

Phytophthora cryptogea jako przyczyna zamierania *Ajuga reptans* w szkółkach bylinowych

Magdalena Ptaszek, Leszek B. Orlikowski

Instytut Ogrodnictwa
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Polska

Abstrakt. Celem prowadzonych badań była izolacja, identyfikacja oraz ocena chorobotwórczości czynnika powodującego zamieranie nasadzeń *Ajuga reptans* w szkółkach bylinowych. Z roślin z objawami zgnilizny podstawy pędu oraz korzeni, jak również z podłoża izolowano *Phytophthora cryptogea*. Identyfikację patogena przeprowadzono w oparciu o cechy morfologiczne oraz stosując technikę PCR ze starterami gatunkowo specyficznymi. W warunkach laboratoryjnych omawiany gatunek kolonizował liście, ogonki liściowe i korzenie *A. reptans* 'Multicolor', powodując na nich rozwój zgnilizny. Ponadto badany izolat zasiedlał tkanki 5 odmian w obrębie gatunku *A. reptans* oraz gatunku mieszańcowego, powszechnie uprawianych w kontenerowych szkółkach roślin ozdobnych. Najbardziej podatna na *P. cryptogea* okazała się odmiana 'Braunherz'. Doświadczenia nad wpływem temperatury na rozwój patogena wykazały, iż rozwijał się on w zakresie od 5°C do 30°C, przy optimum 25°C.

słowa kluczowe: *Phytophthora cryptogea*, *Ajuga reptans*, izolacja, identyfikacja, chorobotwórczość

WSTĘP

Gatunki rodzaju *Phytophthora* należą do najgroźniejszych patogenów glebowych roślin, coraz częściej notowanych w naszym kraju zarówno w uprawach szkółkarskich, jak i w naturalnych stanowiskach (Orlikowski i in., 2012a). Źródłem patogenów tego rodzaju może być importowany materiał roślinny, sadzonki pozyskiwane z chorych roślin, jak również woda skażona gatunkami z rodzaju *Phytophthora*, wykorzystywana do nawadniania upraw (Brasier, 2008; Orlikowski, 2006; Orlikowski i in., 2012a; Orlikowski i in., 2012 b). Coroczne badania zdrowotności bylin

w polskich szkółkach kontenerowych wskazują na systematycznie rosnącą listę roślin-gospodarzy dla *Phytophthora* spp.

W 2011 roku, w jednej ze szkółek bylinowych, po raz pierwszy zaobserwowano masowe zamieranie dąbrówki (*Ajuga reptans* L.), byliny używanej głównie jako rośliny okrywowej oraz do kompozycji ogrodowych. Przyczyną choroby była zgnilizna podstawy pędu i korzeni. Nekroza rozszerzała się stopniowo na blaszki liściowe. Zainfekowane rośliny więdły, brązowiały i zamierały. Celem niniejszych badań była izolacja, identyfikacja, charakterystyka morfologiczna oraz ocena patogeniczności czynnika wywołującego objawy chorobowe.

MATERIAŁ I METODY

Izolacja mikroorganizmów z porażonych roślin i podłoża

Rośliny *A. reptans* 'Multicolor' z objawami choroby pobierano wraz z podłożem (każda roślina wraz z podłożem w oddzielnym worku foliowym) i przewożono do laboratorium w celu wykonania analizy mikologicznej. Rośliny dokładnie płukano pod wodą bieżącą i destylowaną. Fragmenty chorych roślin sterylizowano powierzchniowo nad płomieniem palnika i ok. 5 mm fragmenty, pobierane z pogranicza zdrowej i chorej tkanki wykładano na pożywkę glukozowo-ziemniaczaną (PDA – Potato Dextrose Agar). Kultury wyrastające wokół wyłożonych tkanek przeszczepiano na skosy PDA i po 5–10 dniach izolaty oznaczano do rodzajów na podstawie obserwacji mikroskopowych sporządzonych preparatów. Do izolacji czynników chorobotwórczych z podłoża i systemu korzeniowego zastosowano technikę pułapkową z liśćmi różanecznika odm. Nova Zembla (Themann, Werres, 1998; Orlikowski i in., 2011b). Podłoże wraz z fragmentami korzeni zamierających roślin wykładano do kuwet fotograficznych i zalewano wodą destylowaną ok. 1 cm powyżej powierzchni podłoża, a następnie umieszczano w nich liście różanecz-

Autor do kontaktu:

Magdalena Ptaszek
e-mail: magdalena.ptaszek@inhort.pl
tel. +48 46 8345542

Praca wpłynęła do redakcji 8 lipca 2013 r.

ników, okrywano folią i ustawiano na stołach w laboratorium. Po 3–5 dniach inkubacji liście z ciemnozielonymi nekrotycznymi plamami odkażano i wykładano na pożywkę PDA. Dalsze postępowanie było identyczne, jak opisano powyżej. Po stwierdzeniu, iż czynnikiem sprawczym był gatunek należący do rodzaju *Phytophthora*, przeprowadzono dalszą identyfikację morfologiczną oraz molekularną otrzymanych izolatów.

Charakterystyka morfologiczna

W celu charakterystyki i pomiaru zoosporangiów kultury z rodzaju *Phytophthora* wyszczepiano na pożywkę CPA (Carrot Piece Agar – Werres i in., 2001b). Z brzegów 5–7-dniowych kolonii wycinano korkoborem 10 mm średnicy krążki pożywki przerośniętej *Phytophthora* sp., a następnie umieszczano je w szalkach Petriego i zalewano 1% wyciągiem glebowym (Erwin, Ribeiro, 1996). Po 3 dniach inkubacji dokonywano pomiarów 50 losowo wybranych zarodni.

W celu określenia typu kojarzeniowego i pomiaru struktur płciowych gatunków heterotalicznych badane izolaty oraz referencyjne kultury o znanym typie kojarzeniowym (BBA 65909 – A1; BBA 63651 – A2 – udostępnione przez dr S. Werres, JKI) wyszczepiano na szalki z pożywką CPA, tak aby odległość między nimi wynosiła 3 cm. Szalki inkubowano w ciemności w 25°C. Po upływie 3 tygodni dokonywano pomiarów 50 losowo wybranych oogoniów, anteridiów i oospor.

Identyfikacja za pomocą techniki PCR

Do izolacji DNA wyselekcjonowanych izolatów zastosowano metodę opisaną przez Aljanabi i Martinez (1997) zmodyfikowaną przez Wiejachę i in. (2002). Do identyfikacji kultur zastosowano technikę PCR ze starterami gatunkowo specyficznymi CRYF2/CRYR2 (Boersma i in., 2000) oraz Cryp1/Cryp2 (Minerdi i in., 2008).

Wpływ temperatury na rozwój patogena

Tempo wzrostu badano na pożywce CPA i PDA w temperaturze od 5 do 35°C co 5°C przez okres 2 tygodni. Z brzegów 7-dniowych kultur rosnących na pożywce PDA wycinano korkoborem krążki o średnicy 5 mm i umieszczano je w 90 mm szalkach Petriego z badaną pożywką. Na spodniej stronie szalki wykreślano dwie linie przecinające się pod kątem prostym w środku krążka inokulacyjnego. Szalki inkubowano przez 24 godziny w 25°C, w celu zainicjowania wzrostu. Wzrost ten traktowano jako okres preinkubacji i nie brano go pod uwagę przy obliczaniu tempa rozwoju patogena. Następnie szalki umieszczano w termostatach w temperaturze od 5°C do 35°C. W każdej temperaturze umieszczano po 4 szalki na danej pożywce. Wzrost kolonii mierzono wzdłuż wykreślonych linii, przed osiągnięciem przez kulturę maksimum wzrostu w danej temperaturze (Werres i in., 2001a, met. zmodyfikowana przez Werres).

Ocena patogeniczności

Testy patogeniczności w stosunku do *A. reptans* 'Multi-color' oraz ocenę podatności 2 gatunków i 5 odmian dąbrówki na omawiany czynnik chorobotwórczy przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych. Na korzenie, blaszki i ogonki liściowe umieszczone w kuwetach wyłożonych wilgotną bibułą filtracyjną, przykrytą plastikową siatką nanoszono 3 mm średnicy krążki pożywki pobierane z brzegów 7-dniowych kultur rosnących na pożywce PDA. Kuwety okrywano folią w celu zwiększenia wilgotności i ustawiano na stołach laboratoryjnych (Orlikowski, Szukta, 2002). Rozwój nekrozy mierzono dwukrotnie w ciągu 6 dni inkubacji. Doświadczenie założono w 4 powtórzeniach po 5 organów roślin. Wyniki z przeprowadzonych doświadczeń opracowano statystycznie metodą analizy wariancji. Istotność różnic pomiędzy średnimi ($\alpha = 0,05$) oceniono testem Duncana.

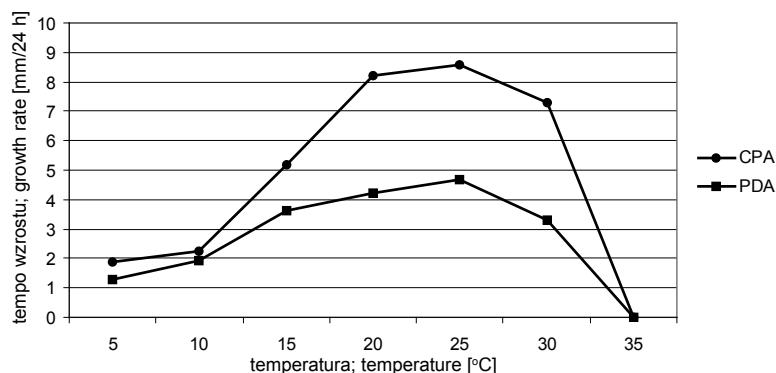
WYNIKI

Z porażonych tkanek dąbrówki oraz z podłoża izolowano *Phytophthora cryptogea* Pethybridge & Lafferty. Oprócz tego gatunku ze znekrotyzowanych tkanek uzyskano również *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Botrytis cinerea* Pers., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. i *Trichoderma* spp. Najprawdopodobniej gatunki te zasiedlały wtórnie tkanki dąbrówki.

Uzyskane izolaty *P. cryptogea* na pożywce PDA tworzyły kultury o bardzo delikatnym wzorze kwiatowym. Z kolei na podłożu CPA widoczne były delikatne strzępki powietrzne, kultury nie posiadały wyraźnego wzoru. W roztworze glebowym obserwowano charakterystyczne zgrubienia strzępkowe oraz liczne zoosporangia typu nonpapillate. Zarodnie były kształtu jajowatego o średnich wymiarach (dł. x szer.) 50,5 x 33,4 μm (42,6–60,6 x 29,0–39,7). Stosunek długości do szerokości wynosił 1,51:1. Organy rozmnażania generatywnego obserwowano po przeprowadzeniu testów kojarzeniowych z kulturą BBA 65909 – gatunek heterotaliczny. Izolat z *A. reptans* 'Multi-color' określono jako typ A2. Oogonia były gładkościenne, o wymiarach od 28 do 37 μm . Anteridia były typu amfigenicznego, jednokomórkowe, o wymiarach 12,5–19,2 x 13,0–16,7 μm . Oospory były plerotypyczne o wymiarach od 24,0 do 32,7 μm .

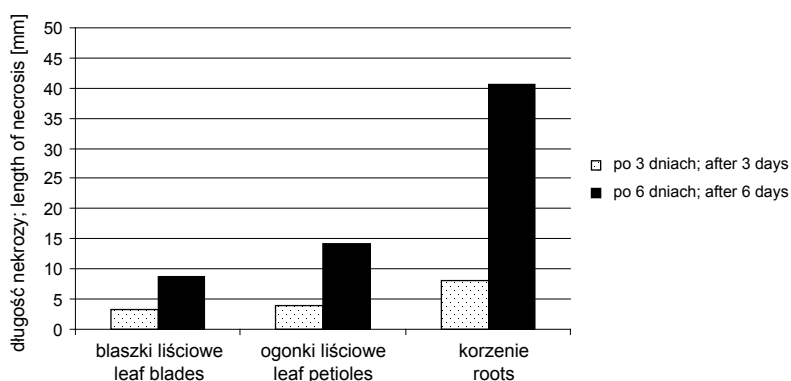
W reakcji PCR ze starterami gatunkowo specyficznymi CRYF2/CRYR2 (Boersma i in., 2000) oraz Cryp1/Cryp2 (Minerdi i in., 2008) uzyskano pozytywny wynik potwierdzający przynależność gatunkową badanych kultur.

Badany izolat rozwijał się w zakresie temperatury od 5°C (1,87 mm/24 h – CPA; 1,29 mm/24 h – PDA) do 30°C (7,31 mm/24 h – CPA; 3,32 mm/24 h – PDA). Optimum temperaturowe wynosiło 25°C (8,58 mm/24 h – CPA; 4,7 mm/24 h – PDA). Nie obserwowano wzrostu kultury w 35°C (rys. 1).



Rys. 1. Tempo wzrostu *Phytophthora cryptogea* izolatu z *Ajuga reptans* ‘Multicolor’ na pożywce CPA i PDA w zależności od temperatury

Fig. 1. Growth rate of *Phytophthora cryptogea* isolate from *Ajuga reptans* ‘Multicolor’ on CPA and PDA medium in relation to temperature.



Rys. 2. Kolonizacja organów *Ajuga reptans* ‘Multicolor’ przez izolat *Phytophthora cryptogea*

Fig. 2. Colonisation of *Ajuga reptans* ‘Multicolor’ organs by *Phytophthora cryptogea* isolate.

Tabela 1. Kolonizacja blaszek liściowych *Ajuga* spp., przez izolat *Phytophthora cryptogea*

Table 1. Colonisation of *Ajuga* spp. leaf blades by *Phytophthora cryptogea* isolate.

Gatunki i odmiany <i>Ajuga</i> Species and cultivars of <i>Ajuga</i>	Długość nekrozy [mm] Length of necrosis [mm] after days of incubation	
	3	5
	<i>Ajuga reptans</i>	3,6 a
<i>A. reptans</i> ‘Atropurpurea’	4,6 b	10,2 a
<i>A. reptans</i> ‘Black Scallop’	3,1 a	4,5 a
<i>A. reptans</i> ‘Braunherz’	6,6 c	16,2 b
<i>A. reptans</i> ‘Edi’	3,7 ab	6,2 a
<i>A. reptans</i> ‘Multicolor’	4,0 ab	7,5 a
<i>A. x tenorii</i> ‘Chocolate Chip’	4,5 b	5,6 a

Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie ($\alpha = 0,05$) wg testu Duncana

Means in columns followed by the same letter are not significantly different at $\alpha = 0.05$ acc. to Duncan’s multiple range test.

W warunkach laboratoryjnych potwierdzono chorobotwórczość *P. cryptogea*. Badany izolat zasiedlał blaszki i ogonki liściowe, jak również korzenie dąbrówki rozłogowej odm. ‘Multicolor’. Po 6 dniach inkubacji nekroza

rozwickała się najszybciej na korzeniach (40,6 mm), zaś w podobnym tempie na blaszkach (8,7 mm) i ogonkach liściowych (14,2 mm) (rys. 2).

Ponadto izolat *P. cryptogea* kolonizował 5 odmian w obrębie gatunku *A. reptans* oraz gatunek mieszańcowy (*A. x tenorii*), co wskazuje na zagrożenie upraw tych roślin przez badanego patogena. Najbardziej podatna na omawiany czynnik chorobotwórczy okazała się odmiana ‘Braunherz’ (tab. 1). W celu spełnienia postulatów Kocha, po zakończonych doświadczeniach, ze zmienionych chorobowo tkanek reizolowano czynnik sprawczy i ponownie oznaczono go do gatunku jako *P. cryptogea*.

DYSKUSJA

Dotychczas w uprawie bylin i krzewinek ozdobnych w Polsce stwierdzono występowanie *P. cinnamomi* na lawendzie (*Lavandula angustifolia*) (Orlikowski, Valiuskaite, 2007) i *P. citrophthora* m.in. na ubiorku (*Iberis sempervirens*) (Orlikowski, 2006), barwinku (*Vinca major*) (Orlikowski i in., 2011a), skalnicy (*Saxifraga paniculata*) (Ptaszek, 2008), lawendzie (*L. angustifolia*), penstemonie (*Penstemon barbatus*) i żurawce (*Heuchera* spp.) (Ptaszek, Orlikowski, 2010). Obok wymienionych patogenów, istotne zagrożenie w szkółkach bylinowych stanowi rów-

niez gatunek *Phytophthora cryptogea*, który corocznie izolowany jest z nowych roślin-gospodarzy. Patogen został opisany po raz pierwszy w 1919 roku jako przyczyna zamierania pomidorów w Irlandii (Erwin, Ribeiro, 1996). Z kolei w 1921 roku omawiany czynnik chorobotwórczy izolowano z wody wykorzystywanej do podlewania upraw pod osłonami (Bewley, Buddin, 1921). Do roku 1996 zidentyfikowano 150 roślin żywicielskich dla tego gatunku (Erwin, Ribeiro, 1996). W Polsce występowanie patogena stwierdzono po raz pierwszy w latach 60. XX wieku w nasadzeniach gerbery uprawianej z importowanych sadzonek (Orlikowski, 1978). W latach 1964–1984 straty z powodu zgnilizny podstawy pędu gerbery dochodziły do 50% (Orlikowski i in., 2012a). W kolejnych latach *P. cryptogea* notowano w uprawach pod osłonami m.in. na cynerarii, pachypodium, pelargonii, siningii, alstremerii i poinsejji (Orlikowski i in., 1984; Orlikowski, 1993, 1996; Orlikowski, Ptaszek, 2013; Ptaszek, Skrzypczak, 2008). W polskich szkółkach kontenerowych omawiany gatunek powodował zgniliznę korzeni i podstawy pędu cyprysika Lawsons (*Chamaecyparis lawsoniana*), świerka białego (*Picea glauca*) (Szkuta, 2004), forsycji (*Forsythia intermedia*) (Orlikowski, Ptaszek, 2008) i żywotnika zachodniego (*Thuja occidentalis*) (Orlikowski, Ptaszek, 2010). W uprawie bylin *P. cryptogea* powodował znaczne straty w nasadzeniach rojników (*Sempervivum* spp.), skalnicy (*Saxifraga* spp.) i orlika (*Aquilegia discolor*) (Orlikowski, Ptaszek, 2007), dzwonków (*Campanula persicifolia*) (Ptaszek, Orlikowski 2010), lewizji (*Lewisia cotyledon*) (Ptaszek, Orlikowski, 2012), barwinka (*Vinca minor*) (Orlikowski i in., 2011a) i rozchodników (*Sedum* spp.). Gatunek ten powodował wypadanie roślin nawet do 60% (Orlikowski i in., 2012a).

W testach patogeniczności potwierdzono chorobotwórczość *P. cryptogea* względem *A. reptans* 'Multicolor', jak również innych odmian w obrębie tego gatunku i gatunku mieszańcowego *A. x tenorii* powszechnie uprawianych zarówno w szkółkach, ogrodach, jak i na terenach zieleni. Z badań własnych (Ptaszek, Orlikowski, 2010) oraz Orlikowskiego i Ptaszek (2008) wynika również, iż izolaty tego gatunku z bylin, ze względu na swoją polifagiczność, mają zdolność do kolonizacji innych gatunków roślin, zarówno liściastych, jak i iglastych. Byliny mogą więc stanowić źródło tego patogena w szkółkach, ogrodach i parkach. *Ajuga reptans* jest zatem kolejnym żywicielem *P. cryptogea* oraz potencjalnym źródłem infekcji dla innych roślin.

Obecność omawianego gatunku stwierdzono również w ciekach i zbiornikach wodnych na terenie kraju. *P. cryptogea* izolowano ze stawów zlokalizowanych na terenie szkółek roślin ozdobnych, skąd pobiera się wodę do nawadniania upraw, kanałów odprowadzających nadmiar wody ze szkółek, jak również z rzek przepływających przez tereny ogrodnicze (Orlikowski i in., 2011c; Trzewik i in., 2011; Orlikowski i in., 2012b). Badane izolaty wodne okazały się patogeniczne dla testowanych roślin, dlatego

też stosowanie do podlewania skażonej przez zoospory *P. cryptogea* wody może doprowadzić do wniesienia patogena do uprawy i zakażenia roślin (Orlikowski i in., 2012b).

WNIOSKI

1. Z tkanek roślin *Ajuga reptans*, wykazujących objawy chorobowe oraz z podłoża izolowano głównie *Phytophthora cryptogea*.
2. Optymalna temperatura dla rozwoju patogena wynosi 25°C.
3. *Ajuga reptans* jest nową rośliną żywicielską dla *P. cryptogea* i stanowi potencjalne źródło infekcji dla innych roślin.

Podziękowania:

Autorzy dziękują dr Sabine Werres (Julius Kuehn Institute, Braunschweig) za udostępnienie kultur referencyjnych o znanym typie kojarzeniowym.

PIŚMIENNICTWO

- Aljanabi S.M., Martinez I. 1997.** Universal and rapid salt – extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucl. Acids Res., 25(22): 4692-4693.
- Bewley W.F., Buddin W., 1921.** On the fungus flora of glasshouse water supplies in relation to plant disease. Ann. Appl. Biol., 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 J. Exp. Agric., 40(7): 1011-1019.
- Brasier C.M., 2008.** The biosecurity threat to the UK and global environment from international trade plants. Plant Pathol., 57(5): 792-808.
- Erwin D.C., Ribeiro O.K., 1996.** *Phytophthora* diseases worldwide. APS, St. Paul, Minnesota, 562 ss.
- Minerdi D., Moretti M., Li Y., Gaggero L., Garibaldi A., Gulmino M.L., 2008.** Conventional PCR and real time quantitative PCR detection of *Phytophthora cryptogea* on *Gerbera jamesonii*. Eur. J. Plant Pathol., 122(2): 227-237.
- Orlikowski L.B., 1978.** The occurrence of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Laff. in gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) growing sites. Bull. Pol. Acad. Sci., 26: 495-498.
- Orlikowski L.B., 1993.** *Phytophthora* stem rot of *Pachypodium lameri* and its control. Phytopathol. Pol., 5: 17-21.
- Orlikowski L. B., 1996.** *Phytophthora* stem rot of *Pelargonium*. Phytopathol. Pol., 12: 79-86.
- Orlikowski L.B., 2006.** Relationship between source of water used for plant sprinkling and occurrence of *Phytophthora* shoot rot and tip blight in container-ornamental nurseries. J. Plant Protect. Res., 46(2): 163-168.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., 2007.** *Phytophthora* spp. in Polish ornamental nurseries. I. Perennial plants, new hosts of *P. cryptogea*. J. Plant Protect. Res., 47 (4): 401-408.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., 2008.** *Phytophthora cryptogea* and *P. citrophthora*; new pathogens of *Forsythia intermedia*

- in Polish ornamental hardy nursery stocks. J. Plant Protect. Res., 48(4): 495-501.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., 2010.** Gatunki *Phytophthora* jako przyczyna zamierania żywotników (*Thuja* spp.) w polskich szkółkach kontenerowych. Sylwan, 154(4): 242-248.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., 2013.** First notice of *Phytophthora* crown and root rot of *Euphorbia pulcherrima* in Polish greenhouses. J. Plant Protect. Res., 53(4): 307-311.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., 2011a.** *Phytophthora* shoot blight of periwinkle in Polish hardy ornamental nursery stock. J. Plant Protect. Res., 51(4): 448-453.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T., 2011b.** Przydatność pułapek liściowych do detekcji *Phytophthora* spp. z wody. Sylwan, 155(7): 493-499.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T., 2011c.** Cieki i zbiornik wodny jako potencjalne źródła *Phytophthora* spp. Woda Środ. Obsz. Wiejs., t. 11, z. 3(35): 153-160.
- Orlikowski L.B., Ptaszek M., Trzewik A., Orlikowska T., Szkuta G., Meszka B., Skrzypczak C., 2012a.** Zagrożenie upraw ogrodniczych przez gatunki rodzaju *Phytophthora*. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 52(1): 92-100.
- Orlikowski L.B., Skrzypczak C., Wojdyła A., 1984.** Occurrence, biology, pathogenicity and control of *Phytophthora cryptogea* on cineraria. Prace Inst. Sadow., Ser. B, 9: 79-85.
- Orlikowski L.B., Szkuta G., 2002.** First record of *Phytophthora ramorum* in Poland. Phytopathol. Pol., 25: 69-79.
- Orlikowski L.B., Trzewik A., Ptaszek M., Tulacz D., 2012b.** Woda źródłem gatunków *Phytophthora* spp. oraz zagrożenie wynikające z ich występowania dla upraw. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 52(3): 646-650.
- Orlikowski L.B., Valiuskaitė A., 2007.** New record of *Phytophthora* root and stem rot of *Lavendula angustifolia*. Acta Mycol., 42(2): 193-198.
- Ptaszek M., 2008.** Occurrence and harmfulness of *Phytophthora citrophthora* to some *Saxifraga* species and cultivars in Poland. Phytopathol. Pol., 48: 25-30.
- Ptaszek M., Orlikowski L.B., 2010.** Zagrożenie niektórych roślin w szkółkach pojemnikowych przez gatunki *Phytophthora* wyizolowane z bylin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 554: 189-194.
- Ptaszek M., Orlikowski L.B., 2012.** *Phytophthora cryptogea* Pethybridge & Lafferty. ss. 138-142. W: Kompendium symptomów chorób roślin i morfologii ich sprawców; Rataj-Gurawska M., Pukacka A., Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
- Ptaszek M., Skrzypczak C., 2008.** *Phytophthora cryptogea* – nowy patogen alstremerii mieszańcowej. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 529: 155-159.
- Szkuta G., 2004.** Występowanie, izolacja, identyfikacja i szkodliwość gatunków z rodzaju *Phytophthora* w szkółkach ozdobnych roślin iglastych. Praca dokt., Akademia Rolnicza w Krakowie, 191 ss.
- Themann K., Werres S., 1998.** Verwendung von Rhododendronblättern zum Nachweis von *Phytophthora*-Arten in Wurzel- und Bodenproben. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 50(2): 37-45.
- Trzewik A., Orlikowski L.B., Orlikowska T., Ptaszek M., 2011.** Wpływ źródła wody na częstotliwość występowania *Phytophthora*. Infrastrukt. Ekol. Teren. Wiejs., 5: 263-270.
- Werres S., Marwitz R., Man in't Veld, De Cock A.W.A.M., Bonants P.J.M., De Weerd M., Themann K., Ilieva E., Baayen R.P., 2001a.** *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. Mycol. Res., 105(10): 1155-1165.
- Werres S., Marwitz R., Poerschke U., Themann K., 2001b.** A long-term study of *Phytophthora* species in Germany. I. *Phytophthora* species which could be definitely identified. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 108(2): 113-120.
- Wiejacha K., Szkuta G., Orlikowska T., 2002.** Optimization of DNA isolation procedure as the first step in identification of *Phytophthora* spp. Bull. Pol. Acad. Sci., 50, Biol. Sci., 3: 165-171.

M. Ptaszek, L.B. Orlikowski

PHYTOPHTHORA CRYPTOGEA AS A CASUAL AGENT OF STEM BASE AND ROOT ROT OF AJUGA REPTANS

Summary

Yearly observation of plant healthiness in Polish container nurseries indicates on systematically growing list of host plants for *Phytophthora* species, one of the most dangerous soilborne pathogens. In 2011, in one of the perennial nursery, symptoms of stem base and root rot on *Ajuga reptans* were observed. Necrosis progressively spread on leaf blades. The objective of this study was isolation, identification, morphological characterization and pathogenicity evaluation of the disease factor.

Plant samples together with substratum were transferred in plastic bags to the laboratory. After washing in running tap and distilled water and sterilising over a burner flame, about 5 mm parts, taken from the border of healthy and diseased tissues, were put onto PDA medium. Cultures growing around inocula were at first identified to the genus on the base of microscopic observation. For pathogen isolation from the substratum baiting technique with rhododendron leaves was used. In the laboratory conditions pathogenicity tests were performed. On roots, leaf blades and leaf petioles parts laying in a trays on sterile, blotting paper covered with plastic net pathogen inocula were transferred. During 6 days incubation necrosis development was observed.

From infected plants' tissues as well as from substratum *Phytophthora cryptogea* Pethybr. & Laff. was isolated. The pathogen was identified on the basis of morphological and cultural characteristics. Results were confirmed using PCR technique with species-specific primers. The trials on the influence of temperature on the pathogen growth showed that *P. cryptogea* developed at temperatures from 5°C to 30°C, with the optimum at 25°C. In the laboratory trials pathogenicity of *P. cryptogea* to *A. reptans* 'Multicolor' organs was confirmed. Additionally, the susceptibility of different *Ajuga* species and cultivars was examined. The pathogen colonized 5 cultivars among *A. reptans* as well as *A. x tenorii*, commonly growing in ornamental nurseries. The most susceptible was cv. Braunherz. To fulfill Koch's postulates, after completed trials, from plant tissues with disease symptoms the pathogen was reisolated and again identified as *P. cryptogea*.

key words: *Phytophthora cryptogea*, *Ajuga reptans*, isolation, identification, pathogenicity