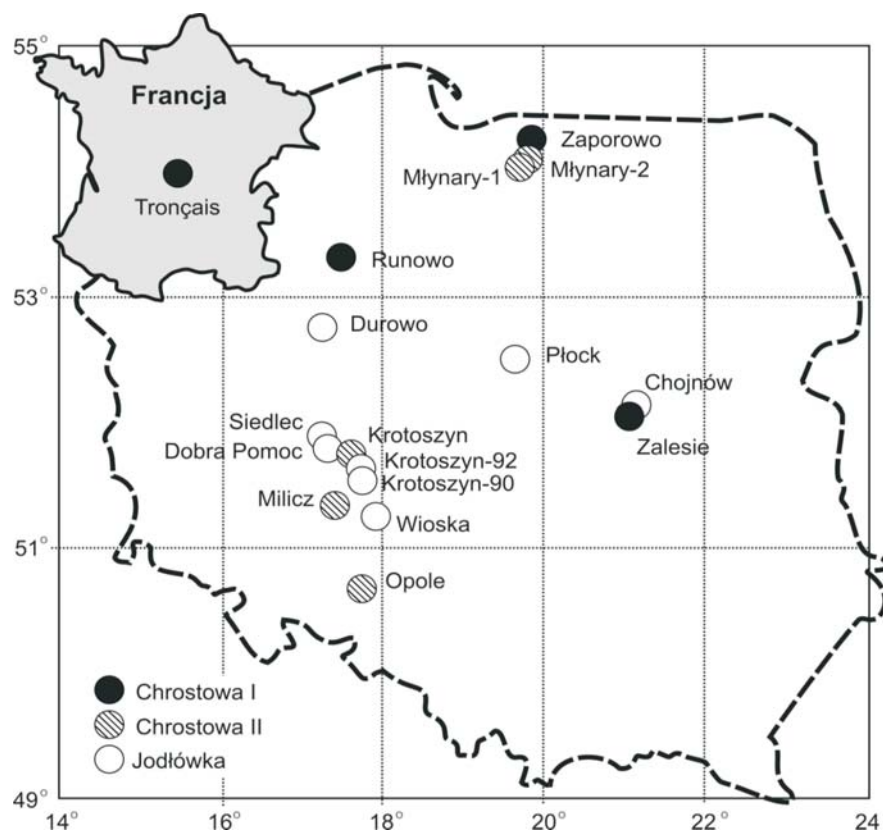
2. Materiał i metody

Materiał do badań, w postaci pędów, pozyskano w październiku 2010 r. z losowo wybranych dębów rosnących na trzech proveniencyjno-rodowych powierzchniach doświadczalnych (Chrostowa I i II oraz Jodłówka), założonych w latach 1996–2000 na terenie Nadleśnictwa Brzesko (Banach 2010). W ramach każdego rodzaju pozyskiwano pędy z dwóch drzew nie wykazujących żadnych widocznych objawów chorobowych. Z każdego wybranego losowo drzewa wycinano 20 dwuletnich pędów, o długości około 50 cm i średniej grubości 0,78 cm (w zakresie od 0,40 cm do 1,22 cm). Pędy następnie wkładano do papierowej torebki, która zawierała opis pochodzenia oraz numer rodu. Całość materiału przekładano do foliowych toreb i przewożono do laboratorium. Następnie próbki pędów umieszczono w chłodni na 24 godziny. Łącznie z trzech powierzchni pozyskano 2480 pędów, które należały do 16 polskich i jednej francuskiej proveniencji dębu szypułkowego. Pozyskane pędy pochodziły z dębów należących do 62

rodów (od 3 do 5 rodów na każdą proveniencję) (ryc. 1, tab. 1).

W doświadczeniu użyto dwóch izolatów łęgniowca *P. cambivora*: 528.08 oraz 303.07, które zostały wyodrębnione z gleby pozyskanej z drzewostanów dębowych przez Stępniewską i Jankowiaka. Izolaty te zostały zidentyfikowane na podstawie cech morfologicznych oraz porównania sekwencji obszaru ITS rDNA region (ITS1–5.8 S–ITS2) z sekwencjami referencyjnymi uzyskanymi z bazy NCBI (Jankowiak et Stępniewska, dane nieopublikowane). Pierwszy izolat otrzymano w 2008 r. z miejscowości Babice (Nadleśnictwo Rudy Raciborskie), a drugi w 2007 r. z Lasu Krzyszkowickiego (okolice Wieliczki). Kultury zostały udostępnione z kolekcji kultur grzybów Katedry Fitopatologii Leśnej Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Izolaty rosły przez 14 dni na pożywce o składzie: sok V8 (sok warzywny) – 200 ml, CaCO_3 – 3 g, agar – 15 g, woda destylowana – 800 ml. Wstępne badania patogeniczności wymienionych izolatów wykazały, że izolat 528.08 wykazywał o wiele większy stopień agresywności w stosunku do dębu szypułkowego niż izolat 303.07. W doświadczeniu przeprowadzonym na dwuletnich sadzonkach dębu szypułkowego jedynie izolat 528.08 spowodował zamarcie dwuletnich sadzonek. Izolat ten generował także znacznie większe nekrozy na



Rycina 1. Lokalizacja pochodzeń dębu szypułkowego wykorzystanych w badaniach
Figure 1. Location of pedunculate oak provenances used in the test

Tabela 1. Proweniencje i rody dębu szypułkowego użyte w badaniach

Table 1. Provenances and families of pedunculate oak used in the investigations

Powierzchnia doświadczalna Experimental plot	Proweniencja (Nadleśnictwo) Provenance (Forest district)	Leśnictwo Forest subdistrict	Współ. geograficzne Geogr. coordinates		Numer rodu Family No
			szerokość latitude	długość longitude	
Chrostowa I	Zalesie (Chojnów)	Zalesie Dolne	52° 01'	21° 01'	203,206, 210, 212, 222
	Zaporowo	Kurowo	54° 14'	19° 45'	236, 237, 238, 247
	Runowo	Dąbie	53° 19'	17° 27'	257, 259, 280
	Tronçais	–	46° 00'	02° 00'	283, 290, 295, 296, 299
Chrostowa II	Młynary-1	Kisielewo	54° 01'	19° 40'	36, 38, 40, 41, 66
	Młynary-2	Słobity	54° 06'	19° 43'	28, 43, 48, 50, 86
	Opole	Narok	50° 44'	17° 47'	9, 13, 14
	Milicz	Kaszowo	51° 30'	17° 20'	54, 55, 56, 59
	Krotoszyn	Smoszew	51° 40'	17° 30'	88, 91, 92, 95
Jodłówka	Chojnów	Chojnów	52° 03'	21° 03'	123, 153, 176
	Dobra Pomoc	Dobra Pomoc	51° 49'	17° 08'	65, 162, 144
	Durowo	Dębina	52° 48'	17° 08'	19, 48, 151
	Krotoszyn-90	Borowina	51° 39'	17° 35'	86, 90, 143
	Krotoszyn-92	Jelonek	51° 46'	17° 35'	18, 63, 141
	Płock	Brwilno	52° 36'	19° 37'	35, 83, 177
	Siedlec	Siedlec	51° 50'	17° 07'	80, 81, 109
	Wioska	Wioska	51° 21'	17° 42'	21, 87, 127

strzałkach pędów niż izolat 303.07 (Jankowiak, Stępniewska, niepublikowane).

Procedura inokulacji „ciętych pędów” *Q. robur* izolatami *P. cambivora* przedstawiała się następująco. Pozyskane gałęzie po wyjęciu z chłodni zostały powierzchniowo przetarte wacikiem nasączonym 96% alkoholem etylowym. Po osuszeniu pędy były przycinane na odcinki długości 30 centymetrów. Przy użyciu sterylnego skalpela chirurgicznego w środkowej części pędu zdejmowano korę na odcinku 0,5 centymetra, odsłaniając miążgę. W powstałą ranę za pomocą sterylnej ezy wkładano krążek o średnicy 4 mm, wycięty z wyhodowanej 14-dniowej kultury *P. cambivora*. Izolatami inokulowano 10 pędów reprezentujących każdy ród. Po umieszczeniu krążka w ranie, sztucznie zakażony fragment pędu zaklejano szczelnie parafilmem i wkładano do kolb o pojemności 300 ml z wodą destylowaną. Podobnie postępowano z partią kontrolną z tą tylko różnicą, że inokulum zastąpiono czystą pożywką V8. Kolby z pędami umieszczono, tak aby były wystawione na działanie światła dziennego. Ogółem zainokulowano 1860 pędów dębu szypułkowego.

Po pięciu dniach od inokulacji pędów dokonano pomiaru nekroz. Z pędów odwijano parafilm, a następnie delikatnie, sterylnym skalpelem usuwano skórke. Powstałe nekrozy mierzono równoległe do osi pędu, po czym, z każdego pędu wykonano reizolację *P. cambi-*

vora. W tym celu z każdego punktu inokulacyjnego pobrano sterylnym skalpelem jeden fragment (4 × 4 mm) przebarwionego miększu korowego i przekładano na płytki Petriego z pożywką V8 wzbogaconą o pimarycyne (5 mg·l⁻¹), ampicylinę (250 mg·l⁻¹), rifampicynę (10 mg·l⁻¹), pięciochloronitrobenzen – PCNB (100 mg·l⁻¹) i hymeksazol (50 mg·l⁻¹).

Na podstawie otrzymanych wyników z pomiaru nekroz wykonano analizy statystyczne, korzystając z testu NIR – opierającego się na wyznaczaniu najmniejszych istotnych różnic. Do analiz wykorzystano program Statistica® 9.0 (wersja polska, StatSoft Inc, Tulsa, USA).

W celu określenia wpływu pochodzenia i rodu w pochodzeniu na zmienność długości nekrozy wykonano hierarchiczną analizę wariancji, na podstawie wzoru (Żuk 1989):

$$y_{kmn} = \mu + P_k + F_{m(k)} + E_{n(km)}$$

gdzie:

y_{kmn} – wartość fenotypowa n -tego osobnika w m -tym rodzie i k -tej proveniencji,

μ – średnia ogólna,

P_k – efekt k -tej proveniencji,

$F_{m(k)}$ – efekt m -tego rodu w k -tej proveniencji,

$E_{n(km)}$ – efekt n -tego osobnika w m -tym rodzie i k -tej proveniencji (błąd).

Obliczono również korelację liniową Pearsona na poziomie pochodzeniowym i rodowym między średnią długością nekroz powodowanych przez obydwie zastosowane izolaty *P. cambivora*.

Ze względu na brak normalności rozkładu oraz jednorodności wariancji, przed wykonaniem analiz statystycznych dane pomiarowe zostały poddane logarytmowaniu.

3. Wyniki

Po pięciu dniach od założenia doświadczenia na sztucznie zainfekowanych pędach dębu wytworzyły się dobrze widoczne, ciemne przebarwienia zlokalizowane w miękiszu korowym i łyku. Średnia długość nekrozy spowodowanej przez izolat 528.08 wynosiła 1,58 cm, a przez izolat 303.07 – 0,50 cm. Na pędach kontrolnych zanotowano słabą reakcję na wprowadzone inokulum i brak wytworzonych nekroz, z wyjątkiem pochodzenia Chojnów (0,01 cm), Wioska (0,04 cm) i Krotoszyn-92 (0,04 cm) (tab. 2).

Hierarchiczna analiza wariancji dla pochodzeń i rodów w pochodzeniu wykazała, że przy poziomie istotności $p \leq 0,01$ wielkość nekrozy wytworzonej przez dwa

izolaty *P. cambivora* różniła się na poziomie pochodzeń i rodów (tab. 3).

Korelacja między średnią długością nekroz powodowanych przez obydwie izolaty zastosowane w badaniach była wysoka i wyniosła 0,73 dla pochodzeń oraz 0,75 dla rodów, co wskazuje na dużą porównywalność ich negatywnego wpływu na analizowane dęby, niezależnie od pochodzenia izolatu.

3.1. Zmienność proveniencyjna

Wykazano duże różnice podatności różnych proveniencji dębu szypułkowego na zasiedlenie przez *P. cambivora*. W przypadku izolatu 528.08 stosunkowo niewielkie nekrozy występowały na pędach dębów należących do populacji: Siedlec, Durowo, Dobra Pomoc, Chojnów, Młynary-1, Młynary-2, Milicz, Krotoszyn-90, Krotoszyn-92 oraz Płock. Największe średnie nekrozy izolat 528.08 powodował na pędach należących do proveniencji Tronçais, Runowo, Opole, Krotoszyn oraz Zalesie (ryc. 2).

W przeciwieństwie do izolatu 528.08, izolat 303.07 wywoływał znacznie mniejsze nekrozy na pędach. Największe średnie nekrozy zaobserwowano w przypadku populacji pochodzących z Tronçais, Runowo, Zaporow-

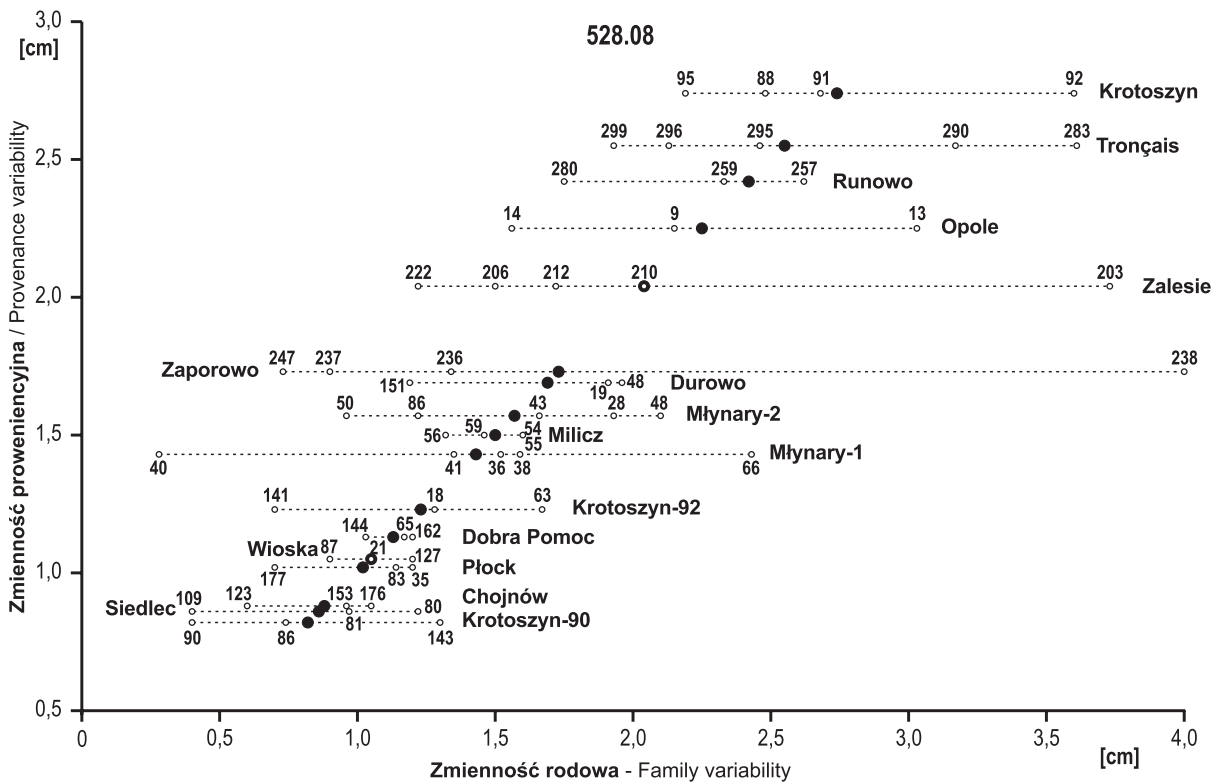
Tabela 2. Średnia długość nekrozy (cm) dla poszczególnych proveniencji *Q. robur* (a–i – grupy jednorodne, test NIR, $p \leq 0,05$)

Table 2. Average length of the necrosis (cm) for individual provenances of *Q. robur* (a–i – homogeneous groups, NIR test, $p \leq 0,05$)

Prowienienca Provenance	Powierzchnia doświadczalna Experimental plot	Izolat / Isolate				Kontrola Reference test
		528.08		303.07		
		średnia mean	poz. rank. rank	średnia mean	poz. rank. rank	
Krotoszyn-90	Jodłówka	0,82 ^a	1	0,13 ^a	1	0,00
Siedlec		0,86 ^{ab}	2	0,22 ^a	4	0,00
Chojnów		0,88 ^{ab}	3	0,19 ^a	2	0,01 ^a
Płock		1,02 ^{ab}	4	0,22 ^a	4	0,00
Wioska		1,05 ^{ab}	5	0,32 ^a	9	0,04 ^b
Dobra Pomoc		1,13 ^{abc}	6	0,34 ^a	12	0,00
Krotoszyn-92		1,23 ^{bcd}	7	0,27 ^a	7	0,04 ^b
Młynary-1	Chrostowa II	1,43 ^{cde}	8	0,32 ^a	11	0,00
Milicz		1,50 ^{de}	9	0,19 ^a	2	0,00
Młynary-2		1,57 ^e	10	0,31 ^a	9	0,00
Durowo	Jodłówka	1,69 ^e	11	0,29 ^a	8	0,00
Zaporowo	Chrostowa I	1,73 ^{ef}	12	1,11 ^{cd}	15	0,00
Zalesie		2,04 ^{fg}	13	0,92 ^{bc}	14	0,00
Opole	Chrostowa II	2,25 ^{gh}	14	0,23 ^a	6	0,00
Runowo	Chrostowa I	2,42 ^{hi}	15	1,18 ^d	16	0,00
Tronçais		2,55 ^{hi}	16	1,43 ^e	17	0,00
Krotoszyn	Chrostowa II	2,74 ⁱ	17	0,75 ^b	13	0,00
Średnia długość nekrozy Mean length of necrosis		1,58	–	0,50	–	0,01

Tabela 3. Wpływ pochodzenia i rodu na wielkość nekrozy powodowanej przez *P. cambivora*Table 3. Influence of provenance and family on length of necrosis caused by *P. cambivora*

Źródło zmienności Source of variance	Stopnie swobody Degree of freedom	Izolat / Isolate				Kontrola Reference test	
		303.07		528.08		test <i>F</i> <i>F</i> -test	istotność significance (<i>p</i>)
		test <i>F</i> <i>F</i> -test	istotność significance (<i>p</i>)	test <i>F</i> <i>F</i> -test	istotność significance (<i>p</i>)		
Pochodzenie Provenance	16	3,272	<0,001	2,985	<0,002	2,177	<0,021
Ród w pochodzeniu Family within provenance	45	8,411	<0,001	8,181	<0,001	1,934	<0,001

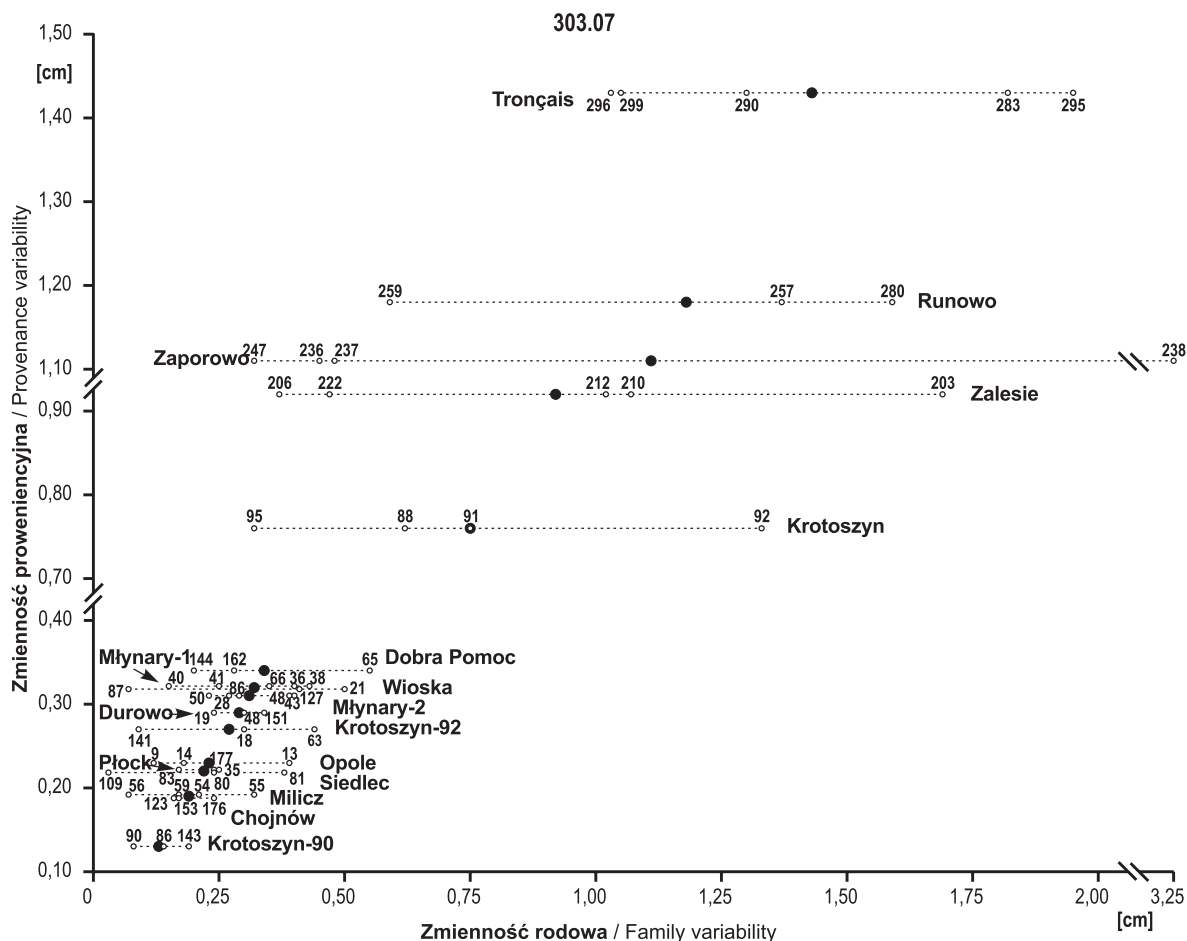


Rycina 2. Zmienność proveniencyjna i rodowa dębu szypułkowego pod względem średniej długości nekrozy powodowanej przez *P. cambivora* (izolat nr 528.08); ● – średnia dla pochodzenia, ○ – średnia dla rodu, 9–299 – numery rodów
 Figure 2. Variation among provenances and families of pedunculate oak with respect to mean length of necrosis caused by *P. cambivora* (isolate no 528.08); ● – average for provenance, ○ – average for family, 9–299 – numbers of families

wo, najmniejsze zaś w przypadku dębów z Krotoszyna-90, Milicza i Chojnowa. Dodatkowo zaobserwowano także o wiele mniejsze różnice między populacjami dębu niż w przypadku izolatu 528.08, gdyż aż 12 pochodzeń miało nekrozy podobnych rozmiarów. Były to: Krotoszyn-90, Siedlec, Chojnów, Płock, Wioska, Dobra Pomoc, Krotoszyn-92, Młynary-1, Milicz, Młynary-2 oraz Durowo (ryc. 3).

3.2. Zmienność rodowa

Odporność na zasiedlenie pędów dębu szypułkowego przez *P. cambivora* różniła się istotnie w zależności od pochodzenia rodów w jednym pochodzeniu. Spośród wszystkich przebadanych rodów najdłuższe nekrozy na pędach dębu stwierdzono - niezależnie od izolatu - w przypadku Zaporowo/238. Średnia długość nekrozy dla obu izolatów wynosiła 2,39 cm (ryc. 2–3). Stosunkowo duże nekrozy występowały także na pędach dębów



Rycina 3. Zmienność proveniencyjna i rodowa dębu szypułkowego pod względem średniej długości nekrozy powodowanej przez *P. cambivora* (izolat nr 303.07); ● – średnia dla pochodzenia, ○ – średnia dla rodu, 9–299 – numery rodów
 Figure 3. Variation among provenances and families of pedunculate oak with respect to mean length of necrosis caused by *P. cambivora* (isolate no 303.07); ● – average for provenance, ○ – average for family, 9–299 – numbers of families

należących do rodu Tronçais/283 (1,82 cm dla izolatu 303.07 i 3,61 cm dla izolatu 528.08), Zalesie/203 (1,69 cm dla izolatu 303.07 i 3,73 cm dla izolatu 528.08) i Krotoszyn/ 92 (1,33 cm dla izolatu 303.07 i 3,60 cm dla izolatu 528.08). Średnia długość nekroz na pędach tych rodów dla obu izolatów wyniosła odpowiednio: 1,81, 1,81 i 1,64 cm. Do rodów, na których stwierdzono najmniejsze rozmiary nekroz (dla obydwu izolatów), zaliczyć można: Siedlec/109, Młynary-1/40 oraz Krotoszyn-90. Średnia długość nekroz na pędach tych rodów wynosiła odpowiednio 0,14, 0,14 i 0,18 cm (ryc. 2–3).

3.3. Reizolacja *P. cambivora* z zakażonych pędów

Z prawie 90% rodów wyizolowano powtórnie izolat 528.08. W przypadku tych rodów, izolat ten stwierdzono w 80–100% zainokulowanych pędów (z 50% rodów udało się stwierdzić izolat we wszystkich zainokulowanych pędach), a jedynie z 8 rodów (Zalesie/203/222/206,

Tronçais/295, Zaporowo/237/244, Milicz/59 i Runowo/257) udział udanych reizolacji wyniósł 40–70%.

Reizolacja izolatu 303.07 *P. cambivora* była znacznie mniej efektywna. Jedynie u 36% rodów udało się stwierdzić izolat we wszystkich sztucznie zainfekowanych pędach, a z 4 rodów (Milicz 59/56 i Opole 9/14) wyodrębniono izolat z mniej niż połowy zainokulowanych pędów.

4. Dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały istotne zróżnicowanie szybkości kolonizacji pędów dębu szypułkowego przez *P. cambivora*, zarówno na poziomie pochodzeń, jak i rodów. Podobne zróżnicowanie stwierdzono w badaniach nad różnymi europejskimi populacjami *C. sativa*, sztucznie zakażanymi organizmem *P.*

cambivora (Miranda-Fontania et al. 2005; Robin et al. 2006). W niniejszych badaniach charakter nekroz na pędach dębu był podobny do tych na kasztanie jadalnym.

W wielu innych badaniach prowadzonych w Europie i Ameryce Północnej stwierdzono także dużą zmienność podatności różnych populacji drzew na różne patogeny grzybowe. Eldrige i Dowden (1980) udokumentowali występowanie dużych różnic w zasiedleniu różnych pochodzeń *Pinus ponderosa* Dougl. ex Lawson przez grzyba *M. pini*, natomiast Hansson (1998) zaobserwował zmienną podatność różnych proveniencji *Pinus sylvestris* L., *Pinus contorta* Dougl. ex Loud. i *Picea abies* (L.) H. Karst. na sztuczną infekcję grzybem *G. abietina*.

Uzyskane wyniki są zgodne także z rezultatami badań przeprowadzonymi przez Banacha (2002), który stwierdził dużą zmienność niektórych cech hodowlanych (m.in. wysokości i pędzenia wiosennego) dębu szypułkowego testowanego na powierzchni badawczej Chrostowa I. Wydaje się, że polskie populacje dębu szypułkowego są silnie zróżnicowane, nie tylko w odniesieniu do tych cech, ale także ze względu na podatność na grzyby patogeniczne. Mogą to także częściowo potwierdzić badania Szczepkowskiego (2010), który w warunkach laboratoryjnych wykazał występowanie różnic pomiędzy siedmioma polskimi populacjami dębu pod względem ubytku masy drewna dębów spowodowanym przez trzy gatunki grzybów zgniliznowych.

Przeprowadzone badania wykazały, że najbardziej podatne na infekcje przez *P. cambivora* były drzewa pochodzące z Tronçais, Krotoszyna, Runowa, Opola oraz Zalesia. Do pochodzeń odpornych można natomiast zaliczyć dęby z Chojnowa, Siedlca, Płocka, Krotoszyna-90 i Wioski. Co ciekawe, zaobserwowano, że niektóre najbardziej podatne populacje należą do najszybciej rozwijających się dębów (Runowo, Zalesie, Tronçais) (Banach 2002). Większość dębów podatnych na zasiedlenie organizmem *P. cambivora* pochodziła z terenów zachodniej Polski (Krotoszyn, Runowo, Opole). Wysoką podatność dębów z rejonu Krotoszyna można skorelować z masowym ich zamieraniem w tym regionie w latach osiemdziesiątych (Przybył 1995). Być może do tak licznego zamierania dębów krotoszyńskich mogło przyczynić się także masowe występowanie patogenów z rodzaju *Phytophthora*, tak jak to miało miejsce w Niemczech (Jung et al. 2000). Wydaje się jednak, że organizmy grzybopodobne z rodzaju *Phytophthora* mogą być tylko jednym z elementów obniżających vitalność dębów. Według Thomasa i innych (2002) zamieranie dębów jest chorobą kompleksową, w której podstawową rolę chorobotwórczą odgrywiają czynniki abiotyczne, takie jak susza w okresie wegetacyjnym i mroźne zimy.

W prezentowanych badaniach wykazano również istotne zróżnicowanie szybkości kolonizacji pędów

przez *P. cambivora* na poziomie rodów. Wydaje się, że odgrywa ono nawet większą rolę niż zróżnicowanie między proveniencjami. W większości populacji wykryto bowiem pojedyncze rody bardziej podatne lub odporne na zasiedlenie przez *P. cambivora*. Dla przykładu wśród 5 rodów należących do pochodzenia Młynary-1, ród 40 należy uznać za silnie odporny, natomiast ród 66 za silnie podatny na kolonizację przez *P. cambivora*. Także proveniencje pochodzące z Krotoszyna charakteryzują się podobną zmiennością, przy czym tutaj większość rodów wykazało większą podatność. Podobnie duże zróżnicowanie innych cech, np. wiosennego rozwoju liści, wzrostu dębów oraz ich odporności na szkodniki owadzie na poziomie rodów stwierdzili również inni badacze (Banach 2002; Baliuckas, Pliura 2003; Bogdan et al. 2004; Barzdajn 2008; Banach, Lenowiecki 2011).

Wyniki uzyskane w niniejszym doświadczeniu muszą być jednak interpretowane ostrożnie. Metoda inokulacji „ciętych pędów”, która jest powszechnie stosowana do badań odporności różnych proveniencji drzew z organizmami z rodzaju *Phytophthora* ma także pewne ograniczenia. Po pierwsze, wyniki uzyskane z inokulacji „ciętych pędów”, a więc zamierających pędów nie zawsze muszą się przekładać na sytuację występującą na żywych pędach, czy korzeniach drzew. Poza tym, doświadczenie przeprowadzone na dwuletnich pędach może nie odzwierciedlać w pełni mechanizmów odpornościowych występujących u starszych drzew. Z drugiej jednak strony, szczegółowe badania przeprowadzone na dębie we Francji (Robin, Desprez-Loustau 1998) wykazały, że wyniki inokulacji uciętych fragmentów pędów i korzeni żywych sadzonek są ze sobą bardzo ściśle skorelowane. Podobne wnioski wypływają z ostatniej pracy Robina i innych (2006), w której udowodniono, że metoda „ciętych pędów” jest jak najbardziej odpowiednia dla zbadania podatności kasztana jadalnego na infekcje przez *P. cambivora*.

W przeprowadzonym doświadczeniu izolat 528.08 generował o wiele większe nekrozy na pędach niż izolat 303.07. Te różnice można wiązać z różnym poziomem agresywności charakteryzującej obydwie izolaty. Otóż dzięki wysokiej agresywności izolat 528.08 mógł kolonizować pędy dębu o wiele szybciej niż mniej agresywny izolat 303.07. W pracy wykazano także stosunkowo duże różnice w zasiedleniu pędów i rodów dębu szypułkowego pomiędzy dwoma izolatami *P. cambivora*. Jednakże trudno wytłumaczyć przyczynę tych różnic. Wydaje się, że najistotniejszą rolę mogły odegrać substancje chemiczne zawarte w pędach dębów, mogące różnicować rozwój *P. cambivora* w tkankach pędów. Być może niektóre osobniki (izolaty) są lepiej zaadaptowane do życia w tkankach drzew charakteryzujących się wysoką zawartością substancji chemicznych o właściwościach fungistatycznych. Najważniejszymi substancjami chemicznymi hamującymi rozwój grzybów i

innych organizmów są wytwarzane w tkankach roślin metabolity wtórne, przede wszystkim fenole, kwasy fenolowe, flawonoidy i garbniki (Witzell, Martín 2008). Dlatego następnym etapem badań powinno być poznanie zawartości niektórych związków chemicznych w tkankach dębów w relacji do podatności na infekcje przez różne organizmy patogeniczne.

5. Wnioski

1. W obrębie polskich pochodzeń dębu szypułkowego stwierdzono wysoki poziom zmienności między populacyjnej podatności pędów na zasiedlenie przez *P. cambivora*. Do proveniencji szczególnie podatnych zaliczono: Zaporowo, Runowo, Opole i Krotoszyn, natomiast pochodzenia z Chojnowa, Siedlec, Płocka, Krotoszyna-90 i Wioski były stosunkowo odporne.

2. Ustalono, że w obrębie większości analizowanych populacji dębu szypułkowego istnieją rody o różnej podatności na zasiedlenie przez *P. cambivora*.

3. Wykazano pewne różnice w podatności różnych proveniencji i rodów dębu szypułkowego na zasiedlenie przez badane izolaty grzyba *P. cambivora*. Z tego względu wydaje się, że w badaniach nad podatnością dębu szypułkowego z wykorzystaniem „ciętych pędów” należy użyć większej liczby izolatów tego organizmu.

4. Wyniki przeprowadzonego doświadczenia wskazują na możliwość w przyszłości wyselekcjonowania proveniencji lub rodów dębu szypułkowego charakteryzujących się wysoką odpornością na infekcję przez *P. cambivora*.

Podziękowania

Badania zrealizowano w ramach tematu nr DS-3414/KFL, finansowanego z dotacji na naukę przyznanej przez MNiSW, oraz tematu BLP-364, finansowanego przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych.

Literatura

Balci Y., Balci S., MacDonald W.L., Gottschalk K.W. 2008. Relative susceptibility of oaks to seven species of *Phytophthora* isolated from oak forest soils. *Forest Pathology*, 38: 394–409.

Baliuckas V., Pliura A. 2003. Genetic variation and phenotypic plasticity of *Quercus robur* populations and open-pollinated families in Lithuania. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 18: 305–309.

Banach J. 2002. Zmienność wewnątrzgatunkowa dębu szypułkowego testowanego na powierzchni doświadczalnej w

Leśnictwie Chrostowa. *Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, ser. Sesja Naukowa*, 86: 131–147.

Banach J. 2010. Adaptation of selected provenances of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) under conditions of the Carpathian submontane zone in Southern Poland. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, ser. Forestry and Wood Technology*, 73: 83–96.

Banach J. 2011. Przeżywalność i wysokość dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) testowanego na powierzchni doświadczalnej „Chrostowa I” w Nadleśnictwie Brzesko. *Leśne Prace Badawcze*, 72 (1): 5–15.

Banach J., Lenowiecki K. 2011. The occurrence of insect pests on pedunculate oak tested on the Chrostowa II experimental plot. *Journal of Forest Science*, 57 (9): 384–393.

Barzdajn W. 2008. Porównanie odziedziczalności proveniencyjnej, rodowej i indywidualnej cech wzrostowych dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) w doświadczeniu rodowo-proveniencyjnym w Nadleśnictwie Milicz. *Sylvan*, 152 (5): 52–59.

Barzdajn W. 2009. Wzrost dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) i dębu bezszypułkowego (*Q. petraea* [Matt.] Liebl.) w doświadczeniu proveniencyjnym z 1994 r. w Nadleśnictwie Milicz. *Leśne Prace Badawcze*, 70 (3): 241–252.

Bodgan S., Katičić-Trupčević I., Kajba D. 2004. Genetic variation in growth traits in a *Quercus robur* L. open-pollinated progeny test of the Slavonian provenance. *Silvae Genetica*, 53: 5–6.

Brasier C.M. 2000. The role of *Phytophthora* pathogens in forests and semi-natural communities in Europe and Africa, w: E.M Hansen & W. Sutton, eds, *Phytophthora diseases of forest trees*. Proceedings of the First International Meeting of IUFRO Working Party 7.02.09, Grants Pass, Oregon, 1999, Forest Research Laboratory, Oregon State University Press, USA, 6–13.

Brasier C.M., Kirk S.A. 2001. Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder phytophthoras, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. *Plant Pathology*, 50: 218–229.

Camy C., Delatour C., Marçais B. 2003. Relationships between soil factors, *Quercus robur* health, *Collybia fusipes* root infection and *Phytophthora* presence. *Annals of Forest Sciences*, 60: 419–426.

Carnegie A. J., Johnson G., Henson M. 2004. Variation among provenances and families of blackbutt (*Eucalyptus pilularis*) in early growth and susceptibility to damage from leaf spot fungi. *Canadian Journal of Forest Research*, 34: 2314–2326.

Cordier T., Belbahri L., Calmin G., Oszako T., Nowakowska J., Lefort F. 2009. Emerging *Phytophthora* and *Pythium* species in Polish declining forests. Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe. First working groups meeting April 16–19, 2009, Nový Smokovec, Slovakia.

Crawley M.J., Akhteruzzman M. 1988. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects. *Functional Ecology*, 2: 409–415.

Eldridge R.H., Dowden H. 1980. Susceptibility of five provenances of Ponderosa pine to Dothistroma needle blight. *Plant Disease*, 64: 400–401.

- Hansson P. 1998. Susceptibility of different provenances of *Pinus sylvestris*, *Pinus contorta* and *Picea abies* to *Gremmeniella abietina*. *European Journal of Forest Pathology*, 28: 21–32.
- Hodge G.R., Dvorak W. S. 2007. Variation in pitch cancer resistance among provenances of *Pinus patula* and *Pinus tecunumaii* from Mexico and Central America. *New Forests*, 33: 193–206.
- Jensen J.S. 2000. Provenance variation in phenotypic traits in *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Danish provenance trials. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 15: 297–308.
- Jönsson U., Lundberg L., Sonesson K., Jung T. 2003. First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. *Forest Pathology*, 33: 175–179.
- Jung T., Blaschke H., Obwald W. 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathology*, 49: 706–718.
- Jung T., Hudler G.W., Jensen-Tracy S.L., Griffiths H.M., Fleischmann F., Obwald W. 2005. Involvement of *Phytophthora* species in the decline of European beech in Europe and the USA. *Mycologist*, 19: 159–166.
- Kleinschmit J. 1993. Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. *Annales des Sciences Forestières*, 50, Suppl. 1: 166–185.
- Kulej M. 2006. Resistance of larches of Polish provenances to larch canker *Lachnellula willkommii* (Hartig.) Dennis under mountain conditions of the Sacz Beskid. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 9 (2): <http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue2/art-29.html>.
- Kuzmina N.A., Kuzmin S.S. 2008. Intraspecific response of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) to pathogens in a provenance trial in Middle Siberia. *Eurasian Journal of Forest Research*, 11(2): 51–59.
- Leibundgut H. 1969. Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Eichenherkünfte für die Erkrankung an Mehltau. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen*, 120(9): 486–493.
- Miranda-Fontania M.E., Fernandez-Lopez J., Vettraino A.M., Vannini A. 2005. Resistance of *Castanea* clones to *Phytophthora cinnamomi*: testing and genetic control. *Silvae Genetica*, 56: 11–21.
- Olejarski I., Kubiak K., Nowakowska J., Jung T., Oszako T. 2012. The occurrence of *Phytophthora* species in European Ecological Network NATURA 2000 in Poland. The Sixth Meeting of the International Union of Forest Research Organizations IUFRO Working Party 7-02-09 *Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems Córdoba (Spain), 9th - 14th September 2012. Meeting Abstracts: 103.
- Oszako T. 2007. Przyczyny masowego zamierania drzewostanów dębowych. *Sylwan*, 6: 62–72.
- Oszako T., Hilszczański J., Orlikowski, Nowakowska J. 2009. Zamieranie drzewostanów liściastych. *Notatnik Naukowy IBL*, 5: 1–5.
- Przybył. K. 1995. Zamieranie dębów w Polsce. I. Objawy chorobowe i grzyby występujące na nadziemnych organach zamierających dębów *Quercus robur* L. oraz cechy morfologiczne grzybów *Ophiostoma querci* i *O. piceae*. *Idea Ekologiczne*, 8(4): 1–85.
- Robin C., Desprez-Loustau M.L. 1998. Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi*. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 465–475.
- Robin C., Morel O., Vattraino A.-M., Perlerou Ch., Diamandis S., Vannini A. 2006. Genetic variation in susceptibility to *Phytophthora cambivora* in European chestnut (*Castanea sativa*). *Forest Ecology and Management*, 226: 199–207.
- Roll-Hansen F. 1971. *Scleroderris lagerbergii*: Resistance and differences in attack between pine species and provenances. *European Journal of Forest Pathology*, 2: 26–39.
- Saavedra A., Hansen E.M., Goheen D.J. 2007. *Phytophthora cambivora* in Oregon and its pathogenicity to *Chrysophylla chrysophylla*. *Forest Pathology*, 37: 409–419.
- Santini A., Fagnani A., Ferrini F., Ghelardini L., Mittempergher L. 2005. Variation among Italian and French elm clones in their response to *Ophiostoma novo-ulmi* inoculation. *Forest Pathology*, 35: 183–193.
- Skrzypczyńska M. 2001. Studies on insects causing galls on the leaves of pedunculate oak *Quercus robur* in southern Poland. *Anziger für Schädlingskunde*, 70: 40–42.
- Smith H., Coutino T.A., Wolfaardt F.W., Wingfield M.J. 2002. Relative susceptibility of northern and southern provenances of *Pinus greeggii* to infection by *Sphaeropsis sapinea*. *Forest Ecology and Management*, 166: 331–336.
- Stępniewska H., Jankowiak R., Kolarik M. 2008. First report on *Phytophthora cambivora* from an oak stand in Poland. *Phytopathologia Polonica*, 50: 85–86.
- Szczepkowski A. 2010. Odporność drewna dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.), z drzew o różnym stanie zdrowotnym, na rozkład powodowany przez grzyby. *Leśne Prace Badawcze*, 71(2): 125–133.
- Tarasiuk S., Szczepkowski A. 2006. The health status of endangered oak stands in Poland. *Acta Scientiarum Polonorum. Silvarum Colendarum Ratio et Industria Lignaria*, 5 (1): 91–106.
- Thomas F., Blank R., Hartmann G. 2002. Abiotic and biotic factors their interactions as causes of oak decline in central Europe. *Forest Pathology*, 32: 277–307.
- Vettraino A.M., Barzanti G.P., Bianco M.C., Ragazzi A., Capretti P., Paoletti E. et al. 2002. Occurrence of *Phytophthora* species in oak stands in Italy and their association with declining oak trees. *Forest Pathology*, 32: 19–28.
- Witzell J., Martín J.A. 2008. Phenolic metabolites in the resistance of northern forest trees to pathogens — past experiences and future prospects. *Canadian Journal of Forest Research*, 38: 2711–2727.
- Zwaduch P. 2005. Proweniencyjna zmienność dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) i dębu bezszypułkowego (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl.) na powierzchniach doświadczalnych w Nadleśnictwie Milicz i Nadleśnictwie Oborniki Śląskie. Praca doktorska w Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.
- Żółciak A., Oszako T., Sabor J. 2009. Evaluation of the health status of *Picea abies* provenances growing on the IUFRO 1964/ 68 experimental plots. *Dendrobiology*, 61: 63–68.
- Żuk B. 1989. Biometria stosowana. Warszawa, Wyd. PWN. ISBN: 83-89189-49-0.