

Kraków, 26.11. 2012 r.

Katedra Fitopatologii Leśnej

Wydział Leśny UR w Krakowie

.....
Nazwa Zakładu Wiodącego

Podsumowanie wyników i wnioski dla praktyki leśnej opracowane na podstawie wyników realizacji tematu badawczego pt.

**„Ustalenie przyczyn i uwarunkowań zamierania jesionów
i jaworów dla wypracowania podstaw postępowania hodowlano – ochronnego”**

Kierownik tematu:

Prof. dr hab. Tadeusz Kowalski

Główni wykonawcy:

Jesion :

Prof. dr hab. Tadeusz Kowalski

Dr inż. Wojciech Kraj

Jawor:

Prof. dr hab. Tadeusz Kowalski

Dr inż. Piotr Rojek

Spis treści

1. JESION WYNIOSŁY (*FRAXINUS EXCELSIOR* L.)

1.1 Podsumowanie wyników

1.2 Wnioski

2. KLON JAWOR (*ACER PSEUDOPLATANUS* L.)

2.1 Podsumowanie i omówienie wyników

2.2 Wnioski

1. JESION WYNIOSŁY (*FRAVINUS EXCELSIOR* L.)

1.1 Podsumowanie wyników

Realizacja zadań w ramach obecnego tematu badawczego w odniesieniu do jesionu odbywała się w ramach dwóch etapów. Etap pierwszy trwał od 2006 do 2009 roku i obejmował zadania dotyczące głównie typów symptomów, nasilenia ich występowania w drzewostanach będących w różnym wieku i rosnących na różnych siedliskach, składu gatunkowego grzybów obecnych w nekrotycznych tkankach, oraz wybranych aspektów dotyczących rozwoju stwierdzonych grzybów, łącznie z badaniami nad patogenicznością gatunku, któremu przypisano związek z procesem chorobowym. Etap drugi trwał od 2009 do 2012 roku i dotyczył głównie badań w zakresie istnienia genetycznej odporności jesionów na chorobę oraz obserwacji nad przebiegiem procesu chorobowego w uprawach jesionowych nowo założonych dla celów doświadczalnych. Prowadzono też dalsze wycinkowe prace dla uzyskiwania informacji o cyklu rozwojowym sprawcy choroby i uwarunkowaniach procesu chorobowego.

W okresie rozpoczynania badań w 2006 roku w ramach tego tematu stan wiedzy przedstawiał się następująco: a/ znany był problem zamierania jesionu w Polsce, b/ były nieliczne doniesienia o zamieraniu jesionu z innych krajów Europy: Litwy, Szwecji, Danii, Niemiec, c/ Kierownik tematu na podstawie badań własnych realizowanych w latach 2000 - 2005 opisał nowy gatunek grzyba, który początkowo zaliczył do rodzaju *Chalara* (Kowalski 2001), a następnie do gatunku *Chalara fraxinea* (Kowalski 2006).

W okresie sprawozdawczym z badań w ramach tego tematu w 2012 roku stan wiedzy przedstawia się następująco: a/ zamieranie jesionu stwierdzone zostało w ponad 20 krajach Europy. W wielu krajach choroba jesionu zaliczana jest do najważniejszych chorób drzew liściastych, b/ po dwudziestu latach trwania choroby jesionu w rejonie kontynentalnej Europy, w 2012 roku jesiony zaczynają poważnie chorować na Wyspach Brytyjskich, gdzie jesion jest trzecim co do częstotliwości występowania gatunkiem drzew leśnych, czemu towarzyszy ogromne zaniepokojenie (posiedzenie sztabu kryzysowego, debaty parlamentarne, zainteresowanie stanem sytuacji w krajach, w których choroba występuje już kilkanaście lat), c/ w całej Europie gdzie zamiera jesion pojawia się grzyb *Chalara fraxinea* oraz jego stadium

generatywne, d/ zainteresowanie problemem rozszerza się na kraje azjatyckie, skąd najprawdopodobniej został zawleczony sprawca zamierania jesionu, e/ uznając wagę problemu Unia Europejska, celem zintensyfikowania wymiany doświadczeń, w ostatnich latach pozytywnie zaopiniowała działania w ramach dwóch akcji COST.

W związku z takim rozwojem problemu zamierania jesionu w Europie i prowadzeniem intensywnych badań w wielu krajach, oprócz badań realizowanych w ramach obecnego tematu prowadzono inne szczegółowe badania, które między innymi wymagały współpracy międzynarodowej. Ustalenia wynikające z tych badań uwzględniono w obecnym sprawozdaniu. Dotyczą one wyników zwłaszcza w zakresie taksonomii sprawcy zamierania jesionu, których rozwiązanie wymagało porównań z rejonami Europy, gdzie jesiony jeszcze nie zamierają (np. południowa część Alp).

Przeprowadzone badania wskazują, że choroba, którą określa się mianem zamierania jesionu rozpoczyna się głównie na nadziemnych częściach drzew. W wyjątkowych okolicznościach może rozpoczynać się w obrębie górnej części systemu korzeniowego. Badania nad typami objawów chorobowych u jesionu wyniosłego prowadzono na terenie południowej Polski, zwłaszcza w Nadleśnictwie Andrychów, Gryfice, Kańczuga, Łosie, Mircze, Miechów, Radymno, Rymanów, Sieniawa, Stary Sącz, Staszów, Włoszczowa oraz, dla celów porównawczych, na terenie północno-zachodniej Polski, w Nadleśnictwie Rokita, Resko i Gryfice (RDLP Szczecin). W wybranych drzewostanach o różnym wieku dokonywano analizy symptomów chorobowych występujących u chorych, zamierających i martwych jesionów. W ocenie tej uwzględniano stan zdrowotny liści, gałęzi, pędów głównych, pni oraz korzeni. Uzyskane wyniki dały podstawę do wyróżnienia i dopracowania charakterystyki symptomów chorobowych, które w znacznym stopniu wykorzystano w realizacji następnych zadań, zwłaszcza do oceny nasilenia procesu chorobowego oraz analizy składu gatunkowego i ilościowego mykobiota w obrębie tkanek roślinnych wykazujących zmiany chorobowe. U analizowanych jesionów stwierdzono następujące objawy chorobowe:

a) w obrębie aparatu asymilacyjnego - więdnienie, przebarwienia i nekrozy lokalne lub całkowite liści oraz ich przedwczesny opad, prowadzący do przerzedzenia korony.

Do charakterystycznych symptomów porażenia liści jesionu przez grzyb *Chalara fraxinea* należy zaliczyć lokalne nekrozy zwłaszcza na nerwach głównych, prowadzące do nieregularnego przebarwienia tkanek.

b) w obrębie korony - zamieranie całych gałęzi lub ich szczytów, zamieranie wierzchołków, nekrozy lokalne zabliźnione i niezabliźnione oraz zrakowacenia na gałęziach. Objawy te

więzały się z nieregularnym ulistnieniem korony. Na stan taki wpływało również tworzenie pędów przybyszowych wzdłuż żywych nasadowych części gałęzi, zwłaszcza o większej średnicy.

c) w obrębie strzałek i pni - na pniach drzew starszych oraz na strzałkach drzew młodych występowały: nekrozy kory zabliźnione i niezabliźnione, raki drzewne połączone z zapadaniem kory oraz miejscową hipertrofią, podłużne lub tafelkowate spękania kory, wykruszanie kory prowadzące do odsłaniania drewna. Nekrozom towarzyszyły na ogół przebarwienia kory. W miejscach nekroz przebarwienia kory miały charakter jednolity lub smugowaty. Wycieki brunatnej substancji w miejscu nekroz i pęknięć kory, lub zrakowaceń pojawiały się stosunkowo rzadko. Do objawów wewnętrznych należały przebarwienia drewna w formie sektorów oraz przebarwienia w kształcie litery „T”.

d) w obrębie korzeni - lokalne zabliźnione lub niezabliźnione nekrozy, przebarwienia drewna, nekrozy całych pojedynczych korzeni. Obserwowano przypadki wytwarzania korzeni zastępczych w przypadku nekrozy i zgnilizny części systemu korzeniowego. U niektórych badanych jesionów nekrozy brały początek w obrębie szyi korzeniowej i górnej części systemu korzeniowego, czemu towarzyszyło w tym obszarze szarobrunatne przebarwienie drewna.

Założenia metodyczne dotyczące analizy nasilenia występowania typów objawów chorobowych charakterystycznych dla procesu zamierania jesionu polegały na tym, iż w wybranych nadleśnictwach południowej Polski (Staszów, Łosie, Sieniawa, Radymno) badania przeprowadzano w drzewostanach, które były dobierane losowo na podstawie operatu urządzeniowego tak, by reprezentowały różny wiek i różne siedliska, a także w miarę możliwości inne czynniki, np. sposób odnowienia. Były to jednolite drzewostany jesionowe, lub takie, w których jesion stanowił domieszkę. Udział jesionu w lasach Polski jest nieznaczny, stąd na ogół nie było możliwym takie dobieranie drzewostanów, które zapewniły by dobrą porównywalność wyników w zakresie określonej cechy. W każdym drzewostanie, w jego środkowej części dokonywano analizy stanu zdrowotnego drzew (n = 25 do 100, rosnące obok siebie w kilku rzędach lub gniazdach), wyróżniając drzewa żywe bez objawów chorobowych (drzewa "zdrowe"), drzewa żywe wykazujące symptomy chorobowe (drzewa "chore") oraz drzewa martwe. Dla dwóch ostatnich kategorii określano rodzaje symptomów chorobowych według przyjętego kodu symptomologiczno-etjologicznego, po czym je zestawiano i obliczano częstość występowania.

Analizie poddano ponad 3200 drzew w różnym wieku, rosnących w ponad 70 drzewostanach na różnych siedliskach, powstałych drogą odnowienia sztucznego, oraz w mniejszym stopniu odnowienia naturalnego. Szczegółowe wyniki zostały przedstawione w licznych zestawieniach tabelarycznych dołączonych do sprawozdania. Wynika z nich, że: a/ istnieje duże nasilenie procesu chorobowego jesionu w drzewostanach oraz stosunkowo duże zróżnicowanie w nasileniu procesów chorobowych między drzewostanami, b/ najbardziej porażane są drzewostany pierwszej klasy wieku, zwłaszcza w przedziale 5 do 20 lat, c/ niektóre typy symptomów chorobowych są szczególnie częste w określonych przedziałach wiekowych, np. pojaw wilków czy przerzedzenie korony jest bardziej charakterystyczne dla starszych drzewostanów, d/ jesion wykazuje objawy zamierania na wszystkich zajmowanych typach siedliskowych, e/ jesion wykazuje objawy zamierania niezależnie od pochodzenia, przy czym stan młodych odnowień naturalnych jest nierzadko lepszy niż odnowień sztucznych, f/ stan zdrowotny niektórych odnowień naturalnych ulega znacznemu pogorszeniu po przekroczeniu ok. piątego roku życia, g/ do najbardziej charakterystycznych objawów chorobowych we wstępnych etapach należy zaliczyć przede wszystkim różnego typu nekrozy kory na pniach i gałęziach. Nekrozy te powstawały na pniach z różnych stron świata, z pewnym zwiększeniem częstości od strony południowej lub północnej. W przypadku chorób grzybowych, zróżnicowanie miejsc powstawania nekroz może być wynikiem odmiennych warunków mikroklimatycznych na różnych stronach pni, zwłaszcza dotyczących temperatury i wilgotności, czynników decydujących w głównej mierze o możliwości kiełkowania zarodników.

Analizę objawów chorobowych i ich nasilenia prowadzono również w odnowieniach naturalnych w Nadleśnictwach: Rymanów, Resko, Rokita, Gryfice i w otulinie Ojcowskiego Parku Narodowego. U młodych jesionów stwierdzano: więdnienie liści, nekrozy szczytu pędu głównego oraz szczytów pędów bocznych, nekrozy lokalne na strzałkach i na pędach, nekrozy pojedynczych korzeni oraz nekrozę całkowitą osobników. Badania prowadzone w różnych okresach czasu pozwoliły na określenie następstwa symptomów chorobowych, a zatem wyróżnienie objawów chorobowych pierwotnych i wtórnych. Nekrozy lokalne na strzałkach najczęściej brały początek od nasad odgałęzień bocznych. Zamieranie szczytów pędów przeważnie brało początek kilkanaście centymetrów poniżej wierzchołka. Nekrozom towarzyszyło jasnobeżowe lub ciemnobrunatne, jednolite, względnie smugowate przebarwienie kory, nierzadko połączone z lokalnymi zapadnięciami i wzdłużnymi lub tafelkowatymi spękaniem kory odsłaniającymi drewno. Odsetek zamartwych jesionów był różny, wynosił od 2% do 80%. Stan zdrowotny odnowień ulegał niekiedy szybkiej zmianie.

Na przykład, w Nadl. Rokita w 2-4-letnim odnowieniu naturalnym jesionu w oddz. 70b w 2008 r. nie dostrzegano objawów zamierania. W 2011 r. stwierdzono, że tylko 33,3% nie wykazywało symptomów chorobowych, a 46,7% osobników już obumarło.

Analizę objawów chorobowych, a częściowo także ich nasilenia prowadzono również w szkółkach leśnych. Analiza sadzonek była prowadzona początkowo w szkółce w Nadleśnictwie Włoszczowa i Niepołomice, a następnie w Nadleśnictwie Stary Sącz i Rokita, gdzie po uzyskaniu zgody zwierzchnich władz, na bardzo ograniczonej powierzchni kontynuowano hodowlę jesionu dla potrzeb badawczych. Objawy chorobowe u sadzonek w szkółkach leśnych były zbieżne z tymi, które obserwowano w odnowieniach naturalnych i sztucznych. W trakcie oceny sadzonek w szkółce w Nadl. Stary Sącz, w 2008 roku na początku okresu wegetacyjnego udział osobników martwych wynosił, zależnie od kwatery od 8 do 13%, a objawy chorobowe w postaci nekroz lokalnych i nekroz szczytów pędów wystąpiły u 31 do 38% sadzonek.

Analiza stanu jesionu w szkółce w Nadl. Rokita w trakcie drugiego okresu wegetacyjnego wykazała brak makroskopowych symptomów zamierania pędów u 71,5% siewek. Objawy nekroz pędu głównego i/lub pędów bocznych obserwowano u 24,0% siewek oraz nekrozę całkowitą 4,5% siewek.

Dla określenia sprawców różnych typów symptomów chorobowych u jesionu prowadzono mikologiczną analizę tych organów drzew, które wykazywały objawy chorobowe. Część pobranego materiału przeznaczono do analizy mikologicznej na podstawie wytworzonych w naturze owocników. Część zaś, obejmującą zwłaszcza próbki bez wykształconych owocników przeznaczono do izolacji grzybni na pożywkę, po dezynfekcji powierzchniowej próbek. Z jednego pędu do izolacji wycinano najczęściej 6, sporadycznie 12 lub więcej fragmentów. Wyrastające kolonie odszczepiano i inkubowano w temperaturze 20°C. Celem stwierdzenia możliwości zasiedlania żywych tkanek jesionu przez grzyby endofityczne, izolacje wykonywano także z tkanek jesionów nie wykazujących objawów chorobowych. Ogółem wykonano izolacje z ponad 10 tysięcy fragmentów i przeanalizowano owocniki na ponad 650 pędach.

Na ustalenie głównego nurtu badań w zakresie etiologii miał wpływ fakt, że tuż przed rozpoczęciem obecnych badań został opisany jako nowy gatunek o nazwie *Chalara fraxinea* T. Kowalski (Kowalski 2006). By uzyskać odpowiedź, czy grzyb ten występuje lokalnie na danym obszarze, czy jest szeroko rozprzestrzeniony, dokonywano izolacji grzybów z próbek pochodzących z 25 jednostek organizacyjnych lasów w różnych rejonach Polski. Badania

wykazały, że grzyb *Chalara fraxinea* jest pospolity na jesionach w całej Polsce. Został on wykazany na wszystkich terenach, w których pobierano do badań jesiony z objawami zamierania. Ogółem grzyb *Ch. fraxinea* został wykazany w 52,7% pędów. Częstość izolacji *Ch. fraxinea* jest wielokrotnie większa, gdy pędy jesionu znajdują się w początkowym stadium obumierania. Grzyb *Ch. fraxinea* może infekować drzewa we wszystkich klasach wieku. Jednak wielokrotnie częściej jest wykazywany w szkółkach i drzewostanach pierwszej klasy wieku. Cechuje go zdolność infekcji różnych organów roślinnych. Jego obecność wykazana została w korzeniach, pędach i liściach. Częstość infekcji poszczególnych organów wykazuje jednak duże zróżnicowanie. Najczęściej infekowane są nerwy liściowe oraz pędy główne i gałęzie boczne.

Na podstawie wytworzonych na strzałkach i gałęziach jesionów owocników stwierdzono ponad 40 gatunków grzybów. Mimo stosunkowo dużego zróżnicowania gatunkowego, tylko nieliczne cechują się dużą częstotliwością występowania. Często na obumarłych częściach strzałek lub gałęzi jesionów występowało tylko pięć gatunków: *Cytospora pruinosa*, *Botryosphaeria stevensii* (anam. *Diplodia mutila*), *Phomopsis scobina*, *Massaria* sp. i *Diplodia* sp. Nieco częściej stwierdzano także *Phomopsis controversa*, *Diaporthe* sp., *Phomopsis* sp., *Didymosphaeria acerina* i *Nectria galligena*. Część z tych gatunków częściej stwierdzano w powiązaniu z określonymi objawami chorobowymi. Grzyby z rodzaju *Phomopsis* owocnikowały głównie w obrębie lokalnych nekroz wokół nasad gałęzi. Grzyb *Cytospora pruinosa* wytwarzał pyknidy zarówno na szczytach pędów jak i na odcinkach pędów między węzłami. Grzyb *Nectria galligena* wytwarzał charakterystyczne czerwone otocznie w obrębie rakowatych ran, którym towarzyszyły hipertrofie tkanek. *Nectria galligena* stwierdzano nie tylko na młodych jesionach, ale także na pniach ponad 60-letnich jesionów w obrębie rozległych hipertrofii na pniach i grubych gałęziach. Godne podkreślenia jest, że w obrębie nekrotycznych tkanek stwierdzano także *Chalara fraxinea*. Wytwarzał on ciemno zabarwione utwory sklerenchymatyczne, a na nich fialidy ze skupieniami konidiów na szczycie fialid. Jak wynika z danych w tabeli 25 nie było to zjawisko powszechne.

Dla identyfikacji grzybów w tkankach we wczesnych stadiach zamierania, w obrębie których nie wytworzyły się owocniki grzybów, oraz z drewna, wykonywano izolacje na pożywkę agarowo-maltozową. Poprzez izolacje z chorych tkanek wyróżniono ponad 30 gatunków grzybów. Do częstych, poza *Chalara fraxinea*, należały także: *Alternaria alternata*, *Phomopsis scobina*, *Phomopsis* sp., *Cytospora pruinosa*, *Diplodia mutila* i *Fusarium* spp.

W obecnych badaniach poświęcono także uwagę czterem innym aspektom związanym z *Chalara fraxinea*: udziału *Ch. fraxinea* w powodowaniu chorób liści jesionów, rozwoju tego

gatunku w obrębie chodników jeśniaka rdzawego oraz możliwości infekowania korzeni i możliwości endofitycznego trybu życia. Badania wskazują na minimalne możliwości przenoszenia grzyba *Ch. fraxinea* przez jeśniaka z drzew obumierających na żywe jesiony. Korzenie jesionów infekowane były tylko sporadycznie przez *Chalara fraxinea*. Takie przypadki obserwowano dotychczas tylko u kilkuletnich sadzonek, zwłaszcza w szkółkach. Drewno korzeni zasiedlonych przez *Ch. fraxinea* wykazywało szarobrunatne przebarwienie. Wykonane izolacje z nerwów liściowych będących w różnym stadium zaawansowania nekroz po uprzedniej dezynfekcji powierzchniowej tkanek potwierdziły możliwość częstych infekcji liści przez ten gatunek i powodowania nekroz. W trakcie realizowanych badań nie stwierdzono, by *Ch. fraxinea* występowała jako endofit w żywych korzeniach, pędach lub liściach.

Z przedstawionych wyżej analiz mikologicznych wynika, że w zamierających tkankach jesionów można stwierdzić obecność kilkudziesięciu gatunków grzybów. Są wśród nich gatunki zdolne do powodowania nekroz, zwłaszcza w przypadku osłabienia drzew, jak i gatunki saprotroficzne oraz endofityczne. Z dotychczasowych ustaleń wynika, że za głównego sprawcę choroby jesionu należy uznać grzyb *Chalara fraxinea*. Wskazują na to przeprowadzone w trakcie obecnych badań wyniki testów na patogeniczność, potwierdzone w ostatnim okresie także takimi testami w innych krajach Europy, w Szwecji i w Austrii. Poczynione w ostatnich latach badania (autorskie oraz prowadzone we współpracy) pozwoliły zidentyfikować stadium generatywne tego gatunku, istotne zwłaszcza z tego względu, że ono odgrywa decydującą rolę w rozprzestrzenianiu choroby. Na podstawie miseczek stwierdzonych na terenie Nadl. Miechów, stadium generatywne zostało zaliczone do gatunku *Hymenoscyphus albidus* (Robergere ex Desm.) W. Philips (= pucharek jesionowy), który znany jest w Europie od 150 lat. Nigdy w przeszłości grzyb ten nie był wiązany z chorobą jesionu. Dlatego zespół z ETH w Zurychu przeprowadził we współpracy z Katedrą Fitopatologii Leśnej w Krakowie, w ramach badań wykraczających poza ramy obecnego tematu badawczego dalsze studium nad taksonomią stadium generatywnego. Stało się to możliwe po zgromadzeniu kultur wyizolowanych z nekroz na strzałkach jesionów oraz z miseczek *Hymenoscyphus* z terenów, gdzie jesion zamiera oraz z terenów, gdzie jesion nie wykazuje objawów zamierania (takie obszary najbliżej można było zlokalizować w Alpach w Szwajcarii). Przeprowadzone badania porównawcze wykazały, że w obrębie występującej na jesionie populacji identyfikowanej dotychczas jako *Hymenoscyphus albidus* można wyróżnić dwie filogenetyczne podgrupy. W efekcie tych badań zaproponowano dwie oddzielne nazwy

dla populacji reprezentujących obydwie podgrupy. Populacji z terenów, gdzie jesion zamiera nadano nową nazwę gatunkową *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (Queloz i in. 2011). Stadium anamorficznym tego nowo wyróżnionego workowca jest opisany w 2006 roku grzyb *Ch. fraxinea*. Dla populacji występującej na jesionach bez objawów zamierania aktualna została nazwa *H. albidus* s. str. Według dotychczasowego stanu wiedzy uważa się, że *H. albidus* nie wykazuje właściwości patogenicznych. W sprawozdaniu podano cechy taksonomiczne *H. pseudoalbidus* na podstawie okazów zebranych w Polsce.

Na podstawie całościowych badań można ustalić, że cykl rozwojowy sprawcy zamierania jesionu przedstawia się następująco: miseczki wytwarzane są zasadniczo na ubiegłorocznych nerwach liściowych jesionu leżących na dnie drzewostanów, zasadniczo w okresie od początku lipca do końca września. W okresie pojawu miseczek następuje wyrzut zarodników workowych i ich rozprzestrzenianie przez wiatr. Zarodniki te dokonują infekcji: a) pędów głównych i gałęzi, powodując lokalne nekrozy kory i miazgi, oraz b) liści w koronach drzew, zwłaszcza w obrębie ich nerwu głównego, powodując lokalne nekrozy i zamieranie fragmentu szczytowego powyżej nekrozy, co prowadzi nierzadko do przedwczesnego opadu liści. Na opadłych na dno drzewostanów liściach, w okresie jesieni zasiedlone fragmenty nerwów głównych czernieją, co jest wynikiem tworzenia sklerenchymatycznej grzybni. Z grzybni tej wyrastają liczne fialidy na których szczycie zbierają się w postaci kropli konidia stadium anamorficznego, *Ch. fraxinea*. W miejscach tych w okresie letnim następnego roku nastąpi wykształcanie się miseczek.

Badania we wszystkich latach od chwili znalezienia związku pomiędzy *Chalara fraxinea* a jej stadium teleomorficznym, prowadzone każdorazowo w okresie od końca czerwca do początku października przeprowadzone w drzewostanach jesionowych w różnych częściach Polski wykazały, że we wszystkich drzewostanach, niezależnie od wieku, na ubiegłorocznych nerwach liściowych jesionu występują miseczki *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, co wskazuje na ogromny rezerwuar materiału zakaźnego w obrębie ścioly w drzewostanach z udziałem jesionu.

Badania laboratoryjne wykazały, że stwierdzane w tkankach jesionu najczęstsze gatunki grzybów wzrastają najszybciej w temperaturze: *Chalara fraxinea* - 20°C, ale niewiele wolniejszy wzrost następował w temperaturze 15°C i 25°C, *Phomopsis controversa* - 25°C, *Cytospora* cf. *pruinosa* - 30°C, *Fusarium lateritium* - 25°C oraz *Diplodia mutila* - 25°C, przy czym w temperaturze 35°C kolonia zatracą melaninowy barwnik i pojawiają się białe strzępki, które jednak zachowują żywotność.

Przeprowadzono doświadczenia polegające na sztucznej inokulacji jesionów grzybem *Chalara fraxinea*, celem określenia właściwości patogenicznych tego gatunku. Dokonano inokulacji 60 jesionów w wieku 3 - 5 lat, o wysokości 1.1 do 3.2 m, z których dwanaście służyło jako kontrola. Wykorzystano dziesięć izolatów *Chalara fraxinea*, uzyskanych uprzednio z chorych jesionów w Nadl. Jędrzejów, Niepołomice, Miechów i Staszów. Inokulum umieszczano w nacięciu kory (8 mm dł) pędu wykonane sterylnym skalpelem, po czym miejsce takie owijano parafilmem. Podczas oceny określano długość całkowitą nekrozy, oraz jej rozmiar powyżej i poniżej miejsca inokulacji. Objawy chorobowe w postaci nekroz lokalnych lub zamarcia pędu wystąpiły u wszystkich inokulowanych egzemplarzy. Rodzaj symptomów zależał od czasu jaki upłynął od terminu inokulacji do oceny. Po upływie 2 - 3 miesięcy obumarło 29,6% pędów, po 12 miesiącach 76,2% pędów wykazywało takie symptomy. Długość obumarłych pędów wynosiła od 28 do 158 cm. Spośród 12 jesionów, które służyły jako kontrola brak było objawów nekroz, poza jednym przypadkiem, rany były w pełni zabliznione. Spośród 48 inokulowanych jesionów, *Ch. fraxinea* została reizolowana z 41 osobników. Oprócz *Ch. fraxinea* najczęściej izolowano *Fusarium lateritium*, *Fusarium* sp., *Phomopsis* spp. i *Diplodia mutila*. Są to gatunki szybko rosnące i mogły utrudniać wyrastanie *Ch. fraxinea* na pożywkę. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły patogeniczne właściwości *Ch. fraxinea* względem jesionu wyniosłego.

W związku z dużym nasileniem procesu zamierania jesionu, zwłaszcza w młodych drzewostanach i związanych z tym dużymi stratami ekonomicznymi Lasy Państwowe zaleciły wstrzymanie hodowli jesionu w szkółkach i wprowadzanie tego gatunku do upraw. By uzyskać informacje w jakim stopniu należy się liczyć ze stratami w obecnej sytuacji, gdy proces chorobowy trwa w Polsce już od dwudziestu lat, postanowiono założyć uprawy doświadczalne celem obserwacji nad stanem zdrowotnym jesionu.

Badania fitopatologiczne prowadzone były na pięciu uprawach doświadczalnych nowo założonych po uzgodnieniach z DGLP i odpowiednimi RDLP. Są to: powierzchnia nr 1 i 2 - Nadleśnictwo Stary Sącz, powierzchnia 3 - Nadleśnictwo Limanowa, powierzchnia 4 i 5 - Nadleśnictwo Rokita.

Na powierzchniach 1 - 3 wysadzono wiosną 2008 r. sadzonki jesionu wyniosłego ze szkółki Kamieniec w Nadl. Stary Sącz. Na powierzchniach 4 - 5 wysadzono wiosną 2010 r. sadzonki jesionu wyniosłego wyhodowane do tego celu w szkółce w Nadl. Rokita. Do wysadzenia na powierzchniach przeznaczone zostały sadzonki nie wykazujące żadnych makroskopowych objawów chorobowych. Tempo całkowitego obumierania sadzonek po upływie jednego okresu wegetacyjnego nie było duże i wyniosło na jednej powierzchni maksymalnie 12,0%.

Natomiast lokalnie dochodziło do częstego zamierania nadziemnej części przy żywym systemie korzeniowym, co skutkuje nierzadko wyrastaniem pędów odrosłowych. Najbardziej zaznaczał się ten symptom po upływie jednego roku na powierzchni Nr 3 w Nadl. Limanowa. W 2012 roku sadzonki jesionu na powierzchni Nr 1 do 3 były oceniane po pięciu okresach wegetacyjnych, zaś na powierzchniach Nr 4 i 5 po trzech okresach wegetacyjnych. Pomędzy tymi powierzchniami istnieje zasadnicza różnica w stanie zdrowotnym sadzonek. W obrębie pierwszej grupy powierzchni, na terenie RDLP Kraków, jedynie 6,3 do 16,8% osobników nie wykazywało objawów chorobowych. Na powierzchniach w RDLP Szczecin było 36,2 do 57,2% takich osobników.

Grzyby w nekrotycznych tkankach sadzonek w uprawach doświadczalnych identyfikowano na podstawie owocników oraz na podstawie izolacji. Grzyby w tych uprawach nie różniły się od składu gatunkowego wykazywanego na jesionach w drzewostanach. Najczęściej izolowano grzyb *Ch. fraxinea*, a następnie: *Alternaria alternata*, *Botryosphaeria stevensii*, *Fusarium avenaceum*, *F. lateritium* i *Phomopsis* sp. 1. Owocniki na pędach najczęściej wytwarzały: *B. stevensii*, *Cytospora* sp. 1, *Massaria* sp. oraz *Phomopsis* sp. 1. Grzyb *B. stevensii* w zdecydowanej większości wytwarzał stadium anamorficzne, znane jako *Diplodia mutila*. Ten sam skład gatunkowy najczęstszych gatunków stwierdzano w obrębie nekroz u sadzonek jesionu na kwaterach doświadczalnych w szkółce Nadleśnictwa Stary Sącz i Nadleśnictwa Rokita.

W trakcie przeprowadzonych analiz dla wybranych populacji zidentyfikowano kilka markerów molekularnych związanych z odpornością jesionu na zamieranie. Ich identyfikacja była możliwa dzięki zastosowaniu markerów RAPD i metody BSA (Bulked Segregant Analysis) często używanych dla poszukiwania markerów molekularnych u drzew leśnych, szczególnie w przypadku cech ilościowych warunkujących między innymi odporność na działanie niektórych patogenów. Potencjalna wada markerów RAPD polega na tym, że markery o tej samej długości i pozycji na żelu agarozowym mogą pochodzić z różnych lokus w genomie. Dlatego dla zwiększenia ich specyficzności opracowano tzw. markery SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), a następnie startery pozwalające na szybką i pewną identyfikację odpornych lub charakteryzujących się zwiększoną odpornością osobników jesionu.

Badania przeprowadzono w trzech RDLP (Szczecin, Radom i Kraków) na powierzchniach z zamierającymi jesionami. Na każdej z nich wybrano osobniki zdrowe, nie wykazujące objawów choroby oraz osobniki w różnym stopniu porażone. Z osobników jesionu pobrano liście lub korę do wykonania analiz genetycznych. Z niektórych powierzchni (z Nadleśnictwa

Rokita i Staszów) pobrano materiał do założenia powierzchni doświadczalnej w celu przeprowadzenia sztucznej inokulacji grzybem *Chalara fraxinea* i przygotowania materiału do testowania działania potencjalnych markerów.

Dla zapewnienia odpowiedniej ilości i jakości DNA do analiz przeprowadzono optymalizację metody jego ekstrakcji. Najlepszym sposobem izolacji DNA okazała się metoda oparta na protokole Khanuja i in. (1991) zmodyfikowana w ramach niniejszego projektu dla ekstrakcji DNA z liści i kory jesionu.

Poszukiwanie markerów molekularnych związanych z odpornością jesionu na zamieranie przeprowadzono z użyciem 720 starterów RAPD i RAMS. Monomorficzne prążki różnicujące odporne i wrażliwe jesiony stwierdzono dla 8 starterów. Markery wykazywały wysoką specyficzność dla danej populacji, ale nie dla całego gatunku. Wysoka skuteczność identyfikacji odpornych (lub wrażliwych) osobników jesionu została potwierdzona przez otrzymanie markerów dla osobników tolerujących infekcję wyselekcjonowanych w wyniku wcześniejszego przeprowadzenia na nich sztucznej infekcji przez *Chalara fraxinea*.

Markery wykazujące specyficzność dla określonych populacji zsekwencjonowano i opracowano specyficzne startery (tzw. startery SCAR) umożliwiające ich otrzymanie. Działanie markerów testowano dla populacji jesionu z Nadleśnictw: Rokita, Miechów i Stary Sącz. Skuteczność identyfikacji odpornych (lub wrażliwych) osobników jesionu wynosiła dla populacji z Nadleśnictwa Rokita 93%, natomiast dla populacji z Nadleśnictwa Miechów i Stary Sącz 100%. Błędna identyfikacja (obecność markera dla przeciwnej grupy osobników) występowała maksymalnie dla 3.3 (Nadleśnictwo Miechów i Stary Sącz) do 6.6% (Nadleśnictwo Rokita) osobników.

Rośliny jesionu wykazały zróżnicowaną tolerancję na infekcję przez *Chalara fraxinea* wyrażoną długością nekroz na pędach powstałych w wyniku inokulacji patogenem. Wprowadzony wskaźnik tolerancji na infekcję był istotnie skorelowany z długością powstałych nekroz (średni współczynnik korelacji $r=0.72$, $P<0.001$)

Osobniki jesionu o różnym wskaźniku tolerancji na infekcję wykazywały różnice pod względem biochemicznej reakcji na obecność patogenu. Reakcja osobników jesionu na sztuczną inokulację patogenem była tym szybsza im bardziej tolerancyjne były osobniki jesionu. Stężenie reaktywnych form tlenu (nadtlenku wodoru i anionorodnika ponadtlenkowego) i aktywność enzymów katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej była tym większa im bardziej tolerancyjne na infekcję były osobniki jesionu.

Bardziej odporne jesiony wykazywały szybszą syntezę i większą zawartość fenoli ogólnych i flawonoidów w stosunku do osobników bardziej wrażliwych na infekcję.

1.2 Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyprowadzić następujące wnioski :

1. W zdecydowanej większości drzewostanów na terenie Polski jesion wyniosły ulega procesowi chorobowemu o zróżnicowanym nasileniu. Daje się zauważyć, że:

- Chorobie ulegają jesiony we wszystkich przedziałach wiekowych, lecz nasilenie procesu chorobowego zaznacza się szczególnie w drzewostanach pierwszej klasy wieku
- Chorobie ulegają jesiony niezależnie od pochodzenia, jednak nasilenie niektórych symptomów chorobowych jest mniejsze w naturalnych odnowieniach jesionu niż w nasadzeniach sztucznych
- Chorobie ulegają jesiony rosnące na różnych siedliskach, przy czym nasilenie procesu i pojaw niektórych symptomów wykazuje pewne różnice w zależności od lokalnych warunków.

2. Do najczęstszych symptomów chorobowych towarzyszących zamieraniu jesionu należy zaliczyć: uwiąd lisci, nekrozy lokalne lub rozległe na pniach i gałęziach oraz liściach, zamieranie wierzchołków drzew, zamieranie gałęzi lub ich szczytów, przerzedzenie korony i wykształcanie wilków na pniach i grubych gałęziach. Symptomy te występują na jesionach w różnych rejonach Polski, choć obserwowane są różnice w częstości występowania niektórych z tych objawów. Symptomy te są w większości podobne do objawów obserwowanych w innych krajach Europy.

3. Zamieranie jesionu wyniosłego nie jest problemem lokalnym lecz ogólnie europejskim, o bezprecedensowej skali w znanej nam historii rozwoju tego gatunku drzewa. Dzięki włożonemu wysiłkowi badawczemu rozpoznany został zasadniczy sprawca zamierania jesionu oraz jego zupełnie nietypowy cykl rozwojowy. Sprawcą okazał się grzyb *Chalara fraxinea* (teleomorfa: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*). Świadczy o tym szerokie rozprzestrzenienie *Ch. fraxinea* w Polsce i w ponad 20 innych krajach Europy, w których zamiera jesion, duża częstotliwość występowania na chorych jesionach oraz wysoka patogeniczność, potwierdzona poprzez sztuczne inokulacje jesionów zarówno w Polsce jak i innych krajach Europy.

4. Do najbardziej istotnych elementów rozpoznanego cyklu rozwojowego *Chalara fraxinea/Hymenoscyphus pseudoalbidus*, jako sprawcy zamierania jesionu, należy zaliczyć następujące trzy stwierdzenia:

- a/ Infekcji jesionów dokonują zarodniki workowe głównie w okresie od końca czerwca do końca września.
- b/ Zasadniczy rezerwuár materiału zakaźnego stanowią miseczki wytwarzane na ubiegłorocznych nerwach liściowych jesionu w ścióle.
- c/ Panujące w Polsce temperatury w okresie lata są sprzyjające dla grzyba *Ch. fraxinea*, dla którego optimum wynosi 20 °C, ale wzrost jest stosunkowo dobry w zakresie 15-25 °C.

5. Do grzybów najczęściej występujących w obrębie nekrotycznych tkanek jesionów, mogących powiększać rozmiary nekroz u jesionów, osłabionych atakiem *Chalara fraxinea*, należy zaliczyć zwłaszcza: *Botryosphaeria stevensii*, *Cytospora pruinosa*, *Fusarium lateritium*, *Massaria* sp. i grzyby z rodzaju *Phomopsis*. Także dla tych gatunków w Polsce temperatura w okresie lata na ogół nie jest czynnikiem ograniczającym rozwój. Optimum dla wzrostu większości z nich wynosi 25 °C.

6. Obserwowane stosunkowo duże nasilenie procesu chorobowego jesionu w nowo założonych uprawach doświadczalnych jesionu nie daje podstaw do zalecania obecnie powrotu do hodowli jesionu w szkółkach i jego wprowadzania do upraw w skali, która miała miejsce przed pojawem procesu zamierania jesionu.

7. Obserwacje w nowo założonych uprawach doświadczalnych wskazują, że cięcie na „bezpieńki” pozwala na wyprowadzenie zdrowych pędów, co przedłuża okres życia sadzonki. Jest to jednak sukces połowiczny, gdyż pędy takie są również często infekowane, co prowadzi do śmierci sadzonek.

8. Brak możliwości przeprowadzania skutecznych działań ochronnych zarówno w młodych jak i starszych drzewostanach wynika z faktu powszechnego występowania materiału zakaźnego sprawcy na opadłych zeszłorocznych nerwach liściowych jesionu, leżących na dnie drzewostanów. Wytworzone na tych nerwach w ścióle zarodniki workowe dokonują w okresie lata infekcji nadziemnych części jesionów.

9. Niewątpliwie jedyną drogą do ograniczenia rozprzestrzeniania sprawcy choroby jesionu byłoby totalne wygrabianie i palenie opadłych liści jesionu. Jest to jednak działanie praktycznie możliwe w szkółkach i zadrzewieniach. Takie działania o charakterze lokalnym nie uchronią drzew od infekcji z sąsiednich terenów.

10. W szkółkach istnieje możliwość chemicznej ochrony sadzonek. Z biologii patogenu wynika, że warunkiem skutecznej ochrony byłoby pokrycie sadzonek fungicydem w okresie od końca czerwca do końca września. Jednak sadzonki jesionu wyprodukowane w szkółkach wysadzone w uprawy bez chemicznej ochrony będą chorowały i zamierały.

11. Uzyskane wyniki i obserwacje dają podstawy do tego, by zalecać wspieranie odnowień naturalnych jesionu. W niektórych nadleśnictwach wykazują one lepszy stan zdrowotny niż nasadzenia sztuczne. Odnowienia naturalne, nawet w przypadku dużego nasilenia choroby, stwarzają możliwość naturalnej selekcji i przetrwania osobników najmniej podatnych.

Należałoby rozważyć celowość wypracowania na poziomie nadleśnictw bardziej szczegółowych zasad wspierania odnowień naturalnych tego gatunku. Dodatkowym uzasadnieniem takich działań może być fakt, że na obecnym etapie obsiew pochodzi z jesionów, które przetrwały kilkunastoletni okres trwania procesu chorobowego jesionu w naszym kraju.

12. Drzewa z objawami zamierania nie stanowią bezpośrednio substratu dla wykształcania rezerwarów materiału zakaźnego głównego sprawcy zamierania jesionu (*Chalara fraxinea/Hymenoscyphus pseudoalbidus*), tzn. na drzewach z lokalnymi nekrozami lub zamarzniętymi gałęziami nie wytwarzają się zarodniki, które mogłyby zagrażać sąsiednim zdrowym drzewom. Na takich martwych tkankach mogą zarodnikować inne gatunki, głównie z grupy patogenów słabości (*Botryosphaeria stevensii*, *Cytospora pruinosa*, *Massaria sp.* i *Phomopsis spp.*), a system korzeniowy osłabionych drzew może być atakowany przez *Armillaria sp.* Fakty te winno się uwzględniać przy wyznaczaniu osobników *Fraxinus excelsior* do wycinki.

13. Proces chorobowy jesionu powodowany przez *Chalara fraxinea/Hymenoscyphus pseudoalbidus*, doprowadził do całkowitego rozpadu wielu drzewostanów. Jednak są drzewostany, w których część populacji jesionu, w zakresie około 10 do 25 %, (a lokalnie o większym udziale) wykazuje objawy tolerancji, tzn. objawy nekroz są zlokalizowane, i nie pociągają za sobą znacznych strat w rozwoju drzewa, względnie objawy odporności, cechujące się brakiem pojawu symptomów chorobowych. Ta część populacji może dać podstawy do przetrwania gatunku, lecz nierzadko jest zbyt mała by zapewnić zachowanie stanu drzewostanu o strukturze istniejącej przed rozpoczęciem procesu chorobowego.

14. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że osobniki nie wykazujące objawów chorobowych („zdrowe”) różnią się w danym drzewostanie od osobników zamierających cechami genetycznymi i biochemicznymi. Różnice te są możliwe do wykazania przy pomocy analiz laboratoryjnych. Wskazane jest stosowanie markerów SCAR jako narzędzia wspomagającego selekcję osobników jesionu:

- dla identyfikacji wrażliwych na zamieranie jesionów zalecane jest stosowanie dla analizowanych populacji następujących markerów SCAR: dla populacji z Nadleśnictwa Rokita: R_A02, dla populacji z Nadleśnictwa Stary Sącz: SS_G11, dla populacji z Nadleśnictwa Miechów: M_L08.
- dla identyfikacji odpornych lub o zwiększonej tolerancji na zamieranie jesionów zalecane jest stosowanie markerów SCAR: dla populacji z Nadleśnictwa Stary Sącz: SS_I13, dla populacji z Nadleśnictwa Miechów: M_L14.

Stwierdzenie obecności wymienionych markerów u danego osobnika umożliwi z wysokim prawdopodobieństwem identyfikację genotypów jesionu odpornych na zamieranie.

Jednym ze sposobów mogących przynieść w przyszłości zadawalający efekt może być wykorzystanie do hodowli i nowych nasadzeń populacji jesionów genetycznie bardziej odpornych.

15. Dalsze obserwacje winny wykazać, czy w drodze naturalnych procesów będzie dochodziło do wykształcania systemicznej odporności drzew infekowanych uprzednio szczepami grzyba *Chalara fraxinea* o mniejszej patogeniczności. Na podstawie obserwacji w okresie realizacji obecnych badań można wskazać jednostkowe przykłady drzewostanów, które potwierdzałyby taką reakcję drzew *Fraxinus excelsior*.

16. Dla zachowania najcenniejszych genotypów i populacji jesionu należy:

- wybrać najcenniejsze pod względem cech gospodarczych populacje jesionu
- w obrębie wybranych populacji przy zastosowaniu analiz fitopatologicznych, markerów molekularnych i analiz biochemicznych zidentyfikować najcenniejsze osobniki wykazujące tolerancję lub odporność na chorobę i na ich podstawie stworzyć bazę odpornych genotypów
- w oparciu o potomstwo zidentyfikowanych osobników założyć plantacje odpornych genotypów jesionu.

17. Liczne dane wskazują, że sprawca zamierania jesionu został zawleczony do Polski z innych rejonów świata (najprawdopodobniej z Azji). Należało by w tym kontekście przeanalizować skuteczność obowiązujących przepisów "kwarantannowych".

18. Mimo rozpoznania sprawcy choroby jesionu i jego cyklu rozwojowego, na obecnym etapie, poza zasygnalizowanymi powyżej aspektami, nie jest się w stanie zaproponować jednoznacznie skutecznych metod ochrony jesionu. Taka sytuacja przedstawiana jest we wszystkich krajach Europy, w których jesion wykazuje objawy zamierania.

2. KLON JAWOR (*ACER PSEUDOPLATANUS* L.)

2.1 Podsumowanie i omówienie wyników

Występowanie symptomów chorobowych

-Wśród 3950 analizowanych drzew 70,9 % wykazywało symptomy chorobowe. Duży udział drzew z symptomami odnotowano w Nadl. Limanowa (88,0 %), Łosie (86,0 % drzew) oraz Sucha (92,8 %), zaś nieco mniejszy w Nadl. Baligród (69,5 %), Kańczuga (51,4 %) oraz Krasiczyn (61,5 %).

- Najczęściej występującymi objawami chorobowymi w koronach analizowanych jaworów były zamarłe gałęzie (13,7 % drzew) i atrofia liści (11,6 % drzew).

Stosunkowo dużo drzew z zamarłymi gałęziami odnotowano w Nadl. Limanowa (30,7 %), Łosie (30,9 %) oraz Sucha (23,1 %), natomiast najmniej w Nadl. Krasieczyn (3,9 %). Największy udział drzew z symptomem atrofii liści został odnotowany w Nadl. Limanowa (27,0 %), a najmniejszy w Nadl. Krasieczyn (2,8 %).

- U 35,5 % analizowanych jaworów, na pniach oraz nasadowych części grubych gałęzi, wykształciły się pędy przybyszowe. Najwyższy udział drzew z tym symptomem odnotowano w Nadl. Łosie (51,8 %), natomiast najmniejszy w Nadl. Baligród (14,0 %).

- Najczęściej występującymi objawami chorobowymi na pniach jaworów były lokalne nekrozy kory w różnym stopniu zabliznienia (63,2 % drzew) i symptom w postaci płytkiego żłobkowania kory (16,9 %). Najwięcej drzew z lokalnymi nekrozami występowało w Nadl. Sucha (88,6 %), a najmniej w Nadl. Krasieczyn (42,0 %). Udział drzew z symptomem płytkiego żłobkowania kory był najwyższy w Nadl. Krasieczyn (24,6 %) drzew, a najniższy w Nadl. Limanowa (4,7 %).

- Udział jaworów z objawami chorobowymi w koronach w postaci zamarłych całych gałęzi, zamarłych szczytów gałęzi, lokalnych nekroz kory na gałęziach, przebarwienia oraz atrofii liści oraz stopień nasilenia tych symptomów był najwyższy w drzewostanach w wieku powyżej 60 lat.

- Zamarłe całe gałęzie oraz przebarwienie liści występowały głównie w dolnych partiach koron drzew. Różnice pomiędzy udziałami drzew z tymi symptomami występującymi w różnych strefach korony były statystycznie istotne.

- Zamarłe szczyty gałęzi występowały częściej w górnych partiach koron drzew. Różnice pomiędzy udziałami drzew z tym symptomem w różnych strefach korony były statystycznie istotne.

- Symptomy chorobowe na pniach występowały częściej u drzew w drzewostanach w wieku powyżej 40 lat. Udział drzew z lokalnymi nekrozami kory był najwyższy w drzewostanach w wieku >80 lat, z rozległymi nekrozami kory w drzewostanach w wieku 61 – 80 lat, natomiast z symptomem w postaci płytkiego żłobkowania kory w drzewostanach w wieku 41 – 60 lat.

- Udział jaworów z symptomami chorobowymi był wyższy w drzewostanach rosnących na wystawach południowo-zachodniej oraz wschodniej i północnej, niż na pozostałych wystawach.

- Udział jaworów z symptomami chorobowymi był większy w drzewostanach rosnących na siedliskach LMG oraz LMwyż niż w drzewostanach na siedlisku LG i Lwyż.
- Nielicznie występującymi objawami były lokalne nekrozy kory na gałęziach (3,2 % drzew) i przebarwienie liści (3,3 % drzew) w koronach oraz symptomy w postaci raków drzewnych (0,5 % drzew) i zgnilizny drewna (2,4 % drzew) na pniach.

Grzyby w tkankach pni i gałęzi

- Ogółem grzyby wyizolowano z 99,7 % próbek pni i gałęzi z symptomami chorobowymi, natomiast zarodnikowanie *in vivo* stwierdzono na 83,0 % takich próbek.
- Ogółem w tkankach pni i gałęzi jaworów wyróżniono 330 gatunków grzybów. Ich zdecydowana większość występowała z częstotliwością poniżej 4 % i nie była identyfikowana do gatunku. Z tkanek bez widocznych symptomów chorobowych wyizolowano 31 gatunków grzybów.
- Do gatunków najliczniej zasiedlających tkanki w obrębie symptomów chorobowych na pniach i grubych gałęziach należały *Nectria coccinea* oraz *Haematonectria haematococca*, zaś na zmarłych szczytach gałęzi – *Valsa ambiens*. Do stosunkowo licznych gatunków należały również: *Eutypa maura* (odsłonięte drewno), *Scopinella caulicola* (lokalne nekrozy niezabliźnione w stadium początkowym), *Rebentischia massalongii* (rozległe i lokalne nekrozy zabliźnione), *Teichospora cf. aspera* (płytkie żłobkowanie kory) oraz *Massarina cf. corticola* (zamarłe szczyty gałęzi). Najliczniejszym gatunkiem w tkankach bez widocznych symptomów chorobowych był grzyb *Pezicula acericola*.
- Częściej w pniach niż w gałęziach występowały *Melanomma pulvis-pyrius*, *N. coccinea*, *Ophiostoma* spp., *Phoma cf. minima*, *R. massalongii*, *Strumella* sp. i grzyby z klasy *Basidiomycetes*. W gałęziach częściej występowały *Eut. maura*, *Exophiala jeanselmei* var. *jeanselmei* oraz *Gibberella baccata*.
- Drewno w obrębie przebarwienia zasiedlone było najczęściej przez następujące gatunki: *A. strictum*, *Lecythophora hoffmannii* oraz *N. coccinea*; *Ophiostoma* spp., *Phialophora fastigiata*, *Strumella* sp. oraz *Ex. jeanselmei* var. *jeanselmei*.

Grzyby w tkankach korzeni

- Ogółem grzyby wyizolowano z 99,0 % próbek korzeni z objawami chorobowymi oraz z 94,1 % próbek korzeni bez widocznych objawów chorobowych.
- Grzyby wyizolowano z 84,5 % fragmentów pobranych z tkanek w obrębie symptomów chorobowych oraz 67,8 % fragmentów tkanek z korzeni bez objawów chorobowych.
- W korzeniach z symptomami chorobowymi stwierdzono 75 gatunków grzybów. Częstość występowania większości gatunków grzybów była niewielka. Jedynie 8 gatunków grzybów z korzeni z objawami chorobowymi i 4 gatunki z korzeni bez objawów wyizolowano z ponad 2,0 % fragmentów wyłożonych na pożywki i tylko one były objęte analizami.
- Najliczniejszymi gatunkami grzybów w korzeniach bez widocznych symptomów chorobowych były *Cryptosporiopsis radicola* oraz grzyby z kompleksu DSE. Do najliczniejszych gatunków zasiedlających tkanki w obrębie symptomów chorobowych należały *Cylindrocarpon didymum*, *Phialophora fastigiata* oraz grzyby z kompleksu DSE (dark septate endophytes).

W oparciu o przeprowadzone badania oraz dane dotyczące wielkości pozyskania posuszu można stwierdzić, że w wielu rejonach południowej Polski występują objawy świadczące o procesie chorobowym jaworu. Z analiz w drzewostanach sześciu nadleśnictw wynika również, że procesowi temu towarzyszy znaczne zróżnicowanie symptomów chorobowych, zarówno w koronach jak i na pniach drzew. W koronach drzew najczęstszym symptomem były zamarłe gałęzie oraz atrofia liści, co wiązało się z redukcją aparatu asymilacyjnego. U niektórych jaworów występowały lokalne nekrozy na gałęziach oraz przebarwienie liści na kolor żółto-zielony lub brunatny. Sporadycznie dochodziło do zamarcia wierzchołkowej części lub całej korony. Na pniach jaworów występowały najczęściej różnej wielkości nekrozy kory o zróżnicowanym stopniu zablźnienia oraz symptomy w postaci płytkiego żłobkowania kory. Nekrozom lokalnym niekiedy towarzyszyły objawy charakterystyczne dla raków drzewnych oraz zgnilizna drewna. Wśród wyróżnionych rodzajów nekroz największy wpływ na stan zdrowotny badanych jaworów należy przypisać nekrozom niezablźnionym rozległym, rozciągającym się niekiedy od podstawy pnia do podstawy korony. Zamieranie całych gałęzi lub ich szczytów w koronach drzew był najprawdopodobniej, pośrednio, przyczyną częstego rozwijania się pędów przybyszowych na pniach i u nasady konarów wielu

badanych jaworów w południowej Polsce. Stopień zróżnicowania symptomów występujących na pniach i w koronach jaworów upodabniało proces chorobowy tego gatunku od strony symptomologicznej do innych tego typu zjawisk obserwowanych u różnych gatunków klonów oraz u innych gatunków drzew liściastych.

Znaczący wpływ na proces chorobowy różnych gatunków drzew mogą wywierać czynniki abiotyczne. Są one w stanie same wywoływać procesy chorobowe i powodować uszkodzenia, jak również mogą wpływać na zwiększenie predyspozycji chorobowej drzew, czyniąc je podatnymi na atak patogenów słabości. Czynniki stresowe upodatniają drzewa na atak ze strony patogenów głównie poprzez zmiany fizyczne i chemiczne w tkankach, jak na przykład uszkodzenia kory lub kutikuli oraz zaburzenie procesów fizjologicznych

Na przestrzeni ubiegłego wieku, objawy pogorszenia stanu zdrowotnego klonów, związane z suszą pojawiały się w różnych krajach Europy. W niektórych rejonach Austrii na osłabienie jaworu miało wpływ obniżenie poziomu wód gruntowych z powodu szkód górniczych. Ze skutkami suszy związane są symptomy w postaci płytkiego żłobkowania kory. Symptom w postaci płytkiego żłobkowania kory może się pojawiać w rezultacie ciągłego deficytu wody obejmującego wąskie pasy kory równoległe do osi pnia, który jednak nie jest na tyle ostry by doprowadzić do pęknięcia kory i drewna oraz pojawiania się nekroz podłużnych.

Infekcji grzybów oraz powstawaniu nekroz mogą również sprzyjać uszkodzenia tkanek powodowane przez niskie temperatury. Temperatura oddziałująca na korę drzewa oraz związane z nią występowanie nekroz może niekiedy ulegać zmianie w zależności od strony pnia. Południowe strony pni charakteryzują się wyższą temperaturą kory i łyka, co może wpływać na wcześniejsze zachodzenie w nich procesów przygotowawczych do okresu wegetacyjnego. Wystąpienie w okresie wczesnej wiosny niskich temperatur po okresie ocieplenia, może powodować uszkodzenia tkanek. W większości drzewostanów analizowanych przez autora niniejszej pracy, lokalne nekrozy kory występowały często na północnych stronach pni jaworów, jakkolwiek w drzewostanach Nadl. Krasieczyn, Limanowa, Łosie oraz Sucha nekrozy takie były równie częste na południowych stronach pni.

Zmiany w koronach, w wyniku oddziaływania czynnika stresowego niezwiązanego bezpośrednio z infekcją patogenicznych grzybów, są zazwyczaj pierwszymi widocznymi symptomami pogorszenia się stanu zdrowotnego drzew. Najbardziej narażonymi na uszkodzenia są najmłodsze, najbardziej delikatne szczytowe części gałęzi. U badanych jaworów w południowej Polsce stopień uszkodzenia korony był związany z liczbą

symptomów występujących na pniach. Można wnioskować, że przynajmniej część symptomów występujących w koronach drzew jest wynikiem uszkodzeń występujących na pniach. Na pniach badanych jaworów często występowały lokalne i rozległe nekrozy kory, których liczba na pniu jednego drzewa mogła wynosić ponad sto. Nekrozy zabliźnione były liczniejsze niż nekrozy niezabliźnione. Znaczna liczba nekroz zabliźnionych może świadczyć, że proces chorobowy w badanych drzewostanach w latach poprzedzających badania był intensywny, jednak drzewa były w stanie powstałe uszkodzenia zabliźnić. Obecność nekroz niezabliźnionych, często w stadium początkowym, może z kolei wskazywać, że proces chorobowy trwa nadal. Z przeprowadzonych analiz wynika, że badanych jaworów, nekrozom należy przypisać szczególnie dużą rolę w dalszym kształtowaniu się procesu chorobowego drzew. Stąd w analizie mycobiota stwierdzonej na pniach i gałęziach jaworów, należy szczególnie zwrócić uwagę na potencjalnych sprawców tych nekroz.

W trakcie obecnych badań grzyby stwierdzono w żywych i martwych tkankach pni, gałęzi i korzeni wszystkich jaworów, z których pobrano próbki do analiz. Zróżnicowanie gatunkowe grzybów było stosunkowo duże. Ogółem, mimo stwierdzenia dużego zróżnicowania gatunkowego grzybów w tkankach jaworów, tylko kilka gatunków grzybów cechowała wysoka częstość występowania, pozostałe stwierdzono na mniej niż 2 % próbek. Większość ze zidentyfikowanych na nadziemnych częściach jaworów grzybów, uwzględniając stadia anamorficzne, należała do gromady *Ascomycota* (79,4 %). Spośród nich, na podstawie literatury, do potencjalnych sprawców chorób można zaliczyć: *Nectria coccinea*, *Haematonectria hematococca*, *Gibberella baccatta*, *Diaporthe pustulata*, *Neonectria radicularis*, *Valsa ambiens* oraz *Diplodina acerina*. Najważniejszą rolę w powodowaniu nekroz kory na pniach i gałęziach należy przypisać *N. coccinea* i *H. hematococca*. W trakcie badań terenowych, grzyb *N. coccinea* był odnotowany na wszystkich jaworach z symptomem rozległych nekroz niezabliźnionych oraz na 6 osobnikach z lokalnymi nekrozami niezabliźnionymi. Izolowano go zarówno z nekroz niezabliźnionych jak i zabliźnionych. Grzyb *N. coccinea* występował *in vivo* głównie w stadium teleomorficznym, natomiast w wyniku izolacji otrzymywano na pożywce jego stadium anamorficzne (*Cylindrocarpon candidum*).

Musiąły jednak zaistnieć okoliczności sprzyjające powstawaniu nawet mikroskopijnych ran na pniach oraz osłabieniom drzew. *N. coccinea* uważana jest bowiem za patogena słabości, mogącego infekować i zasiedlać tkanki drzew poddane czynnikom stresowym

Grzyb *H. hematococca* (anam. *Fusarium solani*) posiada szeroki krąg roślin gospodarzy. Jest szczególnie znany jako sprawca zakaźnej zgorzeli siewek. U badanych jaworów *F. solani* występował najczęściej w obrębie nekroz niezabliźnionych w stadium początkowym. Stwierdzany był także w tkankach w obrębie symptomów w postaci płytkiego żłobkowania kory. *G. baccatta* (anam. *Fusarium lateritium* Nees), podobnie jak *H. haematococca*, w obecnych badaniach występowała najczęściej w tkankach w obrębie nekroz niezabliźnionych w stadium zaawansowanym oraz symptomów w postaci płytkiego żłobkowania kory. W tkankach w obrębie wielu analizowanych pod kątem mikologicznym symptomów chorobowych występował grzyb *Diaporthe pustulata* (anam. *Phomopsis pustulata*). Był on najczęstszy w martwych tkankach w obrębie lokalnych i rozległych nekroz zabliźnionych oraz zamarłych szczytów gałęzi. Często na zamarłych szczytach gałęzi oraz rzadziej w tkankach w obrębie lokalnych i rozległych nekroz niezabliźnionych w stadium zaawansowanym występował grzyb *Valsa ambiens* (anam. *Cytospora ambiens*). Na zdolność tego grzyba do powodowania nekroz u różnych gatunków drzew liściastych wskazywali w przeszłości różni badacze. W obrębie nekroz na pniach i gałęziach badanych jaworów nie stwierdzono grzybów, które okazały się groźnymi sprawcami takich objawów w innych krajach. Znaczenie nekroz lokalnych kory dla dalszego procesu chorobowego jaworów zależało od patogeniczności szczepów grzybów z jednej strony oraz zdolności obronnych poszczególnych osobników. Szkodliwość była najmniejsza, jeżeli drzewo było w stanie doprowadzić do zabliźnienia nekroz w przeciągu kilku lub kilkunastu miesięcy. Ślady takich zabliźnień można nawet po latach obserwować na przekrojach poprzecznych pni w postaci przebarwień typu „T”. Zmiana zabarwienia pomiędzy drewnem przebarwionym a nieprzebarwionym jest wynikiem tworzenia się bariery zwanej „strefą reakcyjną”. Spełnia ona funkcje ochronne przed atakiem patogenów oraz utrzymuje ciągłość zdrowego ksylemu sąsiadującego z drewnem. Największy obszar drewna, znajdującego się pod nekrozami niezabliźnionymi, w pniach badanych jaworów ulegał szaremu przebarwieniu. Nierzadko drewno takie wykazywało również objaw zgnilizny.

W trakcie obecnych badań nie stwierdzono grzyba *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, znanego z powodowania choroby systemicznej drzew i krzewów liściastych.

Dla wyjaśnienia sposobów infekcji drzew osłabionych istotna jest znajomość składu gatunkowego grzybów endofitycznych. Jak wykazały liczne badania, wiele gatunków grzybów może występować w utajonej formie w żywych organach nie powodując objawów chorobowych. W przypadku uszkodzenia roślin lub ich osłabienia niektóre z nich mogą

przejsć do patogenicznej działalności. Z przeprowadzonych obecnie badań wynika, że tkanki pni i gałęzi żywych jaworów bez objawów chorobowych najczęściej zasiedlone były przez *Pezicula acericola* (anam. *Cryptosporiopsis* sp.), często występowały również *Acremonium strictum* oraz *Phialemonium dimorphosporum*. W trakcie obecnych badań nie stwierdzono jednak, by *P. acericola* była często obecna w obrębie lokalnych nekroz oraz by innemu gatunkowi grzyba endofityczny sposób życia ułatwił infekcje uszkodzonych tkanek.

Również korzenie jaworów często były zasiedlane przez grzyby endofityczne. Grzyby występowały częściej w korzeniach z objawami chorobowymi niż w korzeniach bez takich objawów oraz częściej w korzeniach żywych drzew chorych niż takich korzeniach drzew zdrowych. Większa częstotliwość izolacji grzybów z korzeni chorych jaworów w Polsce południowej może wskazywać na ułatwienie infekcji korzeni w związku z procesem chorobowym nadziemnych części, w wyniku którego korzenie mogą być słabiej zaopatrywane w substancje organiczne. Najczęstszymi grzybami endofitycznymi w korzeniach badanych jaworów były *Cryptosporiopsis radicularis*, *C. melanigena* oraz grzyby DSE. Były one często stwierdzane w żywych korzeniach bez objawów chorobowych u różnych gatunków drzew liściastych. Grzyby DSE są szeroko rozpowszechnione na świecie na różnych siedliskach i zasiedlają korzenie różnych gatunków drzew iglastych i liściastych. Cechuje je brak powiązania do określonego gatunku rośliny. W obecnych badaniach, w obrębie nekrotycznych tkanek korzeni jaworów najliczniej występowały grzyby: *Cyl. didymum*, *P. fastigiata*, *Trichocladium opacum* oraz gatunki z rodzaju *Trichoderma*.

U badanych jaworów większość przypadków infekcji korzeni przez *Cyl. didymum* wiązała się z powstawaniem nekroz, co sugeruje jego patogeniczne właściwości. W obecnych badaniach, w zamarych tkankach korzeni występował również grzyb *Neonectria radicularis* (anam. *Cylindrocarpon destructans*). Zwraca się uwagę na patogeniczność tego grzyba w stosunku do różnych gatunków drzew, szczególnie w młodym wieku.

W oparciu o przeprowadzone badania można stwierdzić, że obserwowany proces chorobowy jaworu kwalifikuje się do zaliczenia do chorób wieloczynnikowych. Nasilenie procesu zamierania jaworu nastąpiło z początkiem lat 90-tych ubiegłego wieku. Zbiegło się całkowicie z okresem wzmożonego zamierania brzozy. Innym czynnikiem abiotycznym, który mógł się przyczynić do osłabienia drzew były niskie temperatury, zwłaszcza jej nagłe spadki.

2.2 Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

1. W większości badanych drzewostanów, jawor został dotknięty procesem chorobowym, który znajduje się w różnym stopniu zaawansowania, na co pewien wpływ mogą wywierać takie czynniki jak: wiek drzew, siedlisko oraz wystawa terenu. Do bardziej podatnych na proces chorobowy można zaliczyć drzewostany starszych klas wieku, rosnące na siedliskach średnio żyznych oraz występujące na wystawach silnie nasłonecznionych.
2. Do najczęstszych symptomów chorobowych u jaworów, wykazujących objawy zamierania należy zaliczyć: przerzedzenie korony jako skutek zamierania całych gałęzi lub ich szczytów i atrofii liści, lokalne i rozległe nekrozy kory na pniach oraz wytwarzanie pędów przybyszowych na pniach i u nasady konarów.
3. Na częstość powstawania nekroz na pniach w niektórych drzewostanach wywierają pośrednio wpływ najprawdopodobniej odmienne warunki temperaturowo-wilgotnościowe kształtujące się w różnych partiach pni zależnie od strony świata.
4. Objawy w koronach jaworów mogą być w znacznym stopniu wynikiem zmian chorobowych na pniach i w korzeniach. Szczególne znaczenie w tym względzie należy przypisać nekrozom rozległym na pniach.
5. Badania wykazały, że w przypadku nekroz na pniach jaworów, stosunkowo szybko dochodzi do przebarwień drewna. W przypadku nekroz rozległych przebarwienia dotyczą całych sektorów aż do części rdzeniowej pni. Poprzez możliwie wczesne pozyskiwanie takich osobników, można zmniejszyć związane z tym straty ekonomiczne.
6. Grzyby stwierdzone na jaworach cechuje duże zróżnicowanie gatunkowe, lecz pod względem częstości zaznacza się dominacja zaledwie kilku gatunków. Częstość występowania poszczególnych gatunków grzybów zależała od stanu zdrowotnego drzewa, organu (pień, gałęzie, korzenie), rodzaju tkanki (kora, drewno) i typu objawu chorobowego.

7. Spośród odnotowanych grzybów największą rolę w powodowaniu nekroz tkanek na pniach i gałęziach jaworów należy przypisać *Nectria coccinea* i *Haematonectria haematococca*, a następnie *Diaporthe pustulata* i *Valsa ambiens*. Największą rolę w powodowaniu nekroz tkanek w korzeniach należy przypisać *Cylindrocarpon didymum*. Zastosowanie mają więc wszelkie wypracowane dotychczas dane w zakresie ograniczania możliwości rozwoju i zarodnikowania wymienionych patogenów. Należy mieć na uwadze, że najgroźniejsze z nich, grzyby z rodzaju *Nectria*, mogą owocnikować w obrębie nekroz na żywych drzewach jak i na świeżo obumarłych drzewach stojących oraz pozostawionych fragmentach pni i gałęzi na dnie drzewostanu.

8. Żywe organy i tkanki jaworu, nie wykazujące objawów chorobowych, są pospolicie zasiedlane przez grzyby endofityczne. Do najczęstszych grzybów zasiedlających pnie i gałęzie należy zaliczyć *Pezicula acericola*, *Phialemonium dimorphosporum* oraz *Acremonium strictum*. Do najczęstszych grzybów zasiedlających korzenie należy zaliczyć *Cryptosporiopsis radicola*, *C. melanigena* oraz grzyby DSE (dark septate endophytes). Do bardziej preferowanych przez grzyby endofityczne należy uznać u żywych jaworów tkanki w obrębie kory niż w obrębie drewna.

9. Do najważniejszych czynników abiotycznych mogących wpływać na kształtowanie się procesu chorobowego jaworów, poprzez wpływ bezpośredni oraz poprzez upodatkowanie ich na działanie grzybów i innych czynników biotycznych w ciągu ostatnich kilkunastu lat, należy zaliczyć układ czynników wpływających na niedobór wody oraz niskie temperatury, szczególnie szkodliwych w określonych porach roku. Lokalne warunki wzrostu danego drzewostanu mogą wpływać na łagodzenie lub potęgowanie tego wpływu, co znajduje odbicie w nasileniu procesu chorobowego. Na terenie danego nadleśnictwa należało by rozpoznać, które warunki najbardziej sprzyjają chorobie jaworu, i dane te wykorzystać w działaniach hodowlanych. Wyniki zawarte w merytorycznej części sprawozdania dostarczają wielu szczegółowych danych w tym zakresie, które mogły by być wykorzystane w praktycznej działalności.

10. Stwierdzone u badanych jaworów typy objawów chorobowych, okoliczności ich powstania, wielce prawdopodobny udział wielu czynników abiotycznych i biotycznych w

wywołaniu objawów chorobowych, duża trudność w określeniu zasadniczego czynnika sprawczego, czynią proces zamierania jaworu podobny do procesu chorobowego, któremu ulegają w licznych krajach Europy inne gatunki drzew, zwłaszcza dąb, buk i brzoza, który zaliczany jest do tzw. chorób wieloczynnikowych.

11. Procesy chorobowe jesionu i jaworu, mimo że rozpoczęły się w zwiększonym nasileniu w podobnym okresie, na początku lat 90-ych ubiegłego wieku, i wywołują u drzew liczne symptomy o podobnym charakterze, są zjawiskami o zupełnie odmiennym przebiegu i różnych przyczynach. Aspekty te zostały szczegółowo przedstawione w merytorycznej części sprawozdania. Zamieranie jaworu:

- ma zarówno w Polsce jak i w innych krajach Europy charakter lokalny
- wykazuje na danym terenie charakter procesu przejściowego
- dotyczy w głównej mierze drzewostanów starszych klas wieku
- wykazuje cechy choroby wieloczynnikowej

Nasuwa się także wniosek bardziej ogólnej natury:

12. Doświadczenia w przeszłości z wiązem, obecne z jesionem oraz jaworem, przy uwzględnieniu, że również olsza zagrożona jest przez grzybopodobnego pływkowca *Phytophthora alni* (w Anglii chorują olsze na powierzchni ok. 20%, choroba występuje też w Austrii, Francji i na terenie Niemiec), uzmysławiają po raz kolejny celowość zakładania drzewostanów z udziałem różnych gatunków.