Badania nad plamistością łodyg łubinu powodowaną przez *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak

Studies on the Patchiness of Lupine Stems Caused by
Phomopsis leptostromiformis (Kühn) Bubak

J. KOCHMAN

Spośród wielu chorób łubinu powodowanych przez grzyby pasożytnicze dotychczas w Polsce nie była znana choroba plamistości łodyg powodowana przez grzyb *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak.

Pierwszy zauważył i opisał tę chorobę J. Kühn w r. 1870 (M. Fischer 1893a i 1893b). Autor ten badając przyczynę tzw. lupinozy u owiec znalazł przypadkowo na łodygach łubinu grzyb, który opisał jako nowy gatunek pod nazwą *Cryptosporium leptostromiforme* w grupie grzybów niedoskonałych (*Fungi imperfecti*), w podgrupie warstwiaków (*Melanconiales*). Zaliczenie tego grzyba do rodzaju *Cryptosporium* podtrzymują również późniejsi autorowie (M. Fischer 1893a i b, Pape 1928, Viennot - Bourgin 1949, Ferraris 1927). Dokładniejsze badania Bubaka (Grove 1935) oraz nasze nad morfologią stromy, owocników oraz zarodników wykazały, że grzyb ten powinien być zaliczony do rodzaju *Phomopsis* z podgrupy kulnicowców (*Sphaeropsidales*). Dlatego też w dziele Grove'go o grzybach na pędach i liściach omawiany grzyb opisany jest pod nazwą *Phomopsis leptostromiformis* (Kühn) Bubak.

Badaniami morfologicznymi nad *Phomopsis leptostromiformis* zajmowali się dotychczas J. Kühn, M. Fischer (1893a i b) i Bubak (Grove 1935) oraz autor.

Jeśli chodzi o badania nad biologią tego pasożyta to częściowo zajmował się nim przed 65 laty M. Fischer, który między innymi doświadczeniami infekcyjnymi dowiódł pasożytniczej natury *Phomopsis leptostromiformis*.

Co się tyczy geograficznego rozmieszczenia omawianego grzyba, to wiadomości w tym względzie są nader szczupłe. Dane z literatury wskazują na to, że grzyb ten dotychczas znany jest tylko w Niemczech (M. Fischer 1893a i b), w Danii (Grove 1935), we Włoszech (Ferraris 1927) i we Francji (Viennot-Bourgin 1949). Że choroba łubinu

powodowana przez *Phomopsis leptostromiformis* jest mało znana świadczy o tym fakt, że w czasopiśmie *Review of Applied Mycology* nie ma zreferowanej ani jednej pracy traktującej o tej chorobie.

W Polsce choroba plamistości łodyg łubinu powodowana przez grzyb *Phomopsis leptostromiformis* została stwierdzona przeze mnie w r. 1952 w trzech miejscowościach: we wsi Smardzewice i Wąwał w pow. opoczyńskim, we wsi Sucha Żyrardowska koło Żyrardowa oraz w Puławach. We wsi Smardzewice i Wąwał choroba ta występowała i w następnych latach, tj. 1953 i 1954. Należy przypuszczać, że choroba ta w Polsce występuje we wszystkich rejonach uprawy łubinu z większym nasileniem w latach o sprzyjających warunkach a zwłaszcza w okresach niedostatku wody.

Nieudawanie się i przedwczesne zamieranie łubinów uprawianych zarówno na nasiona, jak i na nawóz zielony, przypisywane różnym czynnikom chorobotwórczym, w wielu przypadkach wynika właśnie z porażenia przez *Phomopsis leptostromiformis*. Odnosi się to przede wszystkim do okolic o glebach lekkich, piaszczystych, gdzie łubin uprawia się często i bez przestrzegania prawidłowego płodozmianu (Fischer 1893b). Jako patogen *Phomopsis leptostromiformis* występuje tylko na łubinie żółtym *Lupinus luteus* (M. Fischer 1893b, Viennot-Bourgin 1949 i autor) oraz na łubinie wąskolistnym *Lupinus angustifolius* v. *leucospermus* (M. Fischer 1893b). Poza tym jako saprofit grzyb ten znany jest na *Lupinus arboreus* i *L. polyphyllus* (Grove 1935), na *Lupinus hirsutus* (Viennot-Bourgin 1949), na *Lupinus angustifolius* (M. Fischer 1893b i autor) oraz na *Lupinus albus* (autor).

Zewnętrzne objawy porażenia

Pierwsze objawy chorobowe występują na dolnych częściach łodyg jako bardzo małe, około 0,5 mm średnicy, białawe plamki, które stosunkowo szybko powiększają się i cokolwiek zagłębiają. Po 2 lub 3 dniach plamki osiągają wielkość 3—4 mm, ciemnieją i coraz bardziej zagłębiają się. Stopień zagłębiania się plamek zależny jest od wieku rośliny. Na łodygach młodych roślin, gdzie warstwa delikatnego miękiszu korowego jest grubsza, zagłębianie się plam jest znaczne, natomiast w miarę wzrostu i dojrzewania tkanek łodygi plamy stają się coraz bardziej powierzchniowe. Przy dalszym rozwoju choroby plamy na łodygach coraz bardziej powiększają się i ciemnieją przybierając żółtobrunatne zabarwienie. Wydłużające się plamy często osiągają więcej niż połowę wysokości łodygi obejmując jednocześnie większą część jej obwodu. Poza tym plamy te wyraźnie odcinają się od zdrowej części zielonego pędu. Po kilku dniach rozwoju choroby w środkowej części plam powstają szare

Ryc. 1. Plamy na łodygach łubinu żółtego spowodowane przez *Phomopsis leptostromiformis* z widocznymi stromatycznymi utworami grzyba

lub ciemnobrunatne do prawie czarnych, najczęściej owalnego kształtu płaskie lub krostowate wzniesienia od 0,3 do 2mm, przeciętnie 1mm długie i od 0,2—1 mm szerokie (ryc. 1). Wzniesienia te w miarę powiększania się plam stają się coraz liczniejsze, a starsze spośród nich ciemnieją przybierając prawie czarne zabarwienie. Są to stromatyczne utwory grzyba, wewnątrz których wytwarzają się piknidia z zarodnikami. Dość często, zwłaszcza przy silnym i szybkim rozwoju grzyba w tkankach żywiciela, w środku plamy powstaje jedno większe wzniesienie stromatyczne o długości do 2 cm a szerokości 5 mm, dokoła którego rozwijają się wzniesienia normalnej wielkości.

W zależności od wieku żywiciela, od wielkości plam i stopnia przeniknięcia czynnika chorobotwórczego do tkanek, a zwłaszcza do elementów przewodzących, następuje szybsze lub powolniejsze wędnięcie, następnie zamieranie i zasychanie roślin. Najszybciej zamierają rośliny młode porażone jeszcze przed kwitnieniem. Natomiast rośliny starsze zarażone później, szczególnie po okresie kwitnienia nie reagują tak szybko i mocno na przenikanie patogena i mogą wydać nasiona, choć niewątpliwie plon ich jest wtedy niższy. Stopień porażenia w zależności od warunków środowiska może być bardzo różny. W obserwowanych przeze mnie obiektach, a zwłaszcza na polach wsi Smardzewice nad Pilicą oraz Wąwału, notowałem 100% porażenia. W niektórych przypadkach porażenie było tak silne, że spowodowało całkowite zamieranie 100% roślin łąbinu jeszcze przed jego zakwitnięciem.

W e w n ę t r z n e o b j a w y p o r a ż e n i a

Na skrawkach mikroskopowych zarówno poprzecznych, jak i podłużnych widać, że grzybnia *Phomopsis leptostromiformis* rozprzestrzenia się we wszystkich tkankach łodygi, z największym jednak nasileniem w miększu korowym. Najpierw pod wpływem przenikającej grzybni pasożyta następuje zamieranie skórki i warstw komórek podskórkowych oraz miększu korowego. Zarażone komórki tracą turgor, później ciemnieją, błony ich zaś wiotczeją, marszczą się i brunatnieją. W ten sposób zarażone komórki miększu korowego ulegają spłaszczeniu, co pociąga za sobą wyżej wspomniane zagłębianie się plam. Po opanowaniu miększu korowego w dalszym ciągu następuje przenikanie grzybni pasożyta do włókien sklerenchymatycznych, floemu i miazgi, a następnie do drewna i rdzenia. Przy silnym rozwoju grzyba, szczególnie w okresie zamierania roślin, obserwuje się bardzo obfite przerośnięcia grzybnią rdzenia przywiązkowego i delikatny jej nalot na wewnętrznej jego powierzchni. Jednocześnie z rozwojem grzyba w tkankach, głównie zaś w czasie opanowywania przez niego miększu korowego, grzybnia w pewnych miejscach

tuż pod skórą lub nieco głębiej skupia się i mocno zbija dając początek formowania się stromatycznych wzniesień. Wzniesienia te tworzą się najczęściej w miększu korowym pod przykryciem skórki lub skórki i warstwy komórek podskórkowych. Niekiedy obserwuje się, że stromatyczne utwory obejmują i głębiej leżące tkanki, tj. włókna sklerenchymatyczne, rurki sitowe, miazgę, a nawet zewnętrzne partie elementów drewna, często bowiem w stromatycznych utworach widoczna jest dobrze zachowana struktura włókien sklerenchymatycznych szczelnie wypełnionych grubościennymi elementami stromy.

M o r f o l o g i a g r z y b a

Z dotychczas przeprowadzonych badań morfologicznych nad *Phomopsis leptostromiformis* najbardziej wyczerpujące są badania Fischera (1893a i b). Autor ten w swych badaniach uwzględnił wszystkie elementy morfologiczne tego grzyba, a więc grzybnie, stromę oraz piknidia wraz

Ryc. 2. Przekrój poprzeczny przez łodygę łubinu porażonego przez *Phomopsis leptostromiformis*. Widoczna stroma z wytworzonym w niej piknidium, pow. ok. 100×

z zarodnikami, a przede wszystkim, co należy podkreślić, zwrócił uwagę na pewne różnice morfologiczne między formą grzyba występującą na żywych roślinach a formą, która powstaje na łodygach w czasie zimowania i na wiosnę. Pierwszą z nich nazywa „letnią pasożytniczą generacją“, drugą zaś „saprofityczną wczesno-wiosenną generacją“.

Phomopsis leptostromiformis w fazie pasożytniczej tworzy na chorych łodygach szare lub ciemnobrunatne do prawie czarnych, owalne lub nieco wydłużone stromatyczne utwory o wymiarach: długość 0,3—2 mm, szerokość 0,2—1 mm, grubość 0,1—3 mm. Szare zabarwienie stro-

matycznych utworów przynajmniej w pierwszym okresie ich powstawania spowodowane jest przykryciem ich skórą lub ewentualnie jeszcze kilku warstwami komórek podskórkowych. Ciemnobrunatne lub prawie czarne zabarwienie stromatyczne utwory przybierają po złuszczeniu się przykrywających tkanek. Stromatyczne utwory wewnątrz są białe

Ryc. 3. Stromatyczne utwory *Phomopsis leptostromiformis* na łodygach łubinu po przezimowaniu (generacja wiosenna)

i zbudowane z grubościennych nabrzmień grzybni. Nabrzmienia te posiadają bardzo grube błony przy małym świetle. Wielkość ich najczęściej wynosi 6—7 μ , choć niekiedy szczególnie w dolnej części stromy mogą osiągać 15 μ . Na zewnątrz stromatyczne utwory pokryte są czarną sklerocjalną plektenchymą, podobnie jak pokryte są sklerocja niektórych innych gatunków grzybów. *Phomopsis leptostromiformis* w fazie pasożytniczej szybko wytwarza w stromatycznych utworach piknidia z zarodnikami. Piknidia początkowo są zupełnie płaskie (niskie) i na przekroju mają wygląd wąskiej szpary. W miarę rozwoju grzyba piknidia stają się

coraz wyższe przez to, że zużywają stopniowo całą niżej leżącą zawartość stromatyczną. Są to jednak prawie zawsze utwory spłaszczone, a wymiary ich zależą od wielkości utworów stromatycznych (ryc. 2). Letnie stromatyczne utwory po wytworzeniu piknidiów i zarodników w czasie zimowania łodyg nie rozwijają się dalej, lecz stopniowo wykruszą się.

Obserwacje F i s c h e r a (1893b) i moje, przeprowadzone na bardzo dużym materiale, wskazują, że grzybnia w obumarłych łodygach łubinu dalej się rozwija i wytwarza przez okres zimowy i wczesnowiosenny coraz to nowe stromatyczne utwory, w których powstają piknidia. Łodygi wykazujące w jesieni małą ilość utworów stromatycznych, na wiosnę pokryte są nimi bardzo obficie (ryc. 3).

W saprofitycznej tj. wiosennej fazie rozwoju *Phomopsis leptostromiformis* wytwarzające się na przezimowanych łodygach utwory stromatyczne przeciętnie biorąc są ciemniejsze, większe i bardziej uwypuklone od utworów fazy pasożytniczej (ryc. 3). Wymiary ich są następujące: długość 3—4 mm, szerokość 0,3—1,5 mm, wysokość zaś do 0,6 mm.

Wymiary stromatycznych utworów w mm

Faza pasożytnicza			Faza saprofityczna		
długość	szerokość	wysokość	długość	szerokość	wysokość
0,3—2	0,2—1	0,1—0,3	0,3—4	0,3—1,5	do 0,6

Po dość długim okresie formowania się stromy (czasem kilka tygodni) w górnej jej części powstaje piknidium, które początkowo jest bardzo

Ryc. 4. Przekrój podłużny przez stromę z piknidiami ułożonymi na dwóch poziomach (faza saprofityczna), pow. ok. 100 ×

niskie, ale stopniowo powiększa się zajmując coraz to głębsze części stromy. W większości przypadków są to utwory raczej płaskie i zajmują prawie zawsze tylko górną, tj. zewnętrzną część stromy. W fazie saprofitycznej zdarza się, że w stromie tworzą się piknidia na dwóch poziomach (ryc. 4). Wielkość piknidiów oczywiście zależna jest od rozmiarów stromy. Największe, jakie obserwowano, piknidia miały wymiary: długość 1700 μ ,

Ryc. 5. Przekrój podłużny przez stromę z piknidium i ujściem *Phomopsis leptostromiformis* (faza saprofityczna), pow. ok. 100 $\times$

szerokość 1000 μ przy wysokości nie przekraczającej 100 μ . Po uformowaniu się piknidiów i nagromadzeniu się większej ilości zarodników zaczynają wytwarzać się na górnej ściance piknidiów ujścia, których ilość zależna jest od wielkości piknidiów. Zwykle piknidia małe mają tylko jedno ujście, piknidia większe (dłuższe) zaś mogą ich mieć kilka, nawet do dziesięciu. Szczególnie dużą ilość ujść na jednym piknidium obserwowano na materiale zebranym na wiosnę i umieszczonym na okres 2 tygodni w wilgotnej kamerze. Łatwo wówczas można było zauważyć, że na małych stromach wytwarzały się 1 lub 2 ujścia, natomiast na stromach dużych (wydłużonych) powstawało ich więcej, kilka, do 10, ułożonych rzędem. Szerokość tych ujść oraz ich wysokość zależne są od wymiarów utworów stromatycznych, jak również od wielkości piknidiów. W lecie w fazie pasożytniczej ujścia piknidiów są zwykle dość niskie (do 30 μ), słabo wzniesione ponad powierzchnię stromy i niezbyt szerokie (od 20—30 μ). Natomiast na wiosnę, w fazie saprofitycznej, ujścia są dość znacznie wzniesione i mają kształt u góry rozszerzonego jakby krateru. Ujścia takie mogą osiągać do 100 μ wysokości i do 60 μ szerokości

(ryc. 5 i 6). Ścianki piknidiów o grubości do $30\ \mu$ są ciemnobrunatne i mają budowę sklerocjalną. Warstwa trzonek konidialnych jest nie zabarwiona, osiąga grubość do $40\ \mu$ i wytwarza się dokoła ścianki piknidium zachodząc czasem aż do ujścia. Trzonki konidialne nitkowate, proste, ostro zakończone i zwarcie obok siebie ułożone tworzą warstwę palisadową. Grubość trzonek wynosi $1\text{--}1,5\ \mu$, a długość $20\text{--}30\ \mu$. Zwykle w większych piknidiach trzonki konidialne są cokolwiek dłuższe.

Ryc. 6. Przekrój podłużny przez stromę z piknidiem i ujściami *Phomopsis leptostromiformis* (faza saprofityczna), pow. ok. $100\times$

Zarodniki *Phomopsis leptostromiformis* są jednokomórkowe, nie zabarwione, wydłużone, prawie równowąskie i na obu końcach krótko i nie bardzo ostro zakończone. Zawierają one, co jest między innymi charakterystyczne dla rodzaju *Phomopsis*, na obydwu biegunach błyszczące kropelki tłuszczowe. Wymiary zarodników: długość $5\text{--}12\ \mu$ najczęstsza $8\ \mu$ a szerokość od $1,5\text{--}2,5\ \mu$.

Zmienność długości zarodników *Phomopsis leptostromiformis*

μ	5	6	7	8	9	10	11	12	$M\pm\sigma$
liczba zarodników	5	26	52	122	65	22	6	2	$8\pm 1,36$

Zarodniki *Phomopsis leptostromiformis* wytwarzają się w ogromnych ilościach i gdy nagromadzi się ich odpowiednio dużo, wydostają się na zewnątrz piknidium w postaci mniejszej lub większej, zależnie od wielkości piknidium, kropli najczęściej barwy jasnokremowej. Zarodniki

w kropli są wzajemnie dość mocno posklejane jakąś specjalną śluzową substancją, gdyż po przeniesieniu do wody dopiero po kilkunastu godzinach stopniowo zaczynają się rozpływać i oddzielać. W warunkach większej wilgotności powietrza krople te miękną i stają się prawie płynne, natomiast w suchej atmosferze skupienia zarodników są bardziej zwarte, a niekiedy tworzą wydłużone nitkowate utwory.

Strzępki grzybni *Phomopsis leptostromiformis* rozwijające się w tkankach żywiciela są nie zabarwione, podzielone, a grubość ich waha się w granicach 1—3 μ . Mimo licznych poszukiwań zarówno M. Fischer a sprzed 65 lat, jak i ostatnio moich nie udało się stwierdzić stadium workowego dla *Phomopsis leptostromiformis* na terenie europejskim. Niewątpliwie stadium to istnieje i jest nim najprawdopodobniej jeden z gatunków rodzaju *Tetrastagon* z rodziny *Valsaceae*. Rodzaj *Tetrastagon* dotychczas uważany był za podrodzaj rodzaju *Diaporthe*. Ostatnio na podstawie dawniejszych badań N i t s c h e' g o z rodzaju tego utworzono dwa samodzielne rodzaje: *Tetrastagon* i *Euporthe*. Jednocześnie okazało się, że rodzaj *Tetrastagon* ma stadium konidialne właśnie typu *Phomopsis*. Należy więc przypuszczać z dużym prawdopodobieństwem, że opisany w Kalifornii na łubinie (*Lupinus arboreus*) workowiec — *Diaporthe* (*Tetrastagon*) *lupini* H a r k. jest stadium doskonałym *Phomopsis leptostromiformis* (G r o v e 1935). Opis według literatury (S a c c a r d o i T r a v e r s o 1906): Stroma rzekoma obszerna, oddzielona od reszty tkanek żywiciela czarną linią. Otocznie skupione, o grubych i krótkich ujściach. Worki wydłużone, o wymiarach 55×6–9 μ . Zarodniki workowe wydłużone, przedzielone jedną przegródką, z czterema kroplami tłuszczowymi.

Kiełkowanie zarodników

M. F i s c h e r (1893b) w badaniach nad *Phomopsis leptostromiformis* uwzględnił również kiełkowanie zarodników tego grzyba. Autor ten nie podaje, w jakich warunkach i na jakim podłożu obserwował kiełkowanie zarodników. Zaznacza tylko, że zarodniki przed kiełkowaniem powiększają się stosunkowo więcej w swej grubości niż długości i że strzępki rastkowe po 48 godzinach osiągają długość zaledwie kilka razy większą niż długość samych zarodników. Dane te jednak nie zgadzają się z moimi obserwacjami nad kiełkowaniem zarodników, jak to wynika z załączonej tabeli.

Zarodniki *Phomopsis leptostromiformis* bardzo słabo kiełkują w kropli wody umieszczonej bezpośrednio na szkiełku. Doskonale natomiast kiełkują, jeżeli kroplę wody z zarodnikami umieści się na cienkiej warstewce pożywki agarowo-brzeczkowej. Cienka warstewka pożywki na szkiełku

przedmiotowym pozwala na obserwowanie kiełkowania zarodników nawet przy 40-krotnym obiektywie.

Kiełkowanie zarodników *Phomopsis leptostromiformis* w zależności od temperatury i czasu

Czas Temp.	po 12 godz.	po 24 godz.	po 36 godz.	po 48 godz.	po 60 godz.	Uwagi
40°C	B r a k k i e ł k o w a n i a					Przeniesione do temp. 20°C kiełkują i po 48 godz. strzępki do 150 μ .
35°C	Początek kiełkowania silne nabrzmienia	Strzępki do 7,5 μ grube, do 25 μ długie	Strzępki do 6 μ grube i do 250 długie	—	—	—
25°C	Początek kiełkowania, silne nabrzmienia lub małe strzępki	Strzępki 75—100 μ długie	Strzępki do 1,5 mm długie, tworzą białe skupienia	—	—	—
20°C	—	Początek kiełkowania, strzępki do 12 μ długie	Strzępki do 150 μ długie	Strzępki 300—400 μ długie	Strzępki b. długie	—
10—12°C	—	—	Nabrzmienia zarodników na jednym końcu	Strzępki do 6 μ długie	Strzępki wydłużyły się nieznacznie, do 10 μ .	—
5°C	B r a k k i e ł k o w a n i a					Początek b. słabego kiełkowania dopiero po 4 dobach

Zarodniki przed rozpoczęciem się właściwego procesu kiełkowania znacznie nabrzmiewają na jednym końcu, przez co przybierają kształt klinowaty. Nabrzmiały koniec zarodnika wydłuża się w strzępkę rostkową. Sposób kiełkowania jest dość różny (ryc. 7). Często powstająca strzępka rostkowa ustawia się pod kątem prostym w stosunku do zarodnika. Niekiedy powstają dwie takie strzępki prostopadle wyrastające z zarodnika,

przy czym jedna z nich zwykle jest krótsza. Często również strzępka rostkowa jest po prostu przedłużeniem zarodnika i zwiijając się razem z zarodnikiem tworzy utwór z kształtu podobny do rogalika. Powstające strzępki rostkowe są zawsze znacznie grubsze od zarodnika, zwłaszcza ich

Ryc. 7. Kielkowanie zarodników *Phomopsis leptostromiformis*

część wzrostowa (wierzchołkowa). Szczególnie duże zgrubienie końca strzępek rostkowych występuje przy kiełkowaniu zarodników w podwyższonej (około 35°C) temperaturze i osiąga wtedy grubość 7,5 μ . Optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników okazała się, jak to wynika z załączonej tabeli, temperatura 25°C. Przy tej temperaturze rozpoczyna się najwcześniej, tj. po 12 godzinach proces kiełkowania i wzrost strzępek grzybni jest najszybszy. Zupełne zahamowanie kiełkowania zarodników powoduje temperatura zbliżona do 40°C oraz temperatura około 5°C. Zarodniki *Phomopsis leptostromiformis* wykazują dość znaczną wytrzymałość na niskie temperatury, bo po przetrzymaniu ich przez dwie doby w lodzie, w temperaturze -16°C i następnie umieszczeniu w temperaturze pokojowej kiełkowały intensywnie.

R o z w ó j g r z y b a n a p o ż y w k a c h

Phomopsis leptostromiformis bardzo łatwo daje się wyosobnić z chorych roślin. Wystarczy przenieść na pożywkę kawałek chorej tkanki, fragment stromy lub trochę zarodników, ażeby otrzymać wkrótce, po ponowym przeszczepieniu, zupełnie czystą kulturę grzyba.

TABLICA I

- Fot. 1. 10-dniowa kultura *Phomopsis leptostromiformis* na pożywce agarowo-brzecz-
kowej 3/4 nat. wielk.
- Fot. 2. 4-tygodniowa kultura *Ph. leptostromiformis*
- Fot. 3. 4-tygodniowa kultura *Ph. leptostromiformis*
- Fot. 5. 18-dniowa kultura *Ph. leptostromiformis* na pożywce agarowo-brzeczkowej
- Fot. 6. 18-dniowa kultura *Ph. leptostromiformis* na pożywce agarowo-brzeczkowej
z dodatkiem wyciągu z nasion łubinu

Grzyb ten hodowano na następujących pożywkach: agarowo-brzeczkowej (30% brzeczki 8^o Blg.), agarowo-brzeczkowej z wyciągiem (15%) z nasion łubinu gorzkiego, agarowo-brzeczkowej z wyciągiem z nasion łubinu słodkiego (wyciąg otrzymano gotując 15 g zmielonych nasion łubinu przez 1/2 godz.) oraz agarowo-mineralnej (4% glukozy, 0,3 % K_2HPO_4 , 0,25% $MgSO_4$, 0,5% NH_4NO_3).

Bardzo dobre okazały się trzy pierwsze pożywki, na których wzrost grzyba był tak szybki, że po 6 dniach od daty zaszczerpienia obejmował całą powierzchnię płytki Petriego o średnicy 10 cm. Natomiast na pożywce agarowo-mineralnej wzrost grzyba był bardzo słaby, tak że po dwóch

Ryc. 8. Wzrost *Phomopsis leptostromiformis* na pożywce agarowo-brzeczkowej w temp. 35°, 25°, 20°, 14° i 9°C

tygodniach zajmował zaledwie 1/3 część powierzchni płytki. Poza tym strzępki grzybni rozwijającej się na tej pożywce bardzo szybko przekształcały się w paciorkowato ułożone zgrubienia-chlamidospory o dość grubej błonie i ziarnistej zawartości. Większość obserwacji i doświadczeń z *Phomopsis leptostromiformis* przeprowadzono na pożywce agarowo-brzeczkowej. Przede wszystkim zbadano wpływ różnych temperatur na

wzrost grzyba. Z załączonego wykresu wynika, że najlepszą temperaturą dla wzrostu *Phomopsis leptostromiformis* jest temp. 25°C. W tej temperaturze wzrost kultur okazał się najlepszy nie tylko co do rozmiarów zajmowanej powierzchni, lecz również co do ilości wytworzonej grzybni. Z temperatur wyższych od 25°C stosowano temp. 35°C, przy której wzrost grzyba był już znacznie słabszy. Zaznaczało się wyraźne powstrzymanie wzrostu przy jednoczesnym obfitym tworzeniu się chlamidosporowych zgrubień, nawet na najmłodszych strzępkach. Z temperatur niższych od optymalnej zastosowano temp. 20°C, przy której wzrost grzyba był powolniejszy, następnie temp. 14°C, w której wzrost grzyba był jeszcze słabszy i wreszcie temp. 9°C, przy której tempo wzrostu było bardzo słabe, przy czym grzybnia prawie całkowicie była pogrążona w substracie pożywki i tworzyła liczne chlamidosporowe zgrubienia. Powyższe badania wskazują, że *Phomopsis leptostromiformis* jest organizmem wymagającym do swego wzrostu i rozwoju stosunkowo wysokiej temperatury, co zgadza się z wynikami spostrzeżeń poczynionych w warunkach naturalnych. *Phomopsis leptostromiformis* na pożywce agarowo-brzeczkowej w okresie pierwszych kilku dni wzrostu tworzy na powierzchni pożywki biały, mniej lub więcej puszysty nalot, który może być bądź jednolity, bądź też układać się we współśrodkowe kręgi (tabl. I, fot. 1). Po kilku dniach od chwili zaszczepienia w nalocie tym zaczynają wyróżniać się białe, płaskie, różnej wielkości wzniesienia. W miarę dalszego wzrostu i rozwoju grzyba wzniesienia stają się grubsze i stopniowo ciemnieją przybierając ciemnoszare do prawie czarnego zabarwienie (tabl. I, fot. 2, 3, 4). Jeżeli chodzi o ich rozmieszczenie to są one bądź rozsiane na całej powierzchni kultury (tabl. I, fot. 5), bądź układają się we współśrodkowe kręgi (tabl. I, fot. 2, 3, 4). Zarys wzniesień jest nader rozmaity, okrągły, eliptyczny, meandryczny, robakowato wygięty lub wreszcie mniej lub bardziej nieregularny. Wielkość ich mieści się w granicach od 1—5 mm.

Wzniesienia te są to utwory stromatyczne. Powstają one w ten sposób, że w pewnych miejscach kultury grzyba zarówno na przebiegu strzępek grzybni, jak i na końcach ich odgałęzień tworzą się początkowo drobne i nieliczne zgrubienia strzępek, które w miarę dalszego rozwoju stromy stają się coraz liczniejsze i większe osiągając średnicę 13 μ . Zgrubienia te odznaczają się bardzo grubą błoną i małym światłem, a kształt ich jest kulisty, gruszkowaty, jajowaty lub dość wydłużony. Wkrótce strzępki grzybni całkowicie przekształcają się w mocno zbite skupienia zgrubień. Dostatecznie wykształcone utwory stromatyczne otaczają się dookoła cienką, prawie czarną warstwą mocno zbitej sklerocjonalnej pлектenchymy. Przekroje przez stromatyczne utwory wykazują, że część ich wytwarzająca się z grzybni w substracie pożywki jest szarawa i dość znacznie wyróżnia się od części białej powstającej na powierzchni kultury. Często zdarza się,

że górna część stromy oddzielona jest od jej dolnej części znajdującej się w substracie pożywki ciemną, prawie czarną sklerocjalną warstewką pokrywającą prawie całą powierzchnię kultury grzyba.

Mniej więcej po 2 tygodniach, a czasem już po 8-10 dniach, od początku powstania stromatycznych utworów zaczynają tworzyć się w nich piknidia z zarodnikami. Piknidia te tworzą się najczęściej jako bardzo spłaszczone utwory w górnych częściach stromy.

Niekiedy piknidia te są kuliste lub nieregularne i powstają jednocześnie w kilku punktach stromy i na różnej głębokości. W dość licznych przypadkach na stromie wytwarzają się nowe osobne wzniesienia zawierające piknidia z zarodnikami. Piknidia te w zależności od ich wielkości opatrzone są jednym lub kilkoma ujściami, przez które wydostają się wytwarzane w ogromnej ilości zarodniki, pod postacią żółtawych, śluzowatych skupień niekiedy dość dużych, bo osiągających średnicę 1,5 mm. W pewnych okolicznościach skupienia zarodników wydostają się pod postacią dość długich (około 1 cm) nici. Zarodniki, jak i wytwarzające je trzonki konidialne pod względem morfologicznym nie różnią się od powstających w naturze.

P a t o g e n i c z n o ś ć g r z y b a

Jak już wyżej zaznaczono literatura na temat *Phomopsis leptostromiformis* jest bardzo uboga. Cenna i jedyna praca M. F i s c h e r a (1893 b), w której stwierdzony został pasożytniczy charakter tego grzyba, jest mało znana i dlatego np. V i e n n o t - B o u r g i n (1949) w swym bardzo dobrym podręczniku pisze, że rola pasożytnicza *Phomopsis leptostromiformis* jest mało znana. Obserwacje polowe M. F i s c h e r a oraz jego doświadczenia infekcyjne na siewkach łubinu wykazały, że *Phomopsis leptostromiformis* może infekować łubin we wszystkich stadiach jego rozwoju i powodować szybkie zamieranie zarażonych roślin. Również Appel (P a p e 1928) w latach 1910—1912 otrzymywał zawsze porażenie roślin, jeżeli tylko w polu z łubinem rozścielał zeszłoroczne porażone łodygi łubinu.

Obserwacje przeprowadzone w Polsce w r. 1952, zwłaszcza w Smardzewicach nad Pilicą i we wsi Wąwał w pow. opoczyńskim, dowodzą również, że grzyb wykazuje, szczególnie w pewnych warunkach, bardzo dużą aktywność pasożytniczą. Stwierdzono znaczne porażenie łubinu w różnych okresach jego rozwoju. Największe jednak nasilenie porażenia i najbardziej dotkliwe straty zaznaczyły się na łubinach w okresie tuż przed kwitnieniem. Niektóre plantacje łubinu porażone zostały w 100%, zamierając jeszcze przed zakwitnięciem.

DOŚWIADCZENIA INFEKCYJNE

Doświadczenie I

Liczne obserwacje przeprowadzone w r. 1952 w warunkach naturalnych wskazywały, że choroba plamistości łodyg powodowana przez *Phomopsis leptostromiformis* w największym nasileniu występuje na glebach piaszczystych wykazujących niedostatek wody, a przede wszystkim na polach leżących na nieznacznym wzniesieniu. Zjawisko większego nasilenia porażenia przy niedostatku wody prawdopodobnie należy tłumaczyć zmniejszeniem się turgoru w roślinie, co pociąga za sobą zwiększenie podatności na zarażenie.

Celem przekonania się, czy przypuszczenia wynikające z wyżej opisanych obserwacji są słuszne, założono dnia 9 maja 1955 r. infekcyjne doświadczenie wazonowe w pięciu powtórzeniach oraz w 3 kombinacjach*. Zastosowano mianowicie kombinacje o różnej wilgotności gleby, którą utrzymywano na poziomie równym 30, 50 i 75% pojemności wodnej. Do doświadczeń użyto jako gleby piasku pylastego, o pH 6,2, o pojemności wodnej 25,7%, z następującymi dawkami nawozowymi o zawartości 13 kg ziemi na każdy wazon: 0,4 g K_2O w postaci siarczanu potasu 50%, 0,05 g N w postaci azotanu amonu i 0,4 g PO_4 w postaci superfosfatu (19,15% P_2O_5), tj. 2,09 g superfosfatu.

Na tydzień przed założeniem doświadczenia zmieszano 150 g suchych zeszlorzonych porażonych łodyg łubinu z 7,5 kg ziemi (piasku pylastego) zwilżając ją dość obficie wodą w celu pobudzenia grzyba do rozwoju. Mieszanie tę w ilości 0,5 kg dodano jako wierzchnią warstwę do każdego wazonu. Zasiano nasiona słodkiego łubinu żółtego.

Do czasu kiełkowania nasion doprowadzono wilgotność w poszczególnych kombinacjach do pożądanego poziomu.

Młode roślinki łubinu we wszystkich wazonach normalnie wyglądały tylko przez kilka dni. Dnia 25.V, tj. po 16 dniach od czasu założenia doświadczenia, zauważono pierwsze symptomy choroby we wszystkich wazonach o 30% wilgotności gleby. W następnych dniach od 26 do 31.V wystąpiły objawy chorobowe w wazonach o wilgotności gleby 50% i 75%.

Pierwsze objawy chorobowe pojawiają się na podliścieniowych częściach łodyżek jako b. małe, około 0,5 mm średnicy, białe plamki, które szybko powiększają się, stają się nieco ciemniejsze oraz zagłębiają się, a już po 3 dniach obejmują podliścieniową część łodyżki dokoła, powodując jej znaczne przewężenie (ryc. 9 i 10).

* Panu prof. dr. Fr. Majewskiemu na tym miejscu dziękuję za umożliwienie założenia tego doświadczenia.

Przekroje przez w ten sposób porażone łodyżki wykazują, że pod wpływem grzybni zostaje zniszczony, ulegając całkowitej nekrozie, miękisz korowy. Ponieważ miękisz korowy u młodych roślin jest bardzo gruby, dlatego jego nekroza i zniszczenie powoduje tak wyraźnie widoczne przeżenia.

Prawie jednocześnie z szybkim powiększaniem się plam wytwarzają się na powierzchni porażonych tkanek małe, 0,5—1 mm średnicy stromatyczne utwory, a w nich piknidia z konidiami. Taki obraz chorobowy wy-

Fot. A. Nespiak

Ryc. 9. Kolejne stadia rozwoju choroby na siewkach łubinu żółtego (21 dni po wysiewie nasion)

stał początkowo we wszystkich wazonach wszystkich trzech kombinacji. Szybko jednak nastąpiło zróżnicowanie w wyglądzie roślin w trzech różnych kombinacjach (ryc. 11). Podczas gdy w kombinacji o 30% wilgotności gleby po 14 dniach od daty zauważenia pierwszych objawów chorobowych zginęły wszystkie, tj. 111 roślin, to w kombinacjach o wyższej, tj. 50% i 75% wilgotności gleby przebieg choroby był następujący: w kombinacji o 50% wilgotności gleby w tym samym czasie na 97 roślin zachoro-

wało 69, a ostatecznie zginęło 12, tj. 15,5%, zaś w kombinacji o 75% wilgotności gleby na 113 roślin zachorowało 67, a zamarło całkowicie 7, tj. 6%.

Omówienie wyników doświadczenia I. Widać tu dość wyraźny wpływ stopnia wilgotności gleby na przebieg choroby. Przy małej wilgotności gleby, a przez to zwiększonej podatności roślin, grzyb

Fot. A. Nespiak

Ryc. 10. Siewka łubinu żółtego porażona przez *Phomopsis leptostromiformis*. Na przewężeniu widoczne stromatyczne utwory (21 dni po wysiewie nasion)

szybko opanowuje miękisz korowy i przenika do elementów przewodzących powodując przez to szybkie wędnięcie, zamieranie i zasychanie roślin. Natomiast przy wyższej wilgotności gleby, chociaż następuje zarażenie i objawy nawet dość znacznego przewężenia podliścieniowej części ło-

dygi, to jednak żywotność roślin jest tak duża, że opierają się one przenikaniu grzyba głębiej poza miękisz korowy. Występuje wówczas kilkudniowy okres zahamowania wzrostu porażonych roślin, które jednak przewyciężają chorobę i stopniowo zaczynają regenerować zniszczony przez grzyb miękisz korowy. Po 2 lub 3 tygodniach widać pod zniszczoną i zbrunatniałą warstwą tkanek odradzający się miękisz korowy. W okresie kwit-

Fot. S. Alwin

Ryc. 11. Porażenie łąbinu żółtego przez *Phomopsis leptostromiformis* w zależności od wilgotności gleby (od lewej do prawej: 75%, 50% i 30% wilgotności)

nienia następuje wyrównanie chorej dolnej części łodygi, na której widoczne są już tylko resztki obumarłych tkanek. W końcu rośliny takie wracają do normalnego stanu, kwitną i wydają nasiona.

Tylko stosunkowo nieznaczna ilość spośród chorych roślin nie zniosła ataku grzyba i zamarła. Były to rośliny słabsze i podatniejsze, w których grzyb rozszerzył się głębiej poza miękisz korowy, tj. do elementów przewodzących. Takie porażenie musiało spowodować zamarcie rośliny.

D o ś w i a d c z e n i e II

Oprócz wyżej opisanych doświadczeń przeprowadzono w 1955 r. jeszcze 2 inne, które miały na celu trochę ściślejsze określenie stopnia patogenności *Phomopsis leptostromiformis*.

Pierwszej próby infekcyjnej dokonano w następujący sposób: Łubin żółty rosnący w wazonie w ilości 6 roślin został opryskany zawiesiną zarod-

ników *Phomopsis leptostromiformis* w okresie tuż przed kwitnieniem. Zawiesinę zarodników przygotowano w ten sposób, że zarodniki z kultury grzyba rozproszano w wodzie sterylizowanej w takiej ilości, aby ich liczba w polu widzenia pod $400\times$ powiększeniem mikroskopu wynosiła 20—30. Rośliny opryskano w takim stopniu, że były pokryte równomiernie drobnymi kropelkami. W ten sposób opryskane rośliny przykryto na 38 godzin kloszem wyłożonym obficie zwilżoną bibułą. Temperatura szklarni wahała się między 18°C w nocy a 26°C w dzień.

Pierwsze objawy chorobowe zauważono po 7 dniach. Zaznaczyły się one więdnieniem i zwisaniem ku dołowi poszczególnych listków w liściach. Po bliższym przyjrzeniu się okazało się, że na górnych końcach ogonków w miejscu osadzenia listków powstają delikatne jasnożółte plamki, które dość szybko powiększają się. Po 2 dalszych dniach widoczne już było wyraźne zamieranie końców ogonków w miejscu przyczepu poszczególnych listków. Jednocześnie jasne, cokolwiek wgłębione plamy pojawiły się również na pędach. Plamy na ogonkach, oraz na łodygach, powiększały się bardzo szybko, tak że po 14 dniach od daty opryskania roślin zawiesinę zarodników na plamach wytworzyły się stromatyczne utwory grzyba z zaczątkiem powstawania w nich piknidiów. Po trzech tygodniach proces choroby był tak daleko posunięty, że rośliny tylko w słabym stopniu zakwitły i wkrótce obumarły.

D o ś w i a d c z e n i e III

W doświadczeniu tym starano się ustalić jaka ekspozycja po opryskaniu zawiesiną zarodników jest potrzebna dla nastąpienia infekcji.

W tym celu 3 wazon y każdy z 6-8 roślinami łubinu żółtego po opryskaniu ich zawiesiną zarodników przykryto kloszami wyłożonymi bibułą. Z pierwszego wazonu klosz zdjęto po 6 godzinach, z drugiego po 12, zaś z trzeciego po 24 godzinach. Temperatura w szklarni była na ogół wyższa niż przy poprzedniej próbie, bo wahała się między 20°C w nocy a 28°C w dzień.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w d o ś w i a d c z e n i a III. Przy tej próbie infekcyjnej najwcześniej, bo już po 4 dniach, wystąpiły pierwsze objawy chorobowe przy 24 i 12-godzinnej ekspozycji z tym, że objawy po 24-godzinnej ekspozycji były znacznie wyraźniejsze i liczniejsze. Pierwsze objawy chorobowe po 6-godzinnej ekspozycji wystąpiły dopiero po 6 dniach. Były to objawy występujące sporadycznie.

Interesujące jest tu zjawisko, że już po 6-godzinnej ekspozycji nastąpiło zarażenie, gdy tymczasem wielokrotnie powtarzając doświadczenie stwierdzono, że zarodniki *Phomopsis leptostromiformis* kiełkują najwcześniej dopiero po 12 godzinach. Prawdopodobnie w kropli wody na roślinie łub-

binu powstają specjalne warunki, które przyczyniają się do znacznie szybszego kiełkowania zarodników niż to ma miejsce w kropli umieszczonej na pożywce.

Stopień nasilenia objawów chorobowych w następnych dniach zależny był od czasu trwania ekspozycji, jak to widać na fotografii dokonanej po 11 dniach od czasu opryskania (ryc. 12).

Ryc. 12. Różny stopień nasilenia objawów chorobowych w zależności od czasu ekspozycji po 11 dniach po opryskaniu zawiesiną zarodników: 1 — 6-godzinna ekspozycja — 1.2% porażenia, 2 — 12-godzinna ekspozycja — 42% porażenia, 3 — 24-godzinna ekspozycja — 84% porażenia

Doświadczenie IV

Jak już zaznaczono zarówno M. F i s c h e r, jak i A p p e l zawsze uzyskiwali porażenie łubinu żółtego w doświadczeniach polowych, gdy porażone w uprzednim roku łodygi łubinu rozścielali w polu i przykrywali bardzo cienką warstwą ziemi. M. F i s c h e r (1893 b) chociaż obserwował występowanie tego grzyba również na łubinie wąskolistnym, to jednak nie przeprowadził żadnych doświadczeń infekcyjnych na tym gatunku łubinu.

Dotychczas nie wiadomo, jak się zachowuje grzyb *Phomopsis leptostromiformis* w stosunku do łubinu białego.

W celu wyjaśnienia patogeniczności *Phomopsis leptostromiformis* w stosunku do gatunków łubinów uprawianych w Polsce, w r. 1955 założono doświadczenie poletkowe biorąc pod uwagę trzy najczęściej u nas upra-

wiane gatunki odmiany łubinów słodkich: żółty poznański łubin wąskolistny, łubin biały średniowczesny oraz łubin biały wczesny. Doświadczenie założono w 4 powtórzeniach, a wielkość poletek wynosiła 2 m². Siewu dokonano 31 maja, a po tygodniu między rzędami rozłożono zeszłoroczne porażone łodygi łubinu w ten sposób, że częściowo przykryto je bardzo cienką warstwą ziemi a częściowo pozostawiono nie przykryte. Rozłożone łodygi miały być źródłem zarażenia. Wschody odbywały się normalnie z tym, że łubin żółty wschodził nieco później od 2 pozostałych gatunków, a zwłaszcza od łubinu wąskolistnego.

W okresie gdy łubiny miały po 2-3 liście, tj. mniej więcej po 2 tygodniach od wejścia, zauważono pierwsze charakterystyczne objawy chorobowe, ale tylko na łubinie żółtym. Na części podliścieniowej łodyżki powstawały szarżółte plamki, które obejmowały stopniowo łodyżkę dookoła. Plamki takie powstawały również na ogonkach liściowych, głównie w miejscach osadzenia listków. W tym okresie na wszystkich poletkach z łubinem żółtym uległa porażeniu w ten sposób blisko połowa roślin, ale z tego niebawem zamarła tylko nieznaczna ilość. Reszta porażonych roślin, choć została przy życiu, to jednak wymierała stopniowo. Zakwitła tylko połowa całej ilości roślin na poletkach. Ale i te, które zakwitły, zarażały się stopniowo w późniejszym okresie, tak że w czasie zbioru z 3 poletek zebrano zaledwie 197 strąków, z czwartego zaś nie zebrano żadnego. Można więc uważać, że łubin żółty w tym doświadczeniu został porażony i zniszczony prawie w 100%.

Na pozostałych 2 gatunkach, tj. na łubinie wąskolistnym i łubinie białym, w okresie wegetacyjnym nie wystąpiły objawy chorobowe właściwe dla *Phomopsis leptostromiformis*. Dopiero w końcu września i na początku października, kiedy rośliny były już zupełnie dojrzałe, zaobserwowano wystąpienie tego grzyba pod postacią typowych stromatycznych czarnych wzniesień na kilku zaledwie egzemplarzach łubinu wąskolistnego i na większej ilości (około 20%) łubinu białego. W okresie wegetacyjnym łubiny, wąskolistny w dość znacznym, zaś biały w małym stopniu, zostały porażone przez fuzariozę.

Omówienie wyników doświadczenia IV. Z powyższego doświadczenia wynika, że *Phomopsis leptostromiformis* jako czynnik chorobotwórczy może mieć znaczenie tylko dla łubinu żółtego. Na innych gatunkach łubinów uprawianych w Polsce może występować jako saprofit na obumierających łodygach.

D o ś w i a d c z e n i e V

W 1956 r. założono podobne doświadczenie polowe, przy czym wzięto pod uwagę następujące łubiny: łubin żółty słodki i gorzki, łubin biały, łubin zmienny, łubin wąskolistny oraz łubin trwały. Ten ostatni nie po-

wschodził i dlatego został z doświadczenia wyeliminowany. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach przy wielkości poletek 4 m². Wysiewu dokonano 12 maja przy jednoczesnym rozłożeniu między rzędami zeszłorocznych porażonych łodyg łubinu żółtego oraz częściowo wąskolistnego i białego (na tych ostatnich, jak już zaznaczano, grzyb rozwinął się w jesieni po ich zupełnym dojrzeniu). Wschody odbywały się normalnie. Obserwacje przeprowadzano wielokrotnie w ciągu całego okresu wegetacyjnego.

Analiza obserwacji i zebranych roślin została ujęta w poniżej podaną tabelę.

Gatunek lub odmiana łubinu	Ogólna ilość roślin w początkowym okresie wegetacyjnym	Ubytek roślin w ciągu okresu wegetacyjnego		Ilość roślin zebranych i w tym		
		porażone przez <i>Fusarium</i> i inne grzyby	porażone przez <i>Phomopsis leptostromiformis</i>	z objawami <i>Phomopsis leptostromiformis</i>	z objawami <i>Fusarium</i> i innych gat. grzybów	normalnie dojrzałe
Łubin żółty gorzki	629	—	207	398	—	24
Łubin żółty słodki	593	—	316	272	—	—
Łubin biały wczesny	844	61	—	17	—	766
Łubin zmienny	290	46	—	—	148	86
Łubin wąskolistny	459	Wszystkie rośliny stopniowo obumarły wskutek porażenia przez <i>Fusarium</i>				

Omówienie wyników doświadczenia V. Jak z tabeli wynika, doświadczenie to potwierdziło wyniki doświadczenia z 1955 r., że *Phomopsis leptostromiformis* jako patogen występuje tylko na odmianach łubinu żółtego. Łubin żółty słodki został porażony w 100%, zaś gorzki w 96%. Natomiast inne gatunki łubinu w okresie wegetacyjnym nie ulegają porażeniu przez *Phomopsis leptostromiformis*. W tym doświadczeniu grzyb ten w formie saprofitycznej nie wystąpił zupełnie na łubinie wąskolistnym i zmiennym, a w małej ilości rozwinął się na łubinie

białym. Zarówno łubin wąskolistny, jak i zmienny został porażony w wysokim stopniu przez fuzariozę, a łubin zmienny jeszcze dodatkowo przez *Botrytis cinerea*.

D o ś w i a d c z e n i e VI

Bardzo ważną sprawą w opracowaniu metod zwalczania *Phomopsis leptostromiformis* jest poznanie, jak długo przechowują się kawałki łodyg łubinu ze stromatycznymi utworami w glebie, jak długo grzyb zachowuje swoją żywotność. W tym celu w roku 1956 założono małe doświadczenie. W pięciu większych doniczkach z ziemią sterylizowaną wysiano nasiona łubinu żółtego z jednoczesnym rozłożeniem kawałków łodyg porażonego łubinu pochodzącego z 1954 r. i wziętych do doświadczeń polowych w 1955 r. Po kilku tygodniach na młodych roślinach wystąpiły typowe objawy chorobowe z drobnymi stromatycznymi utworami. W listopadzie 1956 r. te same kawałki wybrano z ziemi i okazało się, że znajdujące się na nich stromatyczne utwory są jeszcze żywe i mogą w piknidiach wytwarzać zarodniki.

Z powyższego wynika, że *Phomopsis leptostromiformis* może tak długo żyć w glebie, dopóki znajdują się tam kawałki łodyg łubinu, szczególnie długo może żyć na zdrewniałych dolnych częściach łodyg.

STRESZCZENIE

1. *Phomopsis leptostromiformis* B u b a k (syn. *Cryptosporium leptostromiforme* K ü h n) jest mało znanym pasożytem łubinów. Pasożyt ten został wykryty i opisany w r. 1870 przez K ü h n a w Niemczech. W Polsce autor stwierdził jego występowanie w r. 1952.

2. Pasożytnicza natura *Phomopsis leptostromiformis* została eksperymentalnie stwierdzona przez M. F i s c h e r a, A p p e l a oraz przez autora.

3. Grzyb może porażać łubin we wszystkich okresach jego wzrostu i rozwoju. U młodych roślin porażeniu podlega przeważnie część podłściennowa łodygi i to powoduje przedwczesne zamieranie roślin. Na roślinach starszych głównym typem objawów chorobowych są powiększające się i wgłębione żółtobrunatne plamy na łodygach z prawie czarnymi stromatycznymi utworami.

4. Porażenie łubinu może dochodzić do 100%. Największe straty powstają przy porażeniu roślin przed kwitnieniem.

5. Badania M. F i s c h e r a i autora wykazały, że *Phomopsis leptostromiformis* rozwija się w dwóch „generacjach“, tj. letniej i wiosennej, różniących się między sobą budową stromy i piknidiów. Piknidia mniejsze

opatrzone są jednym ujściem, zaś piknidia większe kilkoma (do 10). Nie znaleziono stadium workowego grzyba.

6. Źródłem pierwszej infekcji są zarodniki wytwarzające się w piknidiach powstających w stromach „generacji” wiosennej. Uzyskano znaczne porażenie łubinu żółtego w doświadczeniach polowych przez płytkie zagrzebanie porażonych łodyg między rzędami roślin. Na łubinie białym i wąskolistnym grzyb wystąpił dopiero w jesieni na roślinach już zupełnie dojrzałych.

7. Obserwacje wykazały, że najsilniejsze porażenie łubinu występuje na glebach piaszczystych i suchych, w okresach panowania wysokich temperatur (lipiec).

8. Eksperymentalnie stwierdzono, że stopień porażenia i dalszy rozwój choroby zależny jest od wilgotności gleby. Przy niskiej 30% wilgotności w glebie rośliny szybko zamierają, zaś przy wysokiej 75% wilgotności, mimo iż zarażają się, to jednak później przewyciężają chorobę i rosną normalnie.

9. Przy sztucznej infekcji, tj. przez opryskanie roślin zawiesiną zarodników i następnie przykrycie ich kłoszami na przeciąg 6, 12, 24 i 36 godzin, najsłabsze porażenie wystąpiło przy ekspozycji 6 godzin — zaś najsilniejsze przy 24 i 36 godzinach.

10. Optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników *Phomopsis leptostromiformis* — jak to wynika z załączonej tabeli — jest temp. 25°C. Przy tej temperaturze kiełkowanie rozpoczyna się po 12 godzinach.

11. *Phomopsis leptostromiformis* daje się łatwo wyizolować i kulturować na sztucznych podłożach. Temperatura 25°C jest optymalna dla rozwoju grzyba. Najlepszą pożywką okazała się pożywka agarowo-brzeczkowa ewentualnie z dodatkiem wyciągu z nasion łubinu.

12. Obserwacje w naturze oraz doświadczenia szklarniowe i polowe wykazały, że *Phomopsis leptostromiformis* najłatwiej poraża łubiny żółte.

13. Najważniejszym czynnikiem odporności jest duża żywotność roślin. Dobre warunki wzrostu, a zwłaszcza odpowiedni zasób wody w glebie i w tkankach, podnosi bardzo odporność roślin.

14. Doświadczalnie wykazano, że *Phomopsis leptostromiformis* może przetrwać na zdrewniałych częściach łodyg łubinu do trzech lat.

SUMMARY

1. *Phomopsis leptostromiformis* (K ü h n) B u b a k (syn. *Cryptosporium leptostromiforme* K ü h n) is a little known parasite of lupine. The parasite was discovered and described in 1870 by K ü h n in Germany. The present author found the parasite in Poland in 1952.

2. The parasitic nature of *Phomopsis leptostromiformis* was demonstrated experimentally by M. Fischer, Appel and the present author.

3. The fungi could attack lupine at all stages in the development of plants. In young plants the part of the stem below the cotyledons was usually attacked and this caused a premature death of the plants. In older plants the main symptoms of disease were expanding, deep, yellow-brown pathes on the stems with nearly black stromatic masses.

4. In the case of yellow lupin the fungi sometimes attacked all the plants of a population. The greatest damage was caused if the infection had occurred prior to flowering.

5. Researches of M. Fischer and of the present author showed that *Phomopsis leptostromiformis* develops in two „generations“: parasitic in summer and saprophytic in spring. The „generations“ differed in the size of stromata and pycnidia. The smaller pycnidia developed one ostiole, the larger ones several (up to 10). The perfect stage of the fungus was never observed.

6. The spores produced by pycnidia developed in stromata of the spring saprophytic „generation“ were the source of primary infections. In experiments continued over two years experimental plots of yellow lupine were extensively attacked by fungi when last year's infected stems were shallowly buried between the plants. In the case of white and blue lupin varieties the fungi developed in autumn as saprophytes on fully grown plants.

7. Observations showed that infections of lupine were strongest on dry sandy soils when hot weather prevailed (July).

8. It was found experimentally that the extent of infection and the further progress of the disease depended on soil humidity. When soil humidity was low, only 30 per cent, the plants died early, whereas, when humidity was 75 per cent the plants were attacked, but survived and later developed normally.

9. Plants were infected artificially by spraying with a suspension of spores and then covered with jars for 6, 12, 24 and 36 hours. The infection was weakest in plants exposed for 6 hours and strongest when exposure time was 24 and 36 hours.

10. 25°C was the most favourable temperature for the germination of spores of *Phomopsis leptostromiformis*. At this temperature germination began after 12 hours.

11. *Phomopsis leptostromiformis* was easily isolated and cultivated on artificial substrata. The most favourable temperature for the development

of fungi was 25°C. The best medium was a mixture of agar and malt extract. Sometimes lupine-seed extract was added to that medium.

12. Observations on plants growing under natural conditions, in a glass-house and on experimental plots indicated that *Phomopsis leptostromiformis* attacked yellow lupine only.

13. The most important factor of resistance to infections was the high vitality of plants. Good conditions, particularly an adequate water supply in the soil and plant tissue favoured the resistance of plants to infection.

14. Experiments showed that *Phomopsis leptostromiformis* could survive on woody pieces of lupine stems for at least three years.

LITERATURA

1. Ferraris T., 1926, Trattato di patologia e terapia vegetale, Ulrico Hoepli :1004. Milano.
2. Fischer M., 1893a, Zur Entwicklungsgeschichte des *Cryptosporium leptostromiforme* J. Kühn, Botanische Zentrallblatt, 54.
3. Fischer M., 1893b, Das *Cryptosporium leptostromiforme* J. Kühn, ein Kernpilz, der eine ernste Gefahr für den Lupinenbau bedeutet, Bunzlau.
4. Grove W. B., 1935, British Stem — and leaf fungi: 199, Cambridge.
5. Pape H. Sorauer P., 1928, Handb. der Pflanzenkrankheiten, 5 wyd. t. 3, cz. II, s. 565.
6. Traverso J. B. 1906, Pyrenomycetae, Flora Italica Cryptogama.
7. Viennot-Bourgin E., 1949, Les Champignons parasites des plantes cultivées, s. 1389, Masson Cie, Editeurs, Paris.