

Received: 03.11.2015 / Accepted: 22.12.2015

Cytisus spp. – new host plant for *Phytophthora cryptogea* in Poland

Cytisus spp. – nowa roślina żywicielska dla *Phytophthora cryptogea* w Polsce

Leszek Orlikowski^{1*}, Magdalena Ptaszek¹, Tomasz Lenartowicz²

Summary

Phytophthora cryptogea was isolated from the most of scotch broom (*Cytisus* spp.) with symptoms of growth inhibition, yellowing of shoots, stem base and root rot. Additionally, the species was also detected in substratum taken from affected plants. In laboratory trials, the isolate from the rotted stem base of *Cytisus decumbens*, used for inoculation of stem parts and roots, colonised tissues of 6 species and cultivars of scotch broom. Necrosis spread about twice faster on inoculated stem parts than on roots. In greenhouse trial the species colonized 3 scotch broom cultivars and necrosis spread 2 mm/24 hours whereas on *Zeelandia* cultivar about 3.5 mm/24 hours.

Key words: *Cytisus*; *Phytophthora cryptogea*; occurrence; symptoms; pathogenicity

Streszczenie

Phytophthora cryptogea izolowano z żarnowców z objawami zahamowania wzrostu, żółknięcia pędów, zgnilizny podstawy pędu i korzeni. Dodatkowo gatunek ten wykrywano w podłożu spod porażonych roślin. W doświadczeniach laboratoryjnych izolat z porażonej podstawy pędu *Cytisus decumbens* kolonizował fragmenty pędów oraz korzenie 6 gatunków i odmian żarnowca. Zgnilizna rozszerzała się 2-krotnie szybciej na częściach pędów aniżeli na korzeniach. W testach szklarniowych badany izolat kolonizował podstawy pędów 3 odmian żarnowca 2 mm na dobę, w tym odmianę *Zeelandia* 3,5 mm/dobę.

Słowa kluczowe: żarnowiec; *Phytophthora cryptogea*; występowanie; symptomy; patogeniczność

¹ Instytut Ogródnictwa
Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

² Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych
63-022 Słupia Wielka

*corresponding author: leszek.orlikowski@inhort.pl

Wstęp / Introduction

Żarnowiec (*Cytisus* spp.) należy do grupy roślin pionierskich, zasiedlających bardzo ubogie tereny. Może być również z powodzeniem wykorzystywany do rekultywacji zdegradowanych terenów (Vettraino i Vannini 2003). W Polsce jest to roślina rosnąca naturalnie na obrzeżach dróg oraz w naturalnym środowisku, a także uprawiana w szkółkach jako roślina ozdobna. Dane literaturowe wskazują, że rośliny tego rodzaju są zagrożone przez gatunki rodzaju *Phytophthora*. Rattink i Steekelenburg (1973) po raz pierwszy stwierdzili występowanie zgnilizny korzeni na *Cytisus praecox*, a z podstawy pędów porażonych roślin autorzy wyizolowali *Phytophthora citricola* Sawada. W 1988 roku Hardy i Sivasithamparam opublikowali wyniki badań nad występowaniem *Phytophthora* spp. w 14 australijskich szkółkach kontenerowych. Badacze wykryli wówczas *Phytophthora cryptogea* Pethybridge and Lafferty powodującego zgniliznę korzeni i podstawy pędu *Cytisus albus*. W latach 2003–2004 we Włoszech Vettraino i Vannini (2003) zidentyfikowali *Phytophthora megasperma* Drechsler na zamierających roślinach *Cytisus scoparius*, a Pane i wsp. (2005) opisali występowanie *P. citricola* i *Phytophthora drechsleri* Tucker. Z kolei w Afryce, Nagel i wsp. (2013) izolowali z porażonych żarnowców *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan.

Latem 2014 roku w jednej z kontenerowych szkółek roślin ozdobnych na jednorocznych sadzonkach oraz 3-letnich roślinach *Cytisus decumbens*, *C. nigricans* odmiana Cyni i *C. scoparius* stwierdzono występowanie zgnilizny podstawy pędu i korzeni.

Celem przeprowadzonych badań była izolacja i identyfikacja mikroorganizmów występujących na chorych roślinach oraz określenie ich chorobotwórczości dla różnych gatunków i odmian żarnowca.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał roślinny. Chore rośliny *C. decumbens*, *C. nigricans* odmiana Cyni i *C. scoparius* stwierdzono w szkółce pojemnikowej w lipcu 2014 roku i były to ukorzenione sadzonki w 1-litrowych pojemnikach ustawione na zagonie wyścielonym czarną matą. Były one niższe od obok rosnących roślin i chlorotyczne. Niektóre miały już zbrązowiałe pędy, które stopniowo zamierały. Po pociągnięciu, rośliny można było łatwo wyciągnąć z podłoża z powodu silnej redukcji systemu korzeniowego. W trakcie kolejnej obserwacji, przeprowadzonej 3 tygodnie później, objawy chorobowe stwierdzono również na 2–3-letnich roślinach, uprawianych w 3-litrowych pojemnikach. Początkowo część, a w ciągu następnych kilkunastu dni większość roślin zmieniała barwę na jasnozieloną, po czym pędy więdły, brązowiały i stopniowo zamierały.

Analiza mykologiczna porażonych roślin. Rośliny wykazujące symptomy chorobowe wraz z podłożem umieszczano pojedynczo w workach foliowych i przewożono do laboratorium. Po ich umyciu i opisanu objawów chorobowych, wycinano fragmenty roślin z podstawy pędu i korzeni. Po oddzieleniu wybranych tkanek płukano je ponownie w wodzie destylowanej, osuszano pomiędzy

warstwami sterylnej bibuły filtracyjnej, odkażano nad płomieniem palnika i około 3 mm fragmenty wykładano na pożywkę PDA (Potato Dextrose Agar) w szalkach Petriego o średnicy 90 mm. Na każdą z nich wykładano po 20 fragmentów. Po 3 dniach inkubacji szalek w temperaturze 25°C w ciemności, fragmenty pożywki, przerośniętej strzępkami mikroorganizmów, przeszczepiano na skosy z pożywką PDA. Po 10 dniach z uzyskanych kultur wybierano izolaty reprezentacyjne, które oznaczano do gatunku na podstawie ich cech morfologicznych (Sutton 1980; Gerlach i Nirenberg 1982; Erwin i Ribeiro 1996; Gallegly i Hong 2008). Identyfikację potwierdzano w reakcji PCR (polymerase chain reaction) z dostępnymi w literaturze starterami.

Analiza podłoża na obecność *Phytophthora* spp. Z brył korzeniowych 10 wybranych roślin otrząsano około 0,5 l podłoża i umieszczano je w kuwetach fotograficznych (35 × 25 × 5 cm). Następnie podłoże zalewano wodą destylowaną, tak aby była ona około 1 cm powyżej powierzchni ziemi i wykładano po 8 liści różanecznika odmiany Nova Zembla, a następnie okrywano szczelnie folią (Themann i Werres 1998; Orlikowski i wsp. 2011a). Po 4–5 dniach inkubacji w temperaturze 22–24°C liście wyjmowano, płukano pod wodą destylowaną, osuszano, a fragmenty nekrotycznych plam wykładano na pożywkę PDA stosując technikę, jak przy wykładaniu fragmentów porażonych tkanek z podstawy pędu i korzeni.

Ocena chorobotwórczości *Phytophthora cryptogea* dla żarnowca. Izolatem uzyskanym z porażonej podstawy pędu *C. decumbens* zainokulowano podstawy fragmentów pędów i korzeni różnych gatunków i odmian żarnowców, o długości około 7 cm, umieszczonych w kuwetach fotograficznych na wilgotnej, sterylnej bibule filtracyjnej przykrytej cienką siatką nylonową. Do inokulacji wykorzystano krążki pożywki przerośnięte strzępkami *P. cryptogea* pobrane z brzegu 7-dniowych kultur rosnących w temperaturze 25°C. Kuwety okrywano szczelnie folią i inkubowano na stołach laboratoryjnych. Po 3 i 6 dniach mierzono długość nekrozy.

W doświadczeniach szklarniowych na uszkodzone skalpelem podstawy pędu 2-letnich żarnowców наносono krążki pożywki przerośnięte strzępkami *P. cryptogea*. Rośliny ustawiono na parapecie w szklarni i okryto folią. Po 7 i 10 dniach uprawy w temperaturze 18–26°C i wilgotności względnej powietrza 65–78% mierzono długość nekrozy.

Doświadczenia założono w układzie całkowicie losowym, w 4 powtórzeniach po 5 fragmentów pędów i korzeni, a w szklarni po 5 roślin. Doświadczenia powtórzono 2-krotnie w odstępie 2-tygodniowym. Ze względu na zbliżone wyniki przedstawiono je dla pojedynczych doświadczeń. Wyniki z przeprowadzonych doświadczeń opracowano statystycznie metodą analizy wariancji. Istotność różnic pomiędzy średnimi ($\alpha = 0,05$) oceniono testem Duncana.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Analiza mykologiczna 31 porażonych roślin wykazała występowanie na nich 9 gatunków grzybów i organizmów

grzybobodobnych, wśród których dominował *P. cryptogea* (tab. 1). Stwierdzono go na wszystkich gatunkach żarnowca i występował w tkankach 29 spośród 31 analizowanych roślin. W reakcji PCR ze starterami zaprojektowanymi dla *P. cryptogea* CRYF1/CRYF2 (Boersma i wsp. 2000) oraz Cryp1/Cryp2 (Minerdi i wsp. 2008) otrzymano wynik pozytywny, potwierdzając tym samym przynależność gatunkową izolatów.

Inne gatunki mikroorganizmów występowały rzadko lub sporadycznie, a wśród nich *Botrytis cinerea* Pers. i *Fusarium solani* (Mart.) Sny et Hans (tab. 1). Zastosowanie pułapek z liści różanecznika dało możliwość stwierdzenia występowania *P. cryptogea* również w podłożu pobranym spod chorych roślin.

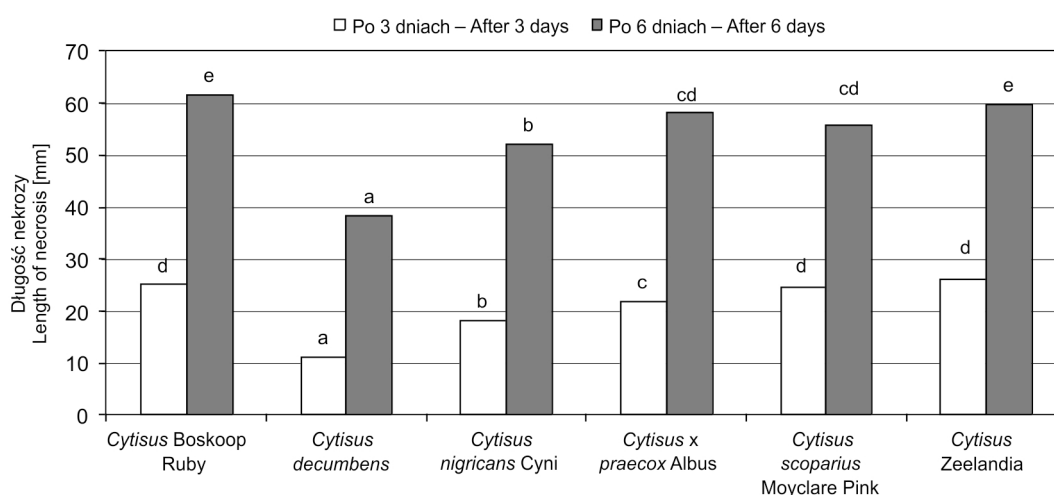
Inokulacja pędów i korzeni różnych gatunków i odmian żarnowca przez *P. cryptogea* spowodowała rozwój nekrozy na tych organach (rys. 1, 2). Na zainokulowanych pędach, zarówno po 3, jak i 6 dniach inkubacji, nekroza rozwijała się istotnie najwolniej na *C. decumbens*, a następnie *C. nigricans* odmiana Cyni, szybciej na *C. praecox* odmiana Albus, a najszybciej na odmianach Boskoop Ruby i Zeelandia oraz *C. scoparius* odmiana Moyclare Pink (rys. 1). Długość nekrotycznych plam po 6 dniach inkubacji wahała się od około 38 do 62 mm (rys. 1), co świadczy o bardzo szybkiej kolonizacji tkanek przez *P. cryptogea*.

Tabela 1. Grzyby i organizmy grzybobodobne wyizolowane z porażonej podstawy pędu żarnowca
Table 1. Fungi and fungal – like organisms isolated from rotted stem bases of scotch brooms

Rodzaj/gatunek Genera/species	<i>Cytisus decumbens</i> (n = 16)		<i>Cytisus nigricans</i> Cyni (n = 12)		<i>Cytisus scoparius</i> (n = 3)	
	a	b	a	b	a	b
<i>Alternaria alternata</i> Nees	2	3	–	–	1	3
<i>Botrytis cinerea</i> Pers	3	4	2	4	–	–
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sny et Hans.	1	3	–	–	–	–
<i>Gliocladium roseum</i> Link.	2	5	4	6	2	4
<i>Mucor</i> sp.	2	3	2	4	–	–
<i>Penicillium</i> sp.	3	4	–	–	1	3
<i>Phytophthora cryptogea</i> Pethybr. et Laff.	14	26	12	19	3	7
<i>Pythium ultimum</i> Trow	3	5	2	4	–	–
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	2	4	–	–	1	2

a – liczba roślin, z których izolowano mikroorganizmy – number of plants colonized by microorganisms

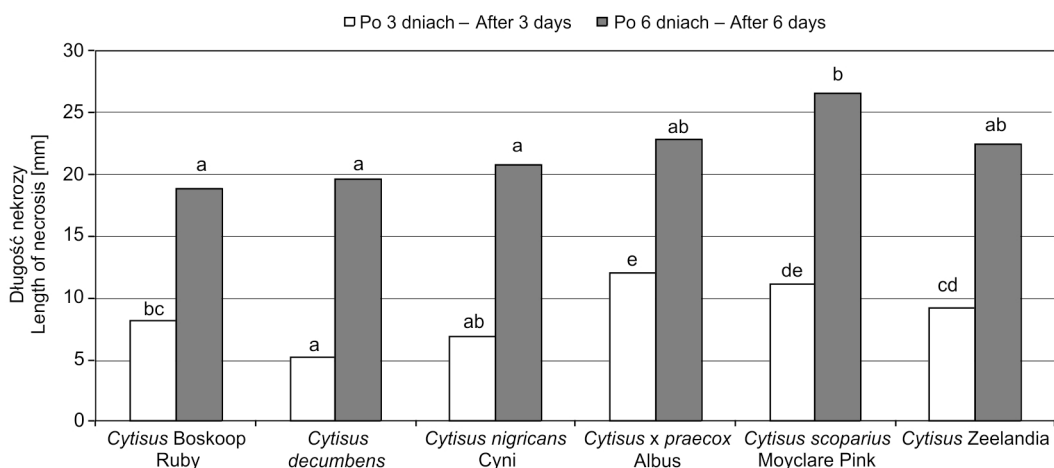
b – liczba uzyskanych izolatów – number of isolates obtained



Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncan
Means in columns, followed by the same letter, do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Rys. 1. Kolonizacja pędów żarnowca przez *Phytophthora cryptogea* w zależności od gatunku/odmiany i czasu inkubacji; doświadczenie laboratoryjne

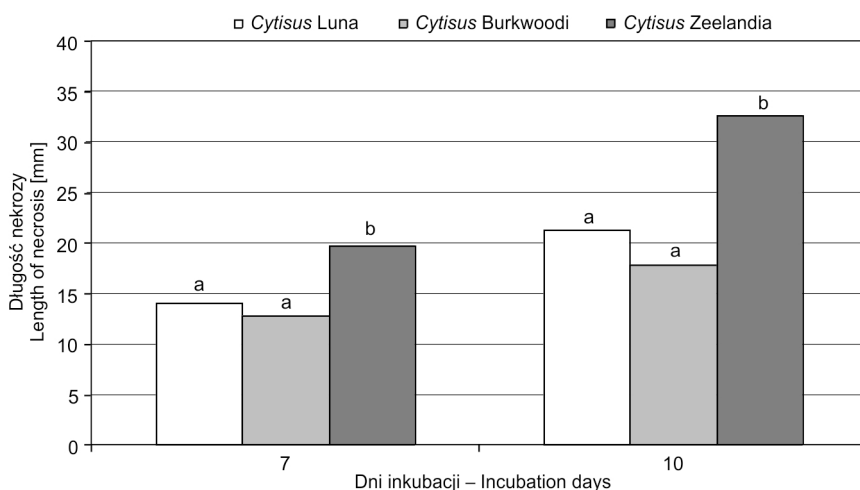
Fig. 1. Colonisation of scotch broom stem parts by *Phytophthora cryptogea* in relations to species/cultivars and incubation period; laboratory trial



Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncan
Means in columns, followed by the same letter, do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Rys. 2. Kolonizacja korzeni żarnowca przez *Phytophthora cryptogea* w zależności od gatunku/odmiany i czasu inkubacji; doświadczenie laboratoryjne

Fig. 2. Colonisation of scotch broom roots by *Phytophthora cryptogea* in relation to species/cultivars and incubation period; laboratory trial



Średnie w słupkach, oznaczone tą samą literą, nie różnią się istotnie (5%) według testu Duncan
Means in columns, followed by the same letter, do not differ (5%) according to Duncan's multiple range test

Rys. 3. Kolonizacja pędów żarnowca przez *Phytophthora cryptogea* w zależności od odmiany i czasu inkubacji; doświadczenie szklarniowe

Fig. 3. Colonisation of scotch broom stem parts by *Phytophthora cryptogea* in relations to cultivar and incubation time; greenhouse trial

Analiza rozwoju zgnilizny na korzeniach wykazała kolonizację tkanek wszystkich gatunków i odmian (rys. 2). Zarówno po 3, jak i 6 dniach inkubacji nekroza rozwijała się istotnie szybciej na *C. scoparius* odmiana Moyclare Pink (rys. 2).

W doświadczeniu szklarniowym (rys. 3) gatunek *P. cryptogea* kolonizował pędy 3 badanych odmian, przy czym nekroza rozwijała się istotnie szybciej na odmianie Zeelandia aniżeli na odmianach Luna i Burkwoodii. Na zainkubowanych tkankach nekroza rozwijała się od około 1,6 do 3,2 mm na dobę (rys. 3).

Analiza mykologiczna porażonych żarnowców wykazała dominację *P. cryptogea*. Gatunek ten stwierdzono po raz pierwszy w 1917 roku w Irlandii na pomidorach z objawami zgnilizny podstawy pędu i korzeni (Erwin

i Ribeiro 1996), następnie w Wielkiej Brytanii w zbiorniku z wodą do podlewania roślin (Bewley i Buddin 1921), a w Polsce w latach 60. XX wieku w szklarniowej uprawie gerbery (Orlikowski 1978). W uprawach polowych gatunek stwierdzono pod koniec XX wieku jako przyczynę zgnilizny podstawy pędu jodły (Orlikowski i wsp. 1995). W minionym 20-leciu *P. cryptogea* opisano między innymi na hyzopie lekarskim i cykorii podróżnik (Orlikowski i Ptaszek 2009), a także w rzekach i wodach stojących (Orlikowski i wsp. 2011b). W przypadku używania do podlewania roślin w szkółkach wody pobieranej z pobliskich cieków czy zbiorników, istnieje możliwość wniesienia tego gatunku do nasadzeń żarnowca. Jeszcze do niedawna była to roślina niestwarzająca żadnych problemów w uprawie. O jej niewielkich wymaganiach świadczy jej natu-

ralne występowanie na nieużytkach oraz fakt, iż uważana jest za roślinę pionierską, zasiedlającą zdegradowane tereny (Vettraino i Vaninni 2003). Niniejsze dane, po opublikowaniu wyników przez Hardy i Sivasithamparam (1988) oraz Matsumoto i Sato (1979) stanowią kolejną informację o zasiedlaniu żarnowca przez *P. cryptogea*. Dane innych badaczy wskazują, że żarnowiec należy do grupy roślin wrażliwych na *Phytophthora*, o czym świadczą wykrycie w porażonych tkankach podstawy pędu 4 innych gatunków tego rodzaju. Stwierdzony w porażonych tkankach większości analizowanych roślin gatunek *P. cryptogea* powodował bardzo szybką kolonizację szczególnie pędów żarnowca, a różnice w tempie zasiedlania różnych gatunków i odmian były prawdopodobnie związane z różnym stopniem ich zdrewnienia. Omawiany gatunek może więc stanowić bardzo duże zagrożenie dla żarnowców uprawianych w szkółkach kontenerowych, zwłaszcza gdy do podlewania stosuje się wodę z pobliskich cieków i wód stojących.

Niniejsze badania stanowią pierwszą informację o występowaniu i zagrożeniu żarnowca przez *P. cryptogea* w Polsce.

Wnioski / Conclusions

1. *P. cryptogea* był najczęściej izolowanym gatunkiem z żarnowców wykazujących objawy zahamowania rozwoju, chlorozy i zgnilizny podstawy pędów i korzeni.
2. *P. cryptogea* stwierdzono również w podłożu pobranym spod porażonych roślin.
3. Izolat *P. cryptogea* z porażonej podstawy pędu kolonizował tkanki różnych gatunków i odmian żarnowca, przy czym nekroza rozwijała się około 2-krotnie szybciej na częściach pędów aniżeli na korzeniach.
4. Stwierdzono różnice w podatności gatunków i odmian żarnowca na porażenie przez *P. cryptogea*.

Literatura / References

- Bewley W.F., Buddin W. 1921. On the fungus flora of glasshouse water supplies in relation to plant disease. *Annals of Applied Biology* 8 (1): 10–19.
- Boersma J.G., Cooke D.E.L., Sivasithamparam K. 2000. A survey of wildflower farms in the south-west of Western Australia for *Phytophthora* spp. associated with root rots. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40 (7): 1011–1019.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul, MN, 562 pp.
- Gallegly M.E., Hong C.X. 2008. *Phytophthora*: Identifying Species with Morphology and DNA Fingerprints. APS Press, St. Paul, MN, 158 pp.
- Gerlach W., Nirenberg H. 1982. The Genus *Fusarium* – a pictorial atlas. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft*, 406 pp.
- Hardy G.E., Sivasithamparam K. 1988. *Phytophthora* spp. associated with container-grown plants in nurseries in Western Australia. *Plant Disease* 72 (5): 435–437.
- Matsumoto N., Sato T. 1979. *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. found in alfalfa-field soil. *Annals of Phytopathological Society of Japan* 45 (3): 362–368.
- Minerdi D., Moretti M., Li Y., Gaggero L., Garibaldi A., Gullino M.L. 2008. Conventional PCR and real time quantitative PCR detection of *Phytophthora cryptogea* on *Gerbera jamesonii*. *European Journal of Plant Pathology* 122 (2): 227–237.
- Nagel J.H., Gryzenhout M., Slippers B., Wingfield M.J. 2013. The occurrence and impact of *Phytophthora* on the African continent. p. 204–214. In: "Phytophthora: A Global Perspective" (K. Lamour, ed.). CAB International, Boston, Minnesota, 256 pp.
- Orlikowski L.B. 1978. The occurrence of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. in gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) growing sites. *Bulletin l'Academy Polish Science* 7: 495–498.
- Orlikowski L.B., Gabarkiewicz R., Skrzypczak Cz. 1995. *Phytophthora* species in Polish ornamental nurseries. I. Isolation and identification of *Phytophthora* species. *Phytopathologia Polonica* 21: 73–79.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M. 2009. Rola chwastów ruderalnych i wody w przeżywalności i rozprzestrzenianiu *Phytophthora cryptogea* w środowisku. [Influence of ruderal plants and water on survival and spread of *Phytophthora cryptogea* in the environment]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 49 (3): 1085–1091.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. 2011a. Przydatność pułapek liściowych do detekcji *Phytophthora* spp. z wody. [Usefulness of plant leaf baits for detection of *Phytophthora* spp. from water]. *Sylwan* 155 (7): 493–499.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T. 2011b. Occurrence of *Phytophthora* spp. in rivers, canals and water reservoirs in relation to its location, seasonal analysis and fungicide residues. *Ecological Chemistry and Engineering* 18 (11): 1551–1556.
- Pane A., Cacciola S.O., Adornetto M., Russo G.P., Badala F., San Lio G.M. 2005. Root and basal stem rot of scotch broom caused by *Phytophthora citricola* and *P. drechsleri* in Italy. *Plant Disease* 89 (10), p. 1131.
- Rattink H., Steekelenburg N.A.M. 1973. The occurrence of *Phytophthora citricola* Sawada sensu Waterhouse (syn. *P. cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. var. *applanata* Chest.) in ornamentals in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 79 (6): 277–278.
- Sutton B.C. 1980. The *Coelomycetes*: Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 696 pp.
- Themann K., Werres S. 1998. Verwendung von Rhododendronblättern zum Nachweis von *Phytophthora*-Arten in Wurzeln- und Bodenproben. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzen-schutzdienstes* 50 (2): 37–45.
- Vettraino A.M., Vannini A. 2003. Scotch broom: a new host of *Phytophthora megasperma* in Italy. *Plant Pathology* 52 (3), p. 417.