

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

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

Robert Jankowiak¹✉, Jacek Banach², Angelika Balonek¹

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

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

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

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

1. Wstęp

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

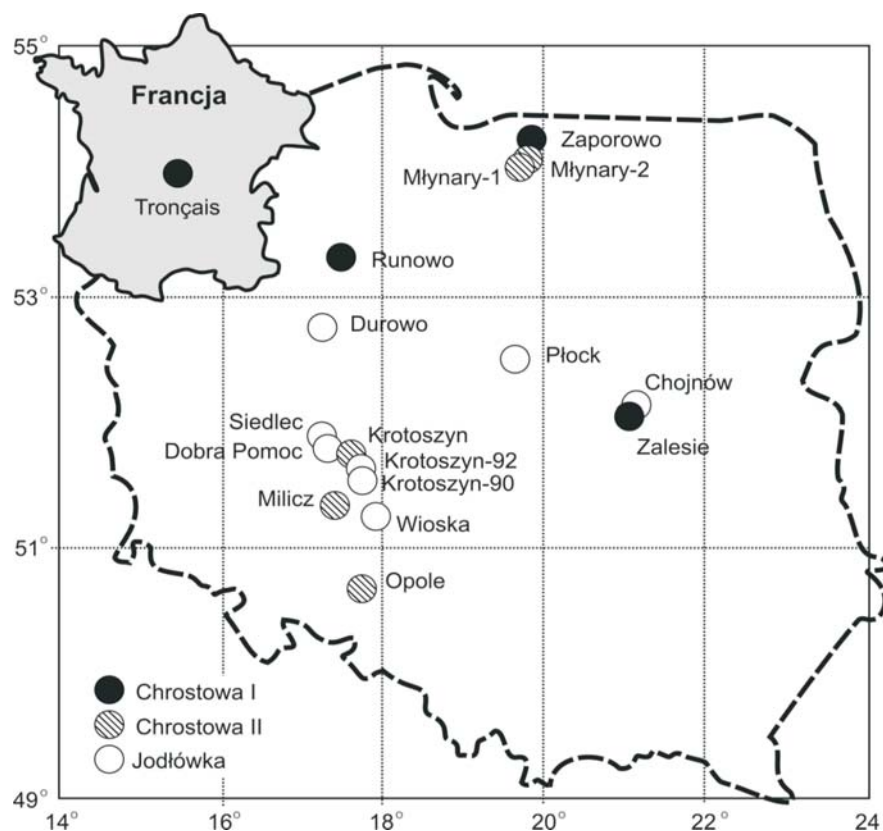
2. Materiał i metody

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

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

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

Izolaty rosły przez 14 dni na pożywce o składzie: sok V8 (sok warzywny) – 200 ml, CaCO₃ – 3 g, agar – 15 g, woda destylowana – 800 ml. Wstępne badania patogeniczności wymienionych izolatów wykazały, że izolat 528.08 wykazywał o wiele większy stopień agresywności w stosunku do dębu szypułkowego niż izolat 303.07. W doświadczeniu przeprowadzonym na dwuletnich sadzonkach dębu szypułkowego jedynie izolat 528.08 spowodował zamarcie dwuletnich sadzonek. Izolat ten generował także znacznie większe nekrozy na



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

Tabela 1. Proweniencje i rody dębu szypułkowego użyte w badaniach

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

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

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

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

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

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

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

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

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

gdzie:

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

μ – średnia ogólna,

P_k – efekt k -tej proveniencji,

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

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

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

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

3. Wyniki

Po pięciu dniach od założenia doświadczenia na sztucznie zainfekowanych pędach dębu wytworzyły się dobrze widoczne, ciemne przebarwienia zlokalizowane w miękiszu korowym i łyku. Średnia długość nekrozy spowodowanej przez izolat 528.08 wynosiła 1,58 cm, a przez izolat 307.07 – 0,50 cm. Na pędach kontrolnych zanotowano słabą reakcję na wprowadzone inokulum i brak wytworzonych nekroz, z wyjątkiem pochodzenia Chojnów (0,01 cm), Wioska (0,04 cm) i Krotoszyn-92 (0,04 cm) (tab. 2).

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

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

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

3.1. Zmienność proveniencyjna

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

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

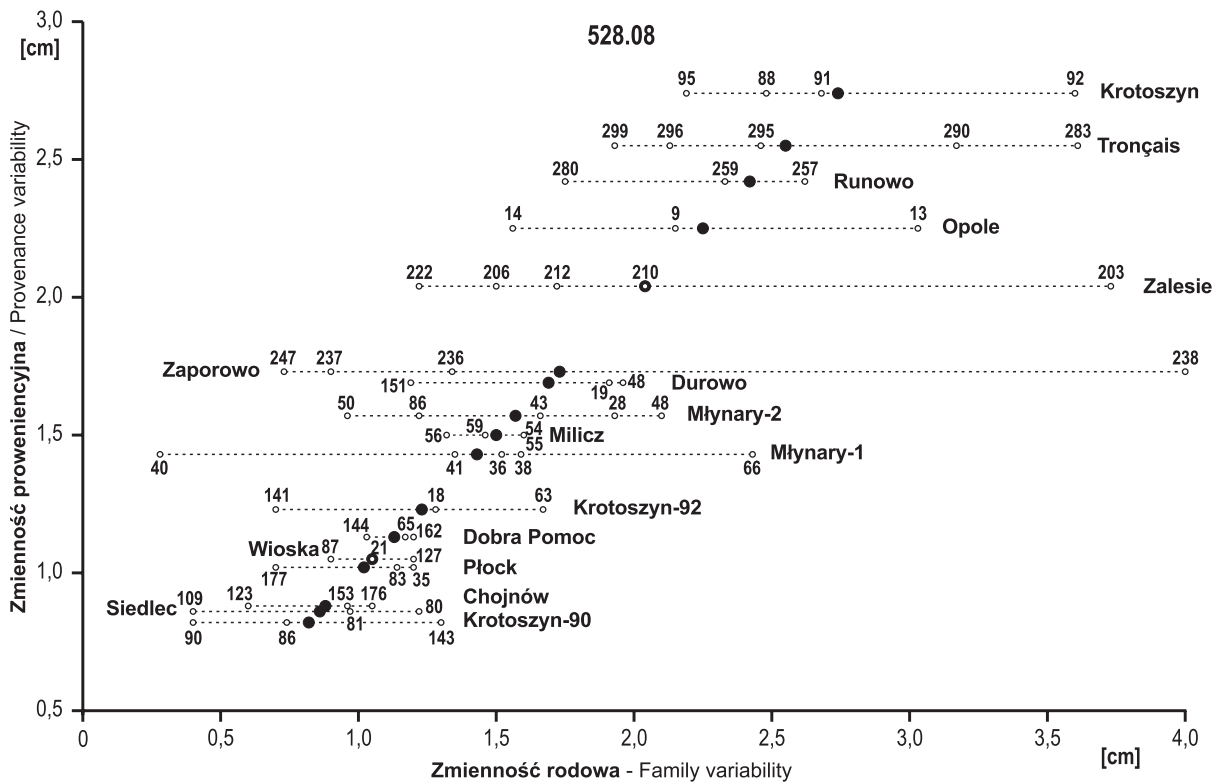
Tabela 2. Średnia długość nekrozy (cm) dla poszczególnych proveniencji *Q. robur* (a–i – grupy jednorodne, test NIR, $p \leq 0,05$)

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

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

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

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

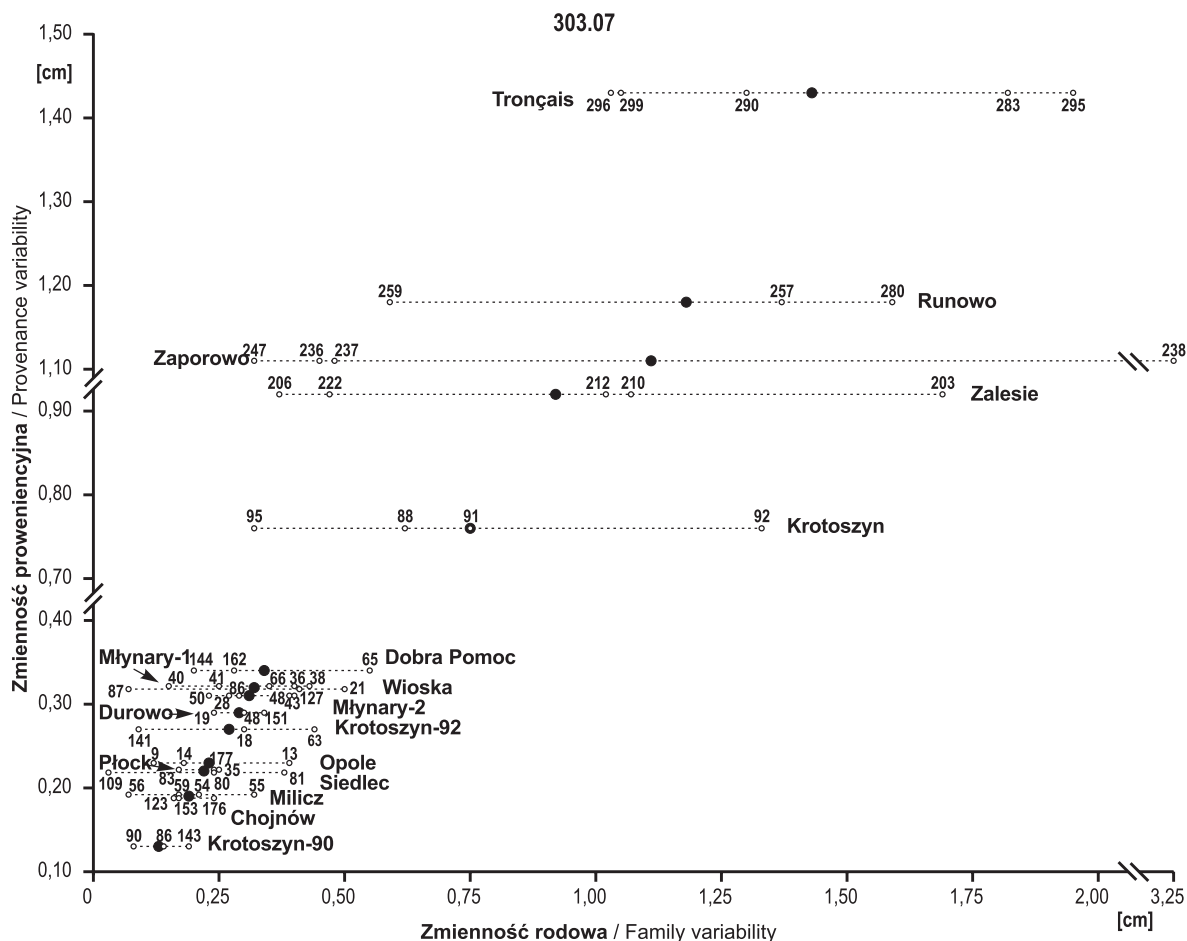


Rycina 2. Zmienność provenienyjna i rodowa dębu szypułkowego pod względem średniej długości nekrozy powodowanej przez *P. cambivora* (izolat nr 528.08); ● – średnia dla pochodzenia, ○ – średnia dla rodu, 9–299 – numery rodów
 Figure 2. Variation among provenances and families of pedunculate oak with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

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

3.2. Zmienność rodowa

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



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

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

3.3. Reizolacja *P. cambivora* z zakażonych pędów

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

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

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

4. Dyskusja

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

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

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

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

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

W prezentowanych badaniach wykazano również istotne zróżnicowanie szybkości kolonizacji pędów

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

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

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

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

5. Wnioski

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

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

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

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

Podziękowania

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

Literatura

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Robert Jankowiak¹✉, Jacek Banach², Angelika Balonek¹

University of Agriculture in Krakow, Faculty of Forestry, Al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków, Poland,

¹ Department of Forest Pathology, ² Department of Genetics and Forest Tree Breeding

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

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

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

1. Introduction

Declining of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) has been observed in Europe for over two hundred years. This phenomenon has a mass character with periods of higher and smaller disease intensity (Thomas et al. 2002). In Poland the symptoms of oak stands decline were repeatedly registered in Płyta Krotoszyńska (area nearby Krotoszyn) area and also in western and northern country area (Oszako et al. 2009). Intensification of trees' decline is also observed in present times (Tarasiuk, Szczepkowski 2006). A large area of this phenomenon occurrence, different habitats, different age and trees' origin indicate that the factors responsible for this disease process are both abiotic and biotic. The declining process begins often with water deficiency during the growing period, frost damages or spring frosts, and later with damages caused by insects and pathogenic fungi. The process then leads to defoliation

or frost damages, consequently leading to weakening and secretion of trees in the stand (Thomas et al. 2002; Oszako 2007).

Serious pathogens, which contribute to the damage of oaks' root system, are organisms from *Phytophthora* genus. Those fungus-like Oomycetes can be a reason for the formation of very characteristic disease symptoms accompanying oak's decline. And so, a common symptom related to trees' infection by *Phytophthora* spp. are necrosis combined with water soaked on trunks, especially in their lower parts. Over a period of time, necrosis of bark and cambium can occupy a significant trunk circuit which causes decline and leaves turning yellow in tree crown; and in the final stage of disease, even decay of whole tree (Jung et al. 2000; Vettraino et al. 2002; Jönsson et al. 2003). In Poland, the importance and incidence of organism from *Phytophthora* genus in forests are still poorly examined. In oak stands so far was reported the occurrence of *Phytophthora uliginosa*

T. Jung & E.M. Hansen (Jung et al. 2000), *P. quercina* T. Jung, *P. hedraiaandra* de Cock & E.M. Hansen (Cordier et al. 2009), *P. cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt., *P. pseudosyringae* T. Jung & Delatour, *P. plurivora* T. Jung & T.I. Burgess (Olejarski et al. 2012) i *P. cambivora* (Petri) Buisman (Stępniewska et al. 2008). The last mentioned species seems to be, next to *P. plurivora* and *P. quercina* – a pathogen most frequently infecting the fine roots of pedunculate oak in Poland (Olejarski et al. 2012; Stępniewska, Jankowiak, unpublished). This species is a common deciduous tree pathogen in Europe (Brasier 2000; Jung et al. 2005), and also on pedunculate oak in France (Camy et al. 2003), Germany (Jung et al. 2000), Italy (Vettrano et al. 2002) and Sweden (Jönsson et al. 2003). Relatively high aggressiveness of *P. cambivora* towards various species of deciduous trees was confirmed in numerous infectious experiments (Brasier, Kirk 2001; Saavedra et al. 2007; Balci et al. 2008).

Studies over within-species variability of pedunculate oak were initiated by Kienitz in Germany (Kleinschmit 1993), however not earlier than the last 20 years significant research development in this range could be observed (Jensen 2000; Baliuckas, Pliura 2003; Bogdan et al. 2004; Barzdajn 2009; Banach 2011). In the mentioned studies, a significant variation was noted in the examined oak populations with reference to survivability, trunk form, phenology or the content of organic compounds in the leaves. The object of interest of researchers was also susceptibility of different oak origins to insect pests (Crawley, Akhteruzzman 1988; Skrzypczyńska 2001; Banach, Lenowiecki 2011). So far, there have been no investigations evaluating the resistance of pedunculate oak provenances to infections by pathogenic fungi, although already in the 60s Leibundgut (1969) had analysed the susceptibility of different oaks provenances to *Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam. In Poland, preliminary studies in this range were performed also by Zwaduch (2005), who indicated different degree of affected pedunculate oak's leaves by this pathogen within the examined oak populations. Lately Szczepkowski (2010) also examined resistance of pedunculate oak's wood, collected from trees of various health conditions, derived from 7 polish populations, on decomposition caused by *Coniophora puteana* (Schumach.) P. Karst., *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill and *Trametes versicolor* (L.) Lloyd. For other forest trees, considerable amount of research in this range was performed on elms in reference to *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier (Santini et al. 2005) and on pines and spruces towards *Gremmeniella*

abietina (Lagerb.) M. Morelet (Roll-Hansen 1971; Hansson 1998), and also inter alia to *Cenangium ferruginosum* Fr. (Kuzmina, Kuzmin 2008). Similar research works were performed for *Mycosphaerella pini* Rostr. ex Munk (Eldridge, Dowden 1980), *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton (Smith et al. 2002), *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell (Hodge, Dvorak 2007) and *Mycosphaerella* spp. (Carnegie et al. 2004). Relatively many studies were dedicated to genetic variability of different populations of *Castanea sativa* Mill. to infections by *P. cambivora* (Miranda-Fontania et al. 2005; Robin et al. 2006). In Poland so far resistance of polish larch origins was examined to infections of *Lachnellula willkommii* (Hartig) Dennis (Kulej 2006) and health condition of spruces was estimated, which belong to 1100 provenances representing different regions of Europe on experimental area in Krynica (Zółciak et al. 2009). In quoted studies, in many cases, a large susceptibility variation was found of different trees populations to infections by dangerous plant pathogens.

Presently various methods are used allowing evaluation of trees' susceptibility to infection by root pathogens. It may be a shoot's and root's inoculation of living plants or a method of so-called "excised shoots" (Miranda-Fontania et al. 2005). In both methods, trees' susceptibility is estimated by the length of necrosis produced after artificial inoculation of plants with isolate of pathogenic organism. The method of "excised shoots" is a most frequently used method for estimating trees' susceptibility to infection by pathogens; however, results obtained by this method may not reflect fully the situation occurring on living trees. Lately however, Robin et al. (2006) showed that inoculation of shoots collected from trees with necrosis measurement is an appropriate method for estimating trees' susceptibility to infection caused by root pathogens.

The aim of this research was the estimation of susceptibility of different provenances and families of pedunculate oak to colonisation by oomycete *Phytophthora cambivora*. The authors with their studies wanted to answer the following questions:

- Is there an inter- and inner-population variability of pedunculate oak in reference to infections by *P. cambivora*?
- Is it possible to select resistant and susceptible provenances and families of pedunculate oak occurring in Poland?
- Is there a difference in resistance of different provenances of pedunculate oak depending on *P. cambivora* isolate properties?

2. Material and methods

The samples of shoots were collected in October 2010 from randomly chosen oaks growing on tree provenance-family experimental plots (Chrostowa I and II and Jodłówka), established in years 1996–2000 on the area of Brzesko Forest District (Banach 2010). Within each family, shoots were collected from two trees without any visible disease symptoms. From each randomly selected tree were cut 20 two-year old shoots around 50 cm long with an average thickness of 0,78 cm (from 0,40 cm to 1,22 cm). Next, the shoots were put into a paper bag, which included description of the origin and family number. The whole material was moved into plastic bags and transported to laboratory. Subsequently the samples of shoots were put into freezer for 24 hours. In total, 2480 shoots were collected from 16 Polish and 1 French pedunculate oak's provenance. The collected shoots came from oaks which belonged to 62 families (from 3–5 families per provenance) (Fig. 1, Table 1).

In the experiment two isolates of oomycete *P. cambivora* were used: 528.08 and 303.07, which were

isolated from soil collected from oak stand by Stepniewska and Jankowiak. Those isolates were identified on the base of morphologic features and comparison of ITS rDNA sequences (ITS1–5.8 S–ITS2) with reference sequences obtained from NCBI base (Jankowiak et Stepniewska, unpublished data). First isolate was obtained in 2008 from Babice (Rudy Raciborskie Forest District), and the second one in 2007 from Krzyszkowice Forest (around Wieliczka). Cultures were obtained from fungal culture collection of the Laboratory of Department of Forest Pathology, Agricultural University of Cracow, Poland.

Isolates grew for 14 days on medium composed of: juice V8 (vegetable juice) – 200 ml, CaCO_3 – 3 g, agar – 15 g, distilled water – 800 ml. Preliminary pathogenicity test of mentioned isolates revealed that isolate 528.08 showed a much higher aggressiveness degree to pedunculate oak than isolate 303.07. In an experiment conducted on 2-year old pedunculate oak seedlings, only isolate 528.08 caused declining of 2-year old seedling. This isolate also generated much greater necrosis on seedling stems than isolate 303.07 (Jankowiak, Stepniewska, unpublished).

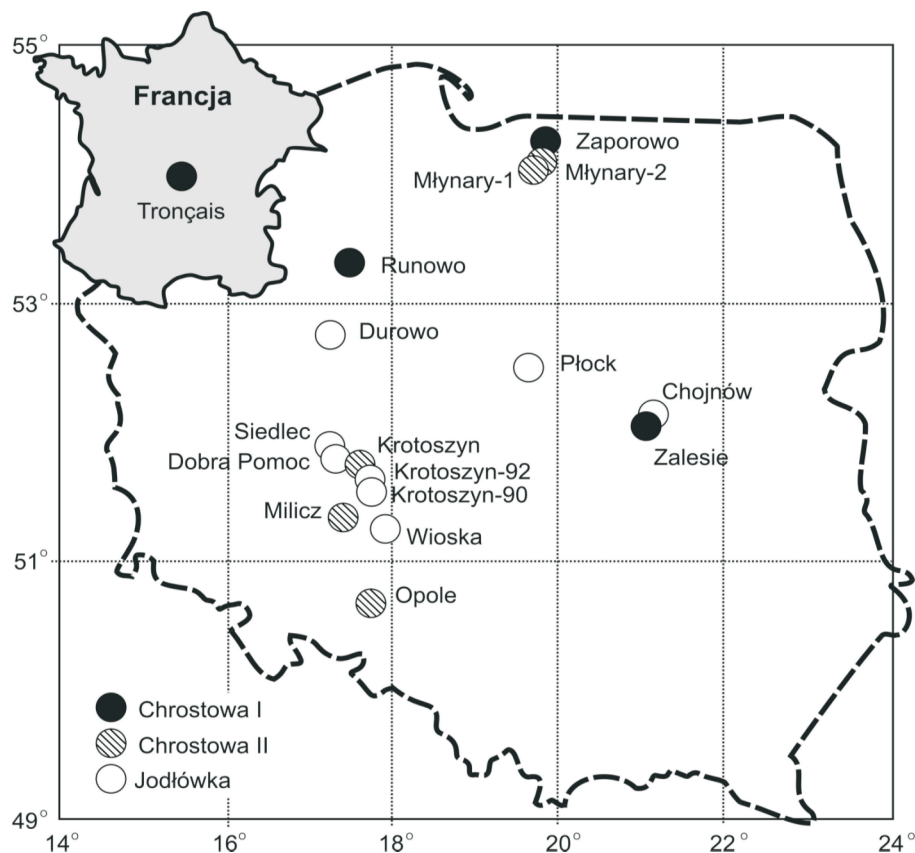


Figure 1. Location of pedunculate oak provenances used in the test

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

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

Quercus robur “excised shoots” inoculation procedure with *P. cambivora* isolates looked as follows. Collected branches after removing them from freezer were disinfected using cotton wool saturated with 96% ethyl alcohol. After drying, shoots were cut for sections 30 cm long. With the use of sterile scalpel from the middle part of shoot, a bark was taken on 0,5 cm section, revealing cambium. Into this wound with the use of sterile inoculating loops, the inoculum disc (4 mm diameter) was placed. The inoculum was taken from the 14-day-old *P. cambivora* culture. Ten shoots were inoculated with isolates representing each family. After placing the inoculum in wound, each artificially infected fragment of shoot was covered up tightly with a parafilm strip and placed into a 300 ml flask with distilled water. Similar procedure was conducted with control with one difference, that inoculum was replaced with clean V8 medium. Flasks with shoots were placed such that they could be exposed to day light activity. Altogether 1860 shoots of pedunculate oak were inoculated.

After 5 days from shoots' inoculation, a size of necrosis was measured. From shoots a parafilm was unwind and then a periderm was removed gently with sterile scalpel. The length of necrosis was measured parallel to the shoot's axis, and next, from each shoot a re-isolation of *P. cambivora* was made. For this purpose from each inoculation point one fragment of discoloured cortical parenchyma was collected with sterile scalpel

(4 × 4 mm) and transferred to Petri dishes with V8 medium enriched with pimarin (5 mg·l⁻¹), ampicillin (250 mg·l⁻¹), rifampicin (10 mg·l⁻¹), pentachloronitrobenzene – PCNB (100 mg·l⁻¹) and hymexazol (50 mg·l⁻¹).

On the bases of received necrosis measurements, statistical analysis was made using considered as very weakly pathogens of NIR test – based on marking the smallest significant differences. Analysis was made in program ‘Statistica® 9.0’ (polish version, StatSoft, Tulsa, USA).

To define the influence of origin and family on diversity of necrosis' length, a hierarchical variance analysis was made on the basis of the following formula (Žuk 1989):

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

where:

y_{kmn} – phenotypic value of n -th individual in m -th family and k -th provenance,

μ – general average,

P_k – effect of k -th provenance,

$F_{m(k)}$ – effect of m -th family in k -th provenance,

$E_{n(km)}$ – effect of n -th individual in m -th family in k -th provenance (error).

Also a Pearson's correlation coefficient was calculated on the origin and family level between

the average necrosis length caused by both used *P.cambivora* isolates.

Due to lack of normal distribution and homogeneity of variance before performing statistical analysis, measurement data have been subjected to logarithm.

3. Results

After 5 days of the experiment, the artificially infected oak's shoots were well visible – dark discolorations localised in cortical parenchyma and phloem. Average necrosis length caused by isolate 528.08 was 1,58 cm, and 0,50 cm by isolate 307.07. On control shoots a poor response was noticed for introduced inoculum and a lack of necrosis, except for Chojnów origin (0,01cm), Wioska (0,04 cm) and Krotoszyn-92 (0,04 cm) (Table 2).

Hierarchical variance analysis for origins and families in origin showed, that with significance level $p \leq 0,01$ a size of necrosis created by two isolates of *P. cambivora* differed on origin and family level (Table 3).

Correlation between average necrosis length caused by both isolates used in studies was high and amounted to 0,73 for origins and 0,75 for families which indicates a large comparability of their negative influence on analysed oaks, regardless of isolate origin.

3.1. Provenance variation

Large susceptibility differences were proved of various pedunculate oak's provenance to *P. cambivora* colonisation. For isolate 528.08, relatively small necrosis occurred on oak shoots which belong to the following populations: Siedlec, Durowo, Dobra Pomoc, Chojnów, Młynary-1, Młynary-2, Milicz, Krotoszyn-90, Krotoszyn-92 and Płock. The largest average necrosis was caused by isolate 528.08 on shoots from provenance Tronçais, Runowo, Opole, Krotoszyn and Zalesie (Fig. 2).

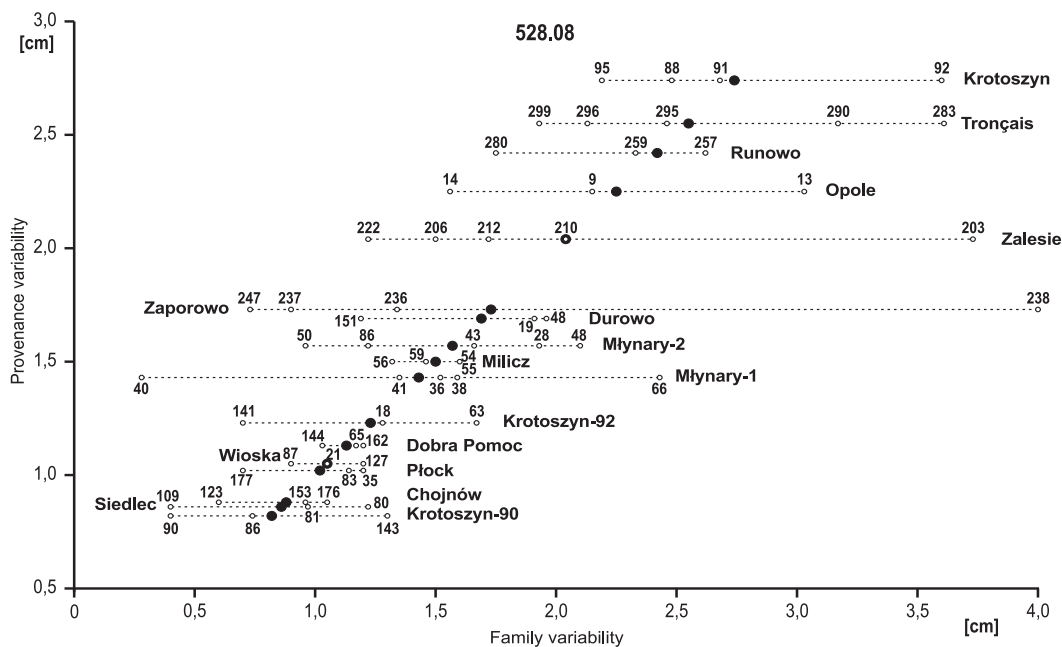
In contrast to isolate 528.08, isolate 303.07 caused much smaller necrosis on shoots. The biggest average necrosis was observed in case of populations from Tronçais, Runowo, Zaporowo; smallest one's in case of oaks from Krotoszyn-90, Milicz and Chojnów. Additionally, much smaller differences between oak populations were observed than in case of isolate 528.08, because as many as 12 origins had necrosis of similar size. They were: Krotoszyn-90, Siedlec, Chojnów, Płock, Wioska, Dobra Pomoc, Krotoszyn-92, Młynary-1, Milicz, Młynary-2 and Durowo (Fig. 3).

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

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

Table 3. Influence of provenance and family on length of necrosis caused by *P. cambivora*

Source of variance	Degree of freedom	Isolate				Reference test	
		303.07		528.08		F-test	significance (p)
		F-test	significance (p)	F-test	significance (p)		
Provenance	16	3,272	<0,001	2,985	<0,002	2,177	<0,021
Family within provenance	45	8,411	<0,001	8,181	<0,001	1,934	<0,001

**Figure 2.** Variation among provenances and families of pedunculate oak with respect to mean length of necrosis caused by *P. cambivora* (isolate no 528.08); ● – average for provenance, ○ – average for family, 9–299 – numbers of families

3.2. Family variation

The resistance of oak shoots to *P. cambivora* colonisation differed significantly depending on family ancestry in one origin. Of all examined origins, the longest necrosis on oak shoots was found- regardless of isolate – in case of Zaporowo/238. Average necrosis' length for both isolates was 2,39 cm (Fig. 2–3). Relatively large necrosis occurred also on oak shoots from Tronçais/283 family (1,82 cm for isolate 303.07, and 3,61 cm for isolate 528.08), Zalesie/203 (1,69 cm for isolate 303.07, and 3,73 cm for isolate 528.08) and Krotoszyn/92 (1,33 cm for isolate 303.07 and 3,60 cm for isolate 528.08). Average length of necrosis on shoots from those families for both isolates was respectively: 1,81, 1,81 and 1,64 cm. To families on which the smallest

necrosis sizes were recorded (for both isolates) were: Siedlec/109, Młynary-1/40 and Krotoszyn–90. The average necrosis length measured on shoots from these families were 0,14, 0,14 and 0,18 cm respectively (Fig. 2–3).

3.3. Re-isolation of *P. cambivora* from infected shoots

From almost 90% of families, isolate 528.08 was re-isolated. In the case of those families, this isolate was recovered in 80-100% inoculated shoots (isolate was successfully detected in all inoculated shoots from 50% of families), and it was only from 8 families (Zalesie/203/222/206, Tronçais/295, Zaporowo/237/244, Milicz/59 i Runowo/257) that the share of successful re-isolations was 40–70%.

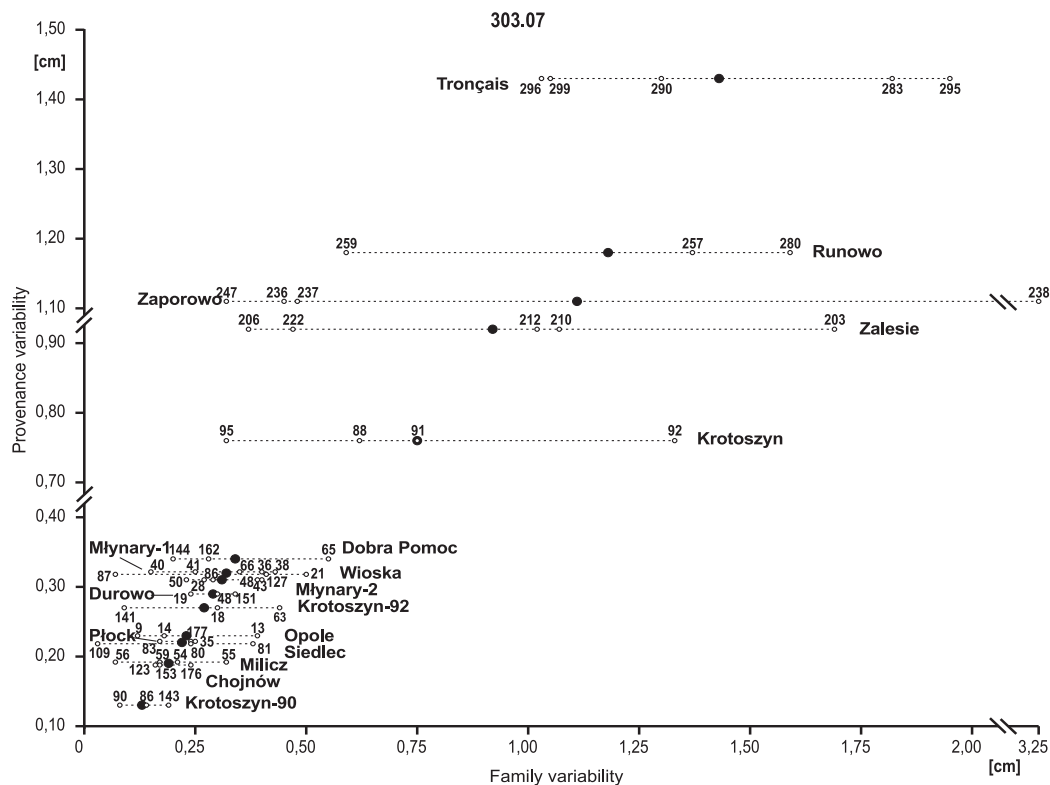


Figure 3. Variation among provenances and families of pedunculate oak with respect to mean length of necrosis caused by *P. cambivora* (isolate no 303.07); ● – average for provenance, ○ – average for family, 9–299 – numbers of families

The re-isolation of 303.07 *P. cambivora* isolate was much less effective. Only at 36% of families the isolate could be detected in all artificially infected shoots, and from 4 families (Milicz 59/56 i Opole 9/14) isolate was re-isolated from less than a half from inoculated shoots.

4. Discussion

This study showed a relevant differentiation of pedunculate oak's shoot colonisation speed by *P. cambivora*, both on origin and families level. Similar variation was observed in studies of different European populations of *C. sativa* artificially infected by *P. cambivora* organism (Miranda-Fontania et al. 2005; Robin et al. 2006). In the following studies, necrosis' character on oak shoots was similar to those on chestnut.

In many other studies conducted in Europe and North America a large susceptibility variability of different trees' population to different fungal pathogens was also reported. Eldridge and Dowden (1980) have documented the occurrence of large differences in colonisation of

various *Pinus ponderosa* Dougl. ex Lawson origins by *M. pini*, while Hansson (1998) observed variable susceptibility of different provenances of *Pinus sylvestris* L., *Pinus contorta* Dougl. ex Loud and *Picea abies* (L.) H. Karst. on artificial infection with *G. abietina*.

The results obtained in this study are consistent also with those of Banach (2002), who found a high variability of some breeding features (inter alia height and spring flushing of pedunculate oak tested on experimental area Chrostowa I). It seems, that polish pedunculate oak populations are strongly differentiated not only in reference to those features, but also because of susceptibility to pathogenic fungi. It can also be partly confirmed by Szczepkowski (2010), who in laboratory conditions showed the occurrence of differences between 7 polish oak populations in terms of oak's wood weight loss caused by three species of rot fungi.

This study indicates that the oaks most susceptible to infections by *P. cambivora* are the trees from Tronçais, Krotoszyn, Runów, Opole and Zalesie. To origins that are resistant can be the oaks from Chojnów, Siedlce,

Płock, Krotoszyn-90 and Wioska. Interestingly, it was observed, that some of the most susceptible populations belong to the fastest developing oaks (Runowo, Zalesie, Tronçais) (Banach 2002). Majority of oaks susceptible to *P. cambivora* colonisation came from polish western areas (Krotoszyn, Runowo, Opole). High susceptibility of oaks from Krotoszyn region can be correlated with their mass dying in this region in the 1980s (Przybył 1995). Perhaps too frequently dieback of oaks from Krotoszyn could have contributed to the mass occurrence of pathogens from *Phytophthora* genus, as happened in Germany (Jung et al. 2000). It seems however, that fungus-like organisms from *Phytophthora* genus can be only one of the elements in decreasing oaks vitality. According to Thomas and others (2002) the oaks decline is a complex disease, in which fundamental pathogenic role is played by abiotic factors such as drought in growing season and cold winters.

In this study a significant difference in shoots' colonisation rate by *P. cambivora* on family level was revealed. It seems that it plays even a bigger role than differentiating between provenances. In majority of populations single families more susceptible or resistant to colonisation by *P. cambivora* were detected. For example among 5 families belonging to origin Młynary-1, family 40 should be acknowledged as strongly resistant, while family 66 as strongly susceptible to colonisation by *P. cambivora*. Also provenances from Krotoszyn are characterised with similar variability, wherein here the majority of families showed higher susceptibility. Similarly high differentiation of other feature, for example spring leaf development, oaks' growth and their susceptibility to insect pest on family level, was reported also by other researchers (Banach 2002; Baliuckas, Pliura 2003; Bogdan et al. 2004; Barzdajn 2008; Banach, Lenowiecki 2011).

Results obtained in the following experiment have to be interpreted carefully. Inoculation method of "excised shoots", which is commonly used for resistance research of various trees' provenances with organisms from *Phytophthora* genus, also has some limitations. Firstly, results obtained from "excised shoots" inoculation, therefore declining shoots, do not always have to reflect the situation occurring on living shoots or trees' roots. Apart from that, experiment conducted on 2-year old shoots may not reflect fully the mechanisms of resistance of older trees. On the other hand, detailed research conducted on oak in France (Robin, Desprez-Loustau 1998) showed that inoculation results of cut fragment of shoots and roots of living seedling are tightly correlated. Similar conclusions emerge from the latest work of

Robin and others (2006) in which it was proved that the method of "excised shoots" is the most appropriate for examining chestnut to *P. cambivora* infection.

In the conducted experiment, isolate 528.08 generated much bigger necrosis on shoots than isolate 303.07. Those differences may be linked with various levels of aggressiveness characterising both isolates. It is due to high aggressiveness that isolate 528.08 could colonise oak shoots much faster than less aggressive isolate 303.07. In this study relatively large differences in colonisation of shoots and families of pedunculate oak between two isolates of *P. cambivora* were also noted. However it is difficult to explain the cause of these differences. It seems that the most significant role could have been played by chemical substances in oak shoots, which may have differentiated the development of *P. cambivora* in shoots' tissue. Perhaps some individuals (isolates) are better adapted to live in trees' tissues characterised by high content of chemical substances with fungistatic properties. The most important chemical substances which inhibit fungi and other organisms' development in plants' tissues are secondary metabolites such as phenols, carboxylic acids, flavonoids and tannins (Witzell, Martín 2008). Therefore the next research stage should be learning the content of some chemical compounds in oaks' tissue in reference to susceptibility to infections by various pathogenic organisms.

5. Conclusions

1) Within polish pedunculate oak provenances there was a high level of inter-population variability of shoots' susceptibility to *P. cambivora* colonisation. Provenances particularly susceptible were: Zaporowo, Runowo, Opole and Krotoszyn, whereas origins from Chojnów, Siedlec, Płock, Krotoszyn-90 and Wioska were relatively resistant.

2) It was proved, that within majority of analysed pedunculate oak populations exist families of different susceptibility to *P. cambivora* colonisation.

3) There were some differences in susceptibility of different provenances and families of pedunculate oak to colonisation by examined *P. cambivora* isolates. Therefore it seems that in research on pedunculate oak susceptibility with the use of "excised shoots" method should be used on more isolates of this organism.

4) The results of the conducted experiment indicate a possibility of selection in the future provenance or families of pedunculate oak characterised with high resistance to infection by *P. cambivora*.

Acknowledgments

The research studies were carried out in the framework of the project no. DS-3414/ KFL, financed by grant for education awarded by MNiSW; and project BLP-364, financed by the General Management of State Forest.

References

- Balci Y., Balci S., MacDonald W.L., Gottschalk K.W. 2008. Relative susceptibility of oaks to seven species of *Phytophthora* isolated from oak forest soils. *Forest Pathology*, 38: 394–409.
- Baliuckas V., Pliura A. 2003. Genetic variation and phenotypic plasticity of *Quercus robur* populations and open-pollinated families in Lithuania. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 18: 305–309.
- Banach J. 2002. Zmienność wewnątrzgatunkowa dębu szypułkowego testowanego na powierzchni doświadczalnej w Leśnictwie Chrostowa. *Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, ser. Sesja Naukowa*, 86: 131–147.
- Banach J. 2010. Adaptation of selected provenances of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) under conditions of the Carpathian submontane zone in Southern Poland. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, ser. Forestry and Wood Technology*, 73: 83–96.
- Banach J. 2011. Przeżywalność i wysokość dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) testowanego na powierzchni doświadczalnej “Chrostowa I” w Nadleśnictwie Brzesko. *Leśne Prace Badawcze*, 72 (1): 5–15.
- Banach J., Lenowiecki K. 2011. The occurrence of insect pests on pedunculate oak tested on the Chrostowa II experimental plot. *Journal of Forest Science*, 57 (9): 384–393.
- Barzdajn W. 2008. Porównanie odziedziczalności proveniencyjnej, rodowej i indywidualnej cech wzrostowych dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) w doświadczeniu rodowo-proveniencyjnym w Nadleśnictwie Milicz. *Sylvan*, 152 (5): 52–59.
- Barzdajn W. 2009. Wzrost dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) i dębu bezszypułkowego (*Q. petraea* [Matt.] Liebl.) w doświadczeniu proveniencyjnym z 1994 r. w Nadleśnictwie Milicz. *Leśne Prace Badawcze*, 70 (3): 241–252.
- Bođgan S., Katičić-Trupčević I., Kajba D. 2004. Genetic variation in growth traits in a *Quercus robur* L. open-pollinated progeny test of the Slavonian provenance. *Silvae Genetica*, 53: 5–6.
- Brasier C.M. 2000. The role of *Phytophthora* pathogens in forests and semi-natural communities in Europe and Africa, in: E.M Hansen & W. Sutton, eds, *Phytophthora diseases of forest trees*. Proceedings of the First International Meeting of IUFRO Working Party 7.02.09, Grants Pass, Oregon, 1999, Forest Research Laboratory, Oregon State University Press, USA, 6–13.
- Brasier C.M., Kirk S.A. 2001. Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder phytophthoras, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. *Plant Pathology*, 50: 218–229.
- Camy C., Delatour C., Marçais B. 2003. Relationships between soil factors, *Quercus robur* health, *Collybia fusipes* root infection and *Phytophthora* presence. *Annals of Forest Sciences*, 60: 419–426.
- Carnegie A. J., Johnson G., Henson M. 2004. Variation among provenances and families of blackbutt (*Eucalyptus pilularis*) in early growth and susceptibility to damage from leaf spot fungi. *Canadian Journal of Forest Research*, 34: 2314–2326.
- Cordier T., Belbahri L., Calmin G., Oszako T., Nowakowska J., Lefort F. 2009. Emerging *Phytophthora* and *Pythium* species in Polish declining forests, w: Established and Emerging *Phytophthora*: Increasing Threats to Woodland and Forest Ecosystems in Europe. First working groups meeting April 16-19, 2009, Nový Smokovec, Slovakia. Poster.
- Crawley M.J., Akhteruzzman M. 1988. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects. *Functional Ecology*, 2: 409–415.
- Eldridge R.H., Dowden H. 1980. Susceptibility of five provenances of Ponderosa pine to *Dothistroma* needle blight. *Plant Disease*, 64: 400–401.
- Hansson P. 1998. Susceptibility of different provenances of *Pinus sylvestris*, *Pinus contorta* and *Picea abies* to *Gremmeniella abietina*. *European Journal of Forest Pathology*, 28: 21–32.
- Hodge G.R., Dvorak W. S. 2007. Variation in pitch cancer resistance among provenances of *Pinus patula* and *Pinus tecunumaii* from Mexico and Central America. *New Forests*, 33: 193–206.
- Jensen J.S. 2000. Provenance variation in phenotypic traits in *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Danish provenance trials. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 15: 297–308.
- Jönsson U., Lundberg L., Sonesson K., Jung T. 2003. First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. *Forest Pathology*, 33: 175–179.
- Jung T., Blaschke H., Obwald W. 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. *Plant Pathology*, 49: 706–718.
- Jung T., Hudler G.W., Jensen-Tracy S.L., Griffiths H.M., Fleischmann F., Obwald W. 2005. Involvement of

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