Badania nad gorzką zgnilizną jabłek powodowaną przez
grzyby *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs,
Gloeosporium album Osterw. i *Gloeosporium*
fructigenum Berk.

Investigations on the bitter rot of apples caused by *Gloeosporium perennans* Zell. et
Childs, *G. album* Osterw. and *G. fructigenum* Berk.

ZBIGNIEW BORECKI

WSTĘP

Gorzka zgnilizna jabłek należy obecnie do najgroźniejszych chorób jabłoni powodowanych przez grzyby pasożytnicze. O dużej szkodliwości tej choroby decydują przede wszystkim czynniki etiologiczne. Gorzka zgnilizna jabłek może być powodowana przez kilka różnych gatunków grzybów posiadających liczne cechy wspólne, jak łatwość przystosowania się do niskich temperatur i do rozwoju saprofitycznego w warunkach niekorzystnych dla grzyba oraz zdolność do infekowania owoców uszkodzonych lub nie uszkodzonych w różnych stadiach rozwojowych. Wilkison (1954), zestawiając wyniki wieloletnich badań nad chorobami jabłek w przechowalni, dochodzi do wniosku, że choroba ta powoduje w Anglii ponad 50% strat jabłek w przechowalniach. Montgomery (1958) podkreśla duże znaczenie choroby wynikające z jej powszechnego występowania w chłodniach. Niska temperatura nie ogranicza występowania gorzkiej zgnilizny, opóźnia tylko je do chwili, gdy jabłko uzyskując dojrzałość konsumpcyjną przekazywane jest do handlu. Prawidłowa agrotechnika, staranna pielęgnacja i cięcie drzew, nie mają istotnego wpływu na ograniczenie tej choroby. Wprost przeciwnie, niektóre z zabiegów jak silne cięcie koron jabłoni, sprzyjają jej rozwojowi (Cork 1954, 1956).

Gorzka zgnilizna jabłek występuje we wszystkich rejonach uprawy jabłoni, jednak jej znaczenie gospodarcze jest szczególnie duże w krajach o wysokim poziomie sadownictwa, gdzie na tle wzorowo prowadzonego sadu i przechowalni ujawnia się cała bezradność producenta wobec choroby.

Celem przeprowadzonych badań było wyjaśnienie etiologii gorzkiej zgnilizny jabłek w Polsce, poznanie biologii grzybów powodujących tę chorobę,

ich sposobu zimowania, źródeł infekcji, porównanie patogeniczności oraz porównawcze badania z zakresu morfologii i fizjologii. Obserwacje wstępne nad morfologią i patogenicznością grzybów rozpoczęto w 1957 r. w East Malling, po czym kontynuowano je w Polsce w latach 1958 i 1959.

ETIOLOGIA CHOROBY

Gorzką zgniliznę jabłek powodują trzy gatunki grzybów występujących przez cały okres rozwoju choroby w stadium niedoskonałym, są to *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs (syn. *Cryptosporiopsis malicorticis* Zell. et Childs), *Gloeosporium album* Osterw. (*Phlyctaena vagabunda* Desm.) i *Gloeosporium fructigenum* Berk. (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.).

Gloeosporium perennans Zell. et Childs

syn.: *Cryptosporiopsis malicorticis*

stadium workowe: *Pezicula malicorticis* (Jacks.) Nannf.

Systematyka i historia badań. Stanowisko systematyczne grzyba, określone przez Nannfeldta (1932), uznane jest przez współczesnych mikologów po wprowadzeniu pewnych zmian w układzie rzędów i rodzin w klasie workowców (Luttrell 1951). Grzyb ten należy do klasy *Ascomycetes*, podklasy *Euascomycetes*, grupy *Discomycetes*, rzędu *Helotiales*, rodziny *Dermataceae* (Luttrell 1951). W pierwotnej klasyfikacji Nannfeldta grzyb zaliczony został również do rzędu *Helotiales*, lecz do rodziny *Peziculoideae*.

Większość autorów określa grzyb jako *Gloeosporium perennans* (Edney 1956, Edney 1958, Wilkinson 1954, Montgomery 1958), a w stadium workowym jako *Neofabrea perennans* Kienholz (Gram and Weber 1951, Kienholz 1939, Edney 1958). Niektórzy spośród autorów wyróżniają dwa gatunki *Neofabrea perennans* Kienholz i *Neofabrea malicorticis* Jacks. (Gram and Weber 1951, Brooks 1953), w rzeczywistości obie nazwy gatunkowe są synonimami i odnoszą się do tego samego grzyba (Kienholz 1939, Arx 1957). Arx (1957, 1958) porządkując w znacznym stopniu wiadomości o grzybach z rodzaju *Gloeosporium*, określił stadium niedoskonałe jako *Cryptosporiopsis malicorticis*.

Stadium konidialne grzyba opisali po raz pierwszy Zeller i Childs w roku 1925 w USA. W roku 1931 Cooley i Shear oraz w roku 1932 Brown opisują jego rozwój na kontynencie amerykańskim (Arnaud 1931, Walker 1957). W latach 1943—1945 Wilkinson publikuje

obszerne wyniki badań nad zgnilizną owoców i ranami zgorzelinowymi pędów jabłoni, powodowanymi przez *Gloeosporium perennans*.

Pierwszy szczegółowy opis stadium workowego podał K i e n h o l z w 1939 r. (K i e n h o l z 1939). Autor ten stwierdził, że *Neofabrea mali-corticis* i *Gloeosporium perennans* stanowią różne stadia rozwojowe tego samego grzyba.

M o r f o l o g i a g r z y b a. Owocniki grzyba znalezione zostały kilkakrotnie przez autora w Sadzie Pomologicznym Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach w listopadzie 1958 r. i w grudniu 1959 r. Apothecium, które rozwija się najczęściej na martwych sęczkach, jest płaskie lub nieznacznie wyniesione, o średnicy od 0,5 do 1 mm. Początkowo jest ono wklęsłe o barwie szarej, później ciemniejsze i wreszcie całkowicie czernieje. Worki umieszczone są pomiędzy licznymi parafyzami, które są pojedyncze lub rozgałęzione na końcu. W każdym worku znajduje się osiem zarodników o wydłużonym, jajowatym kształcie. Zarodniki są początkowo bezbarwne, później brunatnieją. Do chwili rozerwania worka zarodniki są jednokomórkowe, lecz w momencie kielkowania dzielą się jedną lub kilkoma przegrodami na komórki. Według obserwacji własnych wymiary worków wynosiły średnio $114 \times 10,8 \mu$, a zarodników workowych $17,1 \times 5,3 \mu$. Wymiary te są zbliżone do danych podawanych przez S h a r p l e s a (1959), natomiast różnią się od wymiarów, które podaje A r n a u d (1931). Większość badaczy uważa, że stadium workowe występuje rzadko w warunkach naturalnych i nie odgrywa istotnej roli w rozwoju choroby (B o l a y 1956, G u n t h r i e 1957).

W stadium niedoskonałym grzyb zarodnikuje tworząc duży acervulus rozwijający się w skórce lub pod skórą owocu na dobrze rozwiniętym podłożu stromatycznym. Acervulus może rozwijać się zarówno na gnijących owocach, jak i na pędach. Kształt jego jest zaokrąglony, barwa początkowo jasna, przybiera później odcień szary. Trzonki konidialne są różnej długości, zagięte, często zwężone ku górze. Zarodniki konidialne są jednokomórkowe, bezbarwne, wydłużone o kształcie eliptycznym, proste lub lekko zagięte. Według obserwacji autora wymiary trzonek konidialnych wynoszą od 5 do 12μ , a wymiary zarodników średnio $17,5 \times 3,9 \mu$. Według A r x a (1957) długość zarodników konidialnych waha się u tego grzyba w granicach 12— 35μ . Oprócz normalnych zarodników występują często mikrokonidia o średniej wielkości $7,2 \times 1,9 \mu$, powstające w dużych ilościach na rozgałęzieniach strzępek grzybni. Inną formą zarodnikowania konidialnego jest sporodochium stanowiące skupienie trzonek konidialnych, na końcu których formują się zarodniki. Sporodochia występują często na sęczkach i martwych częściach pędów, rzadziej na gnijących owocach.

Zarodniki *Gloeosporium perennans* kielkują bardzo dobrze zarówno w kropli wody, jak i w pożywce. Procent kielkujących zarodników wynosi przeciętnie 84,3 w wodzie oraz 99,7 w 2% roztworze glukozy. Rozwijająca się

grzybnia była bezbarwna, rozgałęziona, przy czym każde kolejne odgałęzienie wykazywało mniejszą grubość, która wynosiła od 1 do 3,9 μ . Zarodniki kielkujące na powierzchni owocu lub na powierzchni szkiełka w temperaturze od 10 do 15° C, formowały często appressorium. Występowanie appressorium obserwował także E d n e y (1958), przeprowadzając szczegółowe badania nad przebiegiem infekcji, natomiast A r x (5—1957) nie wspomina o tej właściwości grzyba *Gloeosporium perennans*. Appressorium jest małe o wymiarach 5—8 μ , znacznie mniejsze niż u *Gloeosporium fructigenum*.

Gloeosporium perennans obserwowany był przez autora na owocach i pędach jabłoni i gruszy. O występowaniu tego grzyba na gruszy wspominają G r o o m i H a l l (1957).

Gloeosporium album O s t e r w.

syn.: *Phlyctaena vagabunda* D e s m.

stadium workowe: *Pezicula alba* sp. nov.

S y s t e m a t y k a i h i s t o r i a b a d a ń. Stadium workowe grzyba opisał poraz pierwszy G u n t h r i e 1959 r. i oznaczył je jako *Pezicula alba* sp. nov. (G u n t h r i e 1959). Apothecia znalezione zostały na materiale zebranym w ciągu lata na martwych sęczkach jabłoni, umieszczonych w skrzynkach z wilgotnym piaskiem. Pierwsze owocniki rozwinęły się na początku listopada. Pod względem systematycznym grzyb ten jest zbliżony do *Pezicula malicorticis*, jednak acervulus i worki są większe. Wymiary owocnika wynoszą średnio 1 mm, a worków 135×16,1 μ . Zarodniki workowe są początkowo jednokomórkowe, dzielą się w momencie kielkowania na kilka komórek. Na podstawie szczegółowego opisu morfologicznego G u n t h r i e zalicza grzyba do rodzaju *Pezicula* (G u n t h r i e 1959).

W o l l e n w e b e r i H o c h a p p e l (1949) podają, że *Gloeosporium album* znaleziony został poraz pierwszy przez S c h u l z a w 1871 r. na zamierających pędach pigwy i opisany jako *Lituarina Riessi* S c h u l z. W roku 1907 O s t e r w a l d e r publikuje wyniki badań nad zgnilizną owoców jabłoni i gruszy spowodowaną przez ten grzyb proponując po raz pierwszy nazwę *Gloeosporium album* O s t e r w. (W o l l e n w e b e r und H o c h a p p e l 1949).

Duże znaczenie gospodarcze grzyba wykazał poraz pierwszy S c h n e i d e r w 1912 r. (W o l l e n w e b e r und H o c h a p p e l 1949), który stwierdził, że *Gloeosporium album* występuje powszechnie w Europie i znacznie częściej powoduje zgniliznę owoców niż *Gloeosporium fructigenum* (syn. *Colletotrichum gloeosporioides*). Opinię tę potwierdzają później M a r s h a l l w Belgii, G r a m i R o s t r u p w Danii (A r n a u d 1934) oraz W i l k i n s o n (1954) w Anglii. W 1957 r. A r x (1957) w wyniku szczegółowych

badan nad grzybami z rodzaju *Gloeosporium*, identyfikuje ten gatunek z *Phlyctaena vagabunda* Desm.

Morfologia grzyba. *Gloeosporium album* formuje acervulus pod skórą lub w skórce gnijącego owocu. Acervulus na owocach jest lekko zagłębiony, natomiast na pędach ma kształt głębokiego kielicha, którego wewnętrzna ściana pokryta jest skupieniem trzonek konidialnych z powstającymi na nich zarodnikami. Z zewnątrz acervulus przybiera kształt kulisty, często nieregularny. Powstawanie i wydobywanie się zarodników z owocników rozwijających się na sęczkach i martwych pędach przypomina w obrazie makroskopowym piknidia. Przy dużej wilgotności powietrza z owocnika wydobywają się krople lub nitkowate skupienia zarodników sklejonych śluzową substancją. Zjawisko to obserwowano wielokrotnie w sadzie w okresie od października do grudnia w latach 1958 i 1959. Acervulus, którego wymiary wynoszą od 0,5 do 1 mm, rozwija się na podłożu stromatycznym o barwie żółtobrunatnej. Trzonki konidialne są proste lub lekko zagięte, zwężone ku górze, o długości od 7 do 25 μ . Zarodniki są wydłużone, jednokomórkowe, bezbarwne, charakterystycznie zagięte. Typowy kształt zarodników pozwala łatwo je odróżnić od innych grzybów. Wymiary zarodników wynoszą według własnych obserwacji od 16,8 do 31,5 $\mu \times$ od 2,6 do 4,2 μ , przeciętnie 24,0 $\times$ 3,7 μ . *Gloeosporium album* może także wytwarzać sporodochia, które bardzo często występują na martwych częściach korony drzewa.

Kielkujące zarodniki nie wytwarzają appressorium. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że kielkowanie zarodników przebiegało dobrze zarówno w wodzie, jak i w pożywce. W temperaturze 22°C kielkowało w wodzie 86,2%, a w 2% roztworze glukozy 100% zarodników. Rosnąca grzybnia rozgałęziała się, a grubość jej wynosiła od 1 do 4 μ .

Gloeosporium album znaleziony został przez autora tylko na jabłoni. Według Wollenwebera i Hochapfela (1949) grzyb ten może także spowodować zgniliznę owoców gruszy i pigwy.

Gloeosporium album, podobnie jak *Gloeosporium perennans* nie był dotychczas opisywany w Polsce pomimo, że oba grzyby występują powszechnie w naszych sadach i przechowalniach.

Gloeosporium fructigenum Berk.

syn.: *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

stadium workowe: *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld. et Schrenk.

Systematyka i historia badań. Grzyb *Gloeosporium fructigenum* powodujący gorzką zgniliznę jabłek jest jedną z licznych form konidialnych workowca *Glomerella cingulata*. O ile rozpoznanie stadium

workowego nie stwarza większych trudności, to uporządkowanie wiadomości o stadium niedoskonałym było zadaniem trudnym i znalazło rozwiązanie w pracach Arxa (1957, 1958). Przedstawiony przez tego autora wykaz 593 synonimów najlepiej charakteryzuje chaos, jaki panował w wiadomościach dotyczących tego grzyba. W starszej literaturze stadium workowe grzyba zaliczane jest do grupy *Pyrenomyces*, rzędu *Sphaeriales*, rodziny *Gnomoniaceae* (wg Viennot - Bourgin 1949). Klasyfikacja ta opiera się na pierwotnym układzie Lindau'a z roku 1897. W nowych opracowaniach mikologicznych wprowadzono duże zmiany w systematyce *Pyrenomyces*. Zmiany te objęły w znacznym stopniu rząd *Sphaeriales*. W wyniku szczegółowych badań nad morfologią i systematyką grupy *Pyrenomyces*, Luttrell (1951) likwiduje w swoim układzie rząd *Sphaeriales*, a cała rodzina *Gnomoniaceae* zostaje przeniesiona do rzędu *Diaporthales*, rodziny *Diaporthaceae*. Arx i Müller (1954) pozostawiają w swoim układzie rząd *Sphaeriales*, lecz jego ujęcie odbiega znacznie od pierwotnego ujęcia Lindau'a i uwzględnia szczegóły budowy morfologicznej worka. Work ten posiada pojedynczą ścianę, nieznacznie zgrubiałą w części wierzchołkowej. Rząd ten obejmuje tylko sześć rodzin, wśród nich rodzinę *Polystigmataceae*, do której autorzy zaliczają gatunek *Glomerella cingulata*.

Pierwszy opis gorzkiej zgnilizny jablek powodowanej przez ten grzyb ukazał się w Europie w formie nie publikowanego rękopisu z roku 1829 (Walker 1957). W roku 1856 Berkeley opisał w Anglii stadium niedoskonałe grzyba określając je jako *Septoria rufomaculans* Berk. W roku 1892 Atkinson znajduje grzyb w Ameryce na ligustrze (Walker 1957). Według Walkera (1957) Schrenk i Spaulding podali pierwszy szczegółowy opis stadium workowego oznaczając grzyb jako *Glomerella rufomaculans*.

Morfologia. Cechą charakterystyczną grzyba *Glomerella cingulata* jest jego duża zmienność i występowanie pod postacią licznych, często znacznie różniących się od siebie, form fizjologicznych, które Arx (1957) określa jako rasy. Badania przeprowadzone przez Edgerton'a nad jednozarnikowymi kulturami grzyba uzyskanymi z różnych roślin gospodarzy w różnych strefach geograficznych wykazały duże różnice w budowie morfologicznej i właściwościach fizjologicznych różnych form (Arx 1957). Otocznie grzyba *Glomerella cingulata* rozwijają się zarówno na podłożu naturalnym, jak i na pożywkach. Stomatyczne ściany otoczni są grube, barwy ciemno-brunatnej. Średnica jej wynosi od 85 do 300 μ (Arx 1957), a kształt jest kulisty lub wydłużony w formie butelki. Ujście otoczni jest krótkie lub wydłużone wysłane perifyzami, a wewnętrzna ściana pokryta warstwą delikatnych, bezbarwnych komórek. Worki posiadają kształt cylindryczny, a wymiary ich wynoszą 35—80 $\times$ 4—14 μ (Arx 1957). W workach o delikat-

nych, pojedynczych błonach rozwija się po osiem zarodników workowych. Zarodniki są jednokomórkowe, bezbarwne, o kształcie elipsoidalnym, lekko zagięte i zawierają ziarnistą plazmę. Wymiary zarodników wynoszą $9-30 \times 3-8 \mu$ (A r x 1957). Według obserwacji autora wymiary otoczni rozwijających się na owocach wynosiły przeciętnie 140μ , wymiary worków $58 \times 11 \mu$, a zarodników workowych $17 \times 4,5 \mu$. Zgodnie z danymi A r x a (1957) autor stwierdził obecność parafyz w otocznich. Parafizy występowały jedynie w otocznich młodych. W literaturze fitopatologicznej można spotkać wzmianki o braku parafyz w otocznich grzyba *Glomerella cingulata* jako o właściwości gatunku (B r o o k s 1953, V i e n n o t - B o u r g i n 1949). Zarodniki workowe kielkując wytwarzają duże appressorium o wymiarach $5-8 \mu$. Appressoria obserwowane były wielokrotnie przez autora zarówno na powierzchni owoców, jak i na szkiełku. Podczas kielkowania zarodniki workowe dzielią się zwykle na dwie komórki.

Stadium konidialne grzyba wykazuje również dużą zmienność morfologiczną i fizjologiczną. Zarodnikujący grzyb formuje acervulus pod kutikulą, która zostaje rozerwana i skupienia zarodników wydobywają się na powierzchnię tkanki. Acervulus rozwija się na podłożu stromatycznym o barwie brunatnej, posiada on kształt płaskiego kielicha, którego wnętrze wypełnione jest masą zarodników konidialnych. Skupienia zarodników przy dużej wilgotności powietrza mają wygląd śluzowatych kropeł o barwie pomarańczoworóżowej. Zarodniki są jednokomórkowe, bezbarwne i wydłużone. Kształt i wielkość zarodników są różne u różnych form grzyba. Przeprowadzone obserwacje wykazały duże różnice w budowie zarodników powstających na różnych roślinach. Zarodniki powstające na owocach orzecha włoskiego były silnie wydłużone, zwężone z obu stron, a wymiary ich wynosiły średnio $18,2 \times 4,9 \mu$. Zarodniki konidialne powstające na owocach jabłoni, gruszy, śliwy, moreli, winorośli i pigwy, były znacznie krótsze, a wymiary ich wynosiły od $13,6 \times 4,2 \mu$ na pigwie, do $15,8 \times 4,8 \mu$ na gruszy. Forma grzyba znaleziona na orzechu włoskim różniła się wyraźnie od pozostałych form, różnice te widoczne były także na kulturach po wyizolowaniu grzybów na pożywe.

Na owocach jabłoni, gruszy i pigwy grzyb zarodnikując tworzył duży acervulus, natomiast na owocach moreli, śliwy, winorośli i orzecha włoskiego obserwowano skupienia trzonek konidialnych tworzących sporodochium. Wszystkie materiały, na których obserwowano grzyb, znaleziono w Sadzie Pomologicznym Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach oraz w Zakładach Naukowo-Badawczych I.S. Nowa Wieś, Dąbrowice i Świerklaniec.

W przeciwieństwie do grzybów *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album*, zarodniki konidialne *Gloeosporium fructigenum* bardzo słabo kielkowały w kropli wody. Ilość zarodników kielkujących w temperaturze 22°C

Ryc. 1. Zarodniki konidialne grzybów: a — *Gloeosporium perennans*; b — *Gloeosporium album*; c — *Gloeosporium fructigenum* wyizolowanego z owoców orzecha włoskiego; d — *Gloeosporium fructigenum* wyizolowanego z owoców jabłoni; Conidia of the fungus: a — *Gloeosporium perennans*; b — *Gloeosporium album*; c — *Gloeosporium fructigenum* isolated from walnuts; d — *Gloeosporium fructigenum* isolated from apples

wynosiła średnio 7,2%, natomiast w 2% roztworze glukozy kiełkowało 89,2% zarodników. Cechą charakterystyczną tego grzyba jest bardzo szybki wzrost grzybni na pożywce; w ciągu 24 godzin przyrost grzybni wynosił w temperaturze 22°C — 3450 μ .

Zakres roślin gospodarzy, na których występuje *Gloeosporium fructigenum*, jest bardzo szeroki. Grzyb ten występuje na owocach większości drzew pestkowych i ziarnkowych, na krzewach jagodowych, orzechu włoskim,

drzewach kakaowych, bananowych i kawowych. Liczne formy fizjologiczne grzyba powodują choroby warzyw, roślin ozdobnych i dziko rosnących (A r x 1957).

ZEWNĘTRZNE OBJAWY PORAŻENIA

Gloeosporium perennans Z e l l. et C h i l d s.

O b j a w y n a o w o c a c h. Pierwsze objawy chorobowe zjawiają się zwykle pod koniec okresu przechowywania owoców. Plama gnilna występuje najpierw w miejscu przetchlinki, po czym powiększa się koncentrycznie tak, że przetchlinka tworzy centralny punkt plamy. Obraz zgnilizny, jaki powstaje, wskazuje na przetchlinkę jako miejsce infekcji. Przypuszczenie to potwierdzone zostało obserwacjami nad rozwojem grzyba na powierzchni owocu. W warunkach korzystnych dla rozwoju choroby plama rozwija się w sposób charakterystyczny, pozwalający na odróżnienie choroby od zgnilizny powodowanej przez grzyby z rodzaju *Penicillium*. Gdy średnica plamy osiągnie kilkanaście milimetrów, powierzchnia owocu w miejscu plamy zapada się, jednak skórka owocu pozostaje gładka, napięta i często pęka podłużną szczeliną. Barwa plamy w tym stadium zgnilizny jest niejednolita. W centrum plamy, przy przetchlince widoczny jest ciemny punkt, wokół którego występuje strefa o zabarwieniu jaśniejszym, otoczona ciemnym pierścieniem. Gdy średnica plamy osiągnie 2—3 cm, skórka zaczyna się marszczyć, a na jej powierzchni zjawiają się małe wypukłości wytworzone przez formujący się pod skórą, lub częściowo w skórze, acervulus. Acervulus posiada zabarwienie jasnokremowe, ilość owocników na jednej plamie waha się od jednego do kilkudziesięciu; występują one w skupieniu, ale układ ich nie jest koncentryczny, lecz nieregularny. Pojawienie się owocników pozwala na dokładne odróżnienie przyczyny zgnilizny od innych grzybów z wyjątkiem *Gloeosporium album*. Na jednym owocu występuje zwykle kilka plam gnilnych. Miąższ gniących jabłek posiada gorzki smak, jednak cecha ta jest typowa także dla innych grzybów. Zgnilizna miąższu może być sucha lub mokra, zależnie od warunków otoczenia. Przy małej wilgotności powietrza gniący owoc kurczy się, marszczy i przekształca w suchą mumię barwy brunatnej. Powstająca mumia pokryta jest licznymi owocnikami grzyba, które stopniowo wysychają. Przy dużej wilgotności powietrza gniący owoc rozpada się, jednak nigdy nie jest tak miękki, jak przy porażeniu jabłek przez grzyby z rodzaju *Penicillium*. Pierwotne objawy zgnilizny, spowodowanej przez grzyb *Gloeosporium perennans*, mogą być zmodyfikowane przez wtórne wystąpienie pędzlaków. Zjawisko to spotyka się często w przechowalniach o bardzo dużej wilgotności powietrza oraz w pakowniach, gdzie w wyższej temperaturze grzyby z rodzaju *Penicillium* rozwijają się szybciej.

O b j a w y n a p ę d a c h. *Gloeosporium perennans* należy do grzybów zgorzelinowych. Objawy porażenia korony drzewa mogą występować na jednorocznych przyrostach, jak i na pędach starszych, gałęziach, a nawet na konarach drzewa. Na starszych gałęziach nie powoduje on przerostu tkanek i powstawania rakowatych narośli, lecz podłużne, zapadające się rany wgłębne, w których miazga pod korą zamiera, kora łuszczy się i odpada odsłaniając drewno. Wielkość ran dochodzi do 10 cm (C o r k e 1956). Znacznie częściej można obserwować rany zgorzelinowe na młodych gałęziach. Grzyb *Gloeosporium perennans* wyizolowany został przez autora z ran znalezionych na dwuletnich pędach jabłoni odmiany „Cortland” w Sadzie Pomologicznym Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach. Rany miały kształt podłużny o wymiarach do 5 cm, a na ich powierzchni widoczne było w okresie od października do grudnia 1958 r. zarodnikowanie konidialne grzyba. Zarodnikowanie obserwowano również w połowie kwietnia 1959 r. w okresie wilgotnej pogody.

Według niektórych autorów (C h i l d s 1929, wg V i e n n o t - B o u r g i n 1949) powstawanie ran zgorzelinowych powodowanych przez *Gloeosporium perennans* wiąże się z występowaniem mszycy *Eriosoma lanigerum* H a u s m.

O b j a w y n a l i ś c i a c h. *Gloeosporium perennans* może wprawdzie porażać liście jabłoni, jednak jako czynnik chorobotwórczy liści nie ma w praktyce większego znaczenia. Tylko w jednym wypadku udało się autorowi znaleźć na liściach jabłoni odmiany „Cortland” w Skierniewicach plamy, na których po umieszczeniu liści w wilgotnej kamerze stwierdzono zarodnikowanie konidialne grzyba. Zjawisko to obserwowano w listopadzie 1958 r. Plamy na liściach były duże, o średnicy około 7—16 mm, koncentryczne, barwy jasnobrunatnej. Liść w miejscu plam był zdeformowany. Podobne objawy uzyskano w wyniku sztucznej inokulacji liści.

Gloeosporium album O s t e r w.

O b j a w y n a o w o c a c h. Makroskopowe objawy porażenia owoców przez grzyb *Gloeosporium album* są identyczne z objawami wywoływanymi przez *Gloeosporium perennans*. Bez badania mikroskopowego rozpoznanie grzyba powodującego gorzką zgniliznę jabłek jest niemożliwe. Umieszczenie plam wokół przetchlinek, rozwój plam, zapadanie się miąższu i gorzki smak owocu są bardzo podobne u obu grzybów. Formujący się na plamie acervulus ma podobne wymiary, a wydzielane skupienia zarodników identyczne zabarwienie. *Gloeosporium album* częściej powoduje powstawanie plam gnilnych nie formując owocników na ich powierzchni, jednak różnica ta nie może być uważana za cechę rozpoznawczą.

Ryc. 2 Jabłka porażone przez grzyby wywołujące gorzką zgniliznę
Apples infected with bitter rot

1—*Gloeosporium fructigenum*; 2—*G. album*; 3—*G. perennans*

O b j a w y n a p ę d a c h. O ile *Gloeosporium perennans* uważany jest za słabego pasożyta, to *Gloeosporium album* posiada zdolności pasożytnicze w stosunku do pędów w znikomym stopniu (W i l k i n s o n 1954, C o r k e 1956). Jedynie w optymalnych dla grzyba warunkach termicznych i wilgotnościowych udało się niektórym badaczom wykazać jego pasożytnicze zdolności, przy zastosowaniu metody sztucznej inokulacji młodych pędów (C o r k e 1956). *Gloeosporium album* występuje natomiast powszechnie jako saprofit na martwych częściach korony drzewa.

Nie stwierdzono występowania grzyba *Gloeosporium album* na żywych liściach. Przeprowadzone próby sztucznej inokulacji nie dały pozytywnych rezultatów, natomiast grzyb rozwijał się doskonale na liściach jabłoni wysterylizowanych w autoklawie.

Gloeosporium fructigenum B e r k.

O b j a w y n a o w o c a c h. W przeciwieństwie do dwóch poprzednich grzybów rozpoznanie zgnilizny spowodowanej przez *Gloeosporium fructigenum* nie stwarza dużych trudności. Przebieg zgnilizny jest podobny, rozpoczyna się ona od przetchlinek powiększając koncentrycznie wokół pierwotnej plamki. Barwa plamy jest brunatna lecz ciemniejsza niż przy zgniliznie spowodowanej przez *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album*. Zgnilizna jest przeważnie sucha i prowadzi do mumifikacji owocu, a środkowa część plamy przybiera często odcień ciemnobrunatny. Owocniki formujące się pod skórą, a następnie wydobywające się na jej powierzchnię, są bardzo liczne. Śluzowate skupienia zarodników powstające na owocnikach posiadają zabarwienie pomarańczoworóżowe. *Gloeosporium fructigenum* za-

rodnikuje znacznie obficie na owocach niż poprzednie grzyby. Przy dużej wilgotności powietrza plama gnilna pokrywa się jasnoszarym puchem na skutek szybkiego wzrostu grzybni powietrznej.

Gloeosporium fructigenum zjawia się w przechowalni wcześniej niż *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album*, a na odmianach jesiennych występuje często już w okresie zbiorów.

Gloeosporium fructigenum bardzo rzadko poraża liście i pędy jabłoni. W starszych opracowaniach (S i e m i a s z k o 1929) można spotkać wzmianki o występowaniu tego grzyba na pędach. W literaturze współczesnej przyjęty jest pogląd, że w Europie grzyb ten występuje jako pasożyt jabłoni tylko na owocach, natomiast w Ameryce północnej poraża także pędy powodując brunatnienie i obumieranie kory (C o r k e 1956, G r a m and W e b e r 1951, B u t l e r and J o n e s 1949, W a l k e r 1957, A n d e r s o n 1956, W i l k i n s o n 1954). Przeprowadzone własne próby nad sztuczną inokulacją liści nie dały pozytywnych rezultatów.

OBSERWACJE FIZJOGRAFICZNE NAD GRZYBAMI POWODUJĄCYMI GORZKĄ ZGNILIZNĘ JABŁEK W POLSCE

M a t e r i a ł i m e t o d y k a. Wstępne obserwacje fizjograficzne rozpoczęto w roku 1957 od wyizolowania — w formie czystych kultur — grzybów powodujących gorzką zgniliznę jabłek. Obserwacje te przeprowadzono w Zakładach Naukowo-Badawczych Instytutu Sadownictwa w Sinołęce, w Nowej Wsi, w Brzeznej oraz w Skierniewicach. Uzyskane w formie czystych kultur i oznaczone gatunki grzybów zostały porównane z kulturami otrzymanymi z Commonwealth Mycological Institute w Londynie oraz z Instytutu Sadownictwa w East Malling i zidentyfikowane jako *Gloeosporium perennans* Z e l l. et C h i l d s (*Pezicula malicorticis* (J a c k s) N a n n f.) i *Gloeosporium album* O s t e r w. (*Pezicula alba* sp. nov.). W okresie wstępnych badań nie uzyskano ścisłych cyfrowych wyników określających rozpowszechnienie poszczególnych gatunków, stwierdzono tylko, że w przechowalni w Skierniewicach gatunkiem występującym powszechnie na późnych odmianach jabłek był *Gloeosporium perennans*, w Nowej Wsi i w Brzeznej *Gloeosporium album*, a w Sinołęce występowały oba gatunki w podobnym nasileniu. W okresie wstępnych obserwacji nie znaleziono grzyba *Gloeosporium fructigenum* jako przyczyny gorzkiej zgnilizny jabłek.

W latach 1958 i 1959 przeprowadzono metodyczne obserwacje na terenie całej Polski. Obiektem obserwacji były jabłka w przechowalniach Zakładów Naukowo-Badawczych Instytutu Sadownictwa, Centrali Ogrodniczej oraz terenowych punktów skupu owoców. Obserwacje przeprowadzono w następujących miejscowościach reprezentatywnych:

Zakład Naukowo-Badawczy I.S w Sinołęce powiat Węgrów.

Zakład Naukowo-Badawczy I.S Nowa Wieś powiat Grójec.

Przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Grójcu.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Puławach.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Sandomierzu.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Limanowej.

Zakład Naukowo-Badawczy I.S. w Brzeznej.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej we Wrocławiu.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Łodzi.

Przechowalnia Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach.

Zakład Instytutu Sadownictwa w Dąbrowicach k.Skierniewic.

Przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Poznaniu.

Punkt skupu i przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Olszynie k.Gdańska.

Przechowalnia Centrali Ogrodniczej w Szczecinie.

Obserwacje przeprowadzono w dwóch sezonach, od listopada 1958 r. do lutego 1959 r. oraz od października 1959 r. do stycznia 1960 r. W drugim sezonie obserwacje zakończono wcześniej na skutek wcześniejszego wystąpienia gorzkiej zgnilizny i znacznie krótszego okresu przechowywania jabłek niż w latach poprzednich. Wielkość próbki chorych owoców zależała od nasilenia choroby i wahała się od 50 do 100 owoców. Oznaczanie grzyba przeprowadzano w pracowni Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach lub w miejscu pobierania próbki. Ze względu na dużą różnorodność odmian przechowywanych jabłek, częste pomieszanie odmian w przechowalniach i trudności ich zidentyfikowania, wyniki obserwacji podane są zbiorowo dla wszystkich odmian. Odmianami najczęściej spotykanymi w przechowalniach były: „Malinowa Oberlandzka”, „Landsberska”, „Boiken”, „Jonathan”, „Cesarz Wilhelm”, „Królowa Renet” i „Kronselska”.

W y n i k i i w n i o s k i. Wyniki obserwacji przeprowadzonych w latach 1958/59 i 1959/60 przedstawione są w tabeli 1.

Przedstawione wyniki wskazują na powszechne występowanie grzybów *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* jako przyczyn gorzkiej zgnilizny jabłek w Polsce. *Gloeosporium fructigenum*, uważany niesłusznie za główny czynnik chorobotwórczy (Ochrona Roślin 1956), występował stosunkowo rzadko. W większości punktów obserwacyjnych w ogóle nie znaleziono tego grzyba, natomiast w miejscach, gdzie wystąpił (Puławy, Sandomierz, Poznań i Szczecin), nigdy nie stanowił on głównej przyczyny gorzkiej zgnilizny. *Gloeosporium fructigenum* występował głównie na odmianie „Cesarz Wilhelm”.

Na podstawie uzyskanych rezultatów można stwierdzić, że nie ma istotnych różnic w etiologii gorzkiej zgnilizny jabłek w Polsce i w krajach Europy zachodniej i że gatunki *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* stanowią główny czynnik chorobotwórczy.

TABELA 1 — TABLE 1

Występowanie grzybów *Gloeosporium perennans*, *Gl. album* i *Gl. fructigenum* jako przyczyny gorzkiej zgnilizny jabłek w latach 1958/59 i 1959/60 w różnych częściach Polski

The occurrence of *Gloeosporium perennans*, *Gl. album* and *Gl. fructigenum* as a cause of bitter rot of apples in the years 1958/59 and 1959/60 in different parts of Poland

Miejscowość reprezentatywna Representative locality	Procent owoców wykazujących makroskopowe objawy gorzkiej zgnilizny spowodowanej przez grzyby: * Percentage of fruits showing macroscopic symptoms of bitter rot caused by:					
	<i>Gloeosporium perennans</i>		<i>Gloeosporium album</i>		<i>Gloeosporium fructigenum</i>	
	1958/59	1959/60	1958/59	1959/60	1958/59	1959/60
Sinówka	28,8	61,0	71,2	39,0	0,0	0,0
Nowa Wieś	33,7	34,2	66,3	65,8	0,0	0,0
Grójec	70,1	49,0	29,9	51,0	0,0	0,0
Puławy	19,0	45,6	73,3	52,3	7,7	2,1
Sandomierz	34,0	—	49,0	—	17,0	—
Limanowa	37,8	79,9	62,2	21,1	0,0	0,0
Brzezna	11,6	—	89,4	—	0,0	—
Wrocław	—	45,2	—	54,8	—	0,0
Łódź	—	78,0	—	22,0	—	0,0
Skierniewice	63,7	82,4	36,3	17,6	0,0	0,0
Dąbrowice	72,0	55,1	28,0	44,9	0,0	0,0
Poznań	41,2	61,3	43,8	32,9	15,0	5,8
Olszynka (Gdańsk)	71,0	56,6	29,0	43,4	0,0	0,0
Szczecin	53,0	74,1	29,1	11,2	17,9	14,7

ROZWÓJ GRZYBÓW NA POŻYWKACH

Celem badań nad rozwojem trzech grzybów na pożywkach sztucznych było porównanie ich cech morfologicznych i fizjologicznych oraz opracowanie metod hodowli zapewniających duże ilości zarodników do sztucznych zakażeń.

Technika wyosobnienia grzybów

Zastosowana technika wyosobnienia była jednakowa dla wszystkich grzybów i nie stwarzała większych trudności. Kultury pierwotne otrzymano zarówno z porażonych owoców, jak i pędów. Zebrany materiał w postaci gnijącego jabłka lub pędów i sęczków umieszczano w wilgotnej kamerze

Ryc. 3. Dziesięciodniowe kultury grzybów:

Cultures of fungi 10 days after inoculation:

1—2 *Gloeosporium perennans*; 3—4 *Gloeosporium album*; 5—6 *Gloeosporium fructigenum*

w temperaturze 14—18°C. W warunkach tych acervulus pokrywał się śluzowatym skupieniem zarodników konidialnych, które przenoszono na pożywkę agarową. Do pierwotnych izolacji zastosowano pożywkę agarowo-brzeczkową zawierającą 2% suchej masy brzeczki. Spośród trzech badanych grzybów *Gloeosporium fructigenum* należał do szybko rosnących i łatwo zarodnikujących na pożywkach, natomiast *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* rosły powoli i zarodnikowały tylko w ściśle określonych warunkach.

Wpływ temperatury na wzrost grzybów na pożywkach

Metody badań. Hodowlę grzybów prowadzono w szalkach Petriego o średnicy 9 cm, na pożywce agarowo-brzeczkowej zawierającej 4% suchej masy brzeczki. W każdszalce znajdowało się 15 ml pożywki. W ramach doświadczenia badano rozwój grzybów w temperaturach 7°, 10°, 13°, 16°, 19°, 22°, 25°, 28°, 31° i 34°C. Warunki termostatyczne o temperaturze poniżej 22°C uzyskano w termostatach ustawionych w kamerze chłodniowej. Doświadczenie obejmowało 30 kombinacji (trzy gatunki grzybów w dziesięciu temperaturach). Każda kombinacja reprezentowana była na 25 szalkach,

z której to ilości pobierano co siedem dni pięć szalek do szczegółowego opisu i pomiarów. Każdy z trzech gatunków zaszczerpiony został na 250 szalkach. Pożywki szczepiono zarodnikami w jednym punkcie, materiał do inokulacji pobierano z poprzednio przygotowanych czystych kultur. Obserwacje prowadzono przez pięć tygodni. Ponieważ głównym celem badań było określenie wpływu temperatury na wzrost grzybów, jako zasadnicze obserwacje wykonano pomiary średnicy rosnącej kultury oraz oznaczano stałą wagę grzybni, którą suszono w suszarce próżniowej w temperaturze 80°C po zdjęciu z rozpuszczonej pożywki i wypłukaniu w gorącej wodzie. Obie metody obserwacji uzupełniały się nawzajem, należy jednak podkreślić, że metoda pomiaru średnicy kultury ma charakter orientacyjny, podczas gdy oznaczanie wagi suchej grzybni pozwala na określenie wzrostu w sposób bardziej ścisły.

W y n i k i b a d a ń. Szczegółowe wyniki badań przedstawione są w tabelach 2, 3 i 4. Z przedstawionych rezultatów wynika, że grzyb *Gloeosporium perennans* wykazywał najlepszy wzrost w temperaturze 19°. W temperaturze 16° wzrost był lepszy niż przy 22°, w temperaturze 25° wzrost był częściowo, a w temperaturze 28° całkowicie zahamowany.

Wpływ temperatury na wzrost grzyba *Gloeosporium album* był podobny, najlepszy wzrost uzyskano przy temperaturze 19°, następnie 16°, jednak grzyb ten lepiej znosił temperatury wyższe.

Gloeosporium fructigenum różnił się wyraźnie od poprzednich gatunków. Najlepszy wzrost stwierdzono przy temperaturze 25°, a następnie 22°. Temperatura 28° była również bliska optimum i dopiero przy 31° wystąpiło wyraźne zahamowanie rozwoju. Wyniki te są zgodne z rezultatami uzyskanymi w 1915 roku przez E d g e r t o n a, który stwierdził, że optymalna temperatura dla stadium konidialnego grzyba *Glomerella cingulata* waha się w granicach 23—29° (A r n a u d 1931).

Uzyskane wyniki potwierdzają pogląd, że grzyby *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* należą do grzybów niskich temperatur i łatwiej przystosowują się do warunków panujących w przechowalni lub chłodni. Właściwość ta jest jednym z czynników tłumaczących ich częste występowanie na owocach w przechowalni. *Gloeosporium fructigenum*, pomimo występowania pod postacią licznych form fizjologicznych i zdolności do spowodowania szybko rozwijającej się zgnilizny owoców jest mniej szkodliwy w przechowalni. Grzyb ten znacznie gorzej rozwija się w niskich temperaturach i nie stanowi dla przechowywanych owoców takiego niebezpieczeństwa, jak dwa poprzednie gatunki.

Przeprowadzone w ramach doświadczenia obserwacje nad zarodnikowaniem grzybów wykazały, że tylko *Gloeosporium fructigenum* zarodnikował

obficie tworząc pojedynczy, duży acervulus lub ich skupienie w centrum kultury. Grzyby *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* formowały tylko pojedyncze sporodochia z nielicznymi zarodnikami.

TABELA 2 — TABLE 2

Wzrost grzyba *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs w różnych temperaturach określony przez średnią wartość średnicy kultury i średnią masę grzybni wysuszonej do stałej wagi

The growth of *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs in different temperatures determined as average diameter of the culture and average weight of dried mycelium

Temperatura Temperature Wiek kultury Age of the culture		7°	10°	13°	16°	19°	22°	25°	28°	31°	34°
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	6,0	7,5	8,0	9,5	11,2	8,1	7,0	0*	0	0
	masa w mg weight in mg	0,6	1,9	3,2	3,5	5,0	3,7	2,3	0	0	0
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	11,2	13,2	18,6	23,0	26,4	22,8	14,2	2,0	0	0
	masa w mg weight in mg	6,7	10,5	20,1	31,5	32,6	23,8	20,6	1,7	0	0
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	16,2	19,4	21,1	36,5	39,0	34,0	15,2	2,2	0	0
	masa w mg weight in mg	13,4	19,9	34,8	44,1	56,1	43,5	17,4	1,6	0	0
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	22,3	29,4	35,0	43,8	50,1	30,2	20,5	2,2	0	0
	masa w mg weight in mg	29,5	52,0	61,5	82,4	140,2	72,2	24,6	2,0	0	0
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	33,1	43,3	50,0	62,0	75,4	49,1	21,0	2,4	0	0
	masa w mg weight in mg	66,8	101,5	108,4	135,2	233,9	104,2	31,2	1,8	0	0

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t = 0,05$ wynosi dla średniej wartości średnicy 2,1, a dla średniej masy wysuszonej grzybni 7,2.

The lowest significant difference for $t = 0.05$ is for average value of diameter 2.1 and for average weight of dried mycelium 7.2.

* Brak wzrostu grzybni.

No growth of the mycelium

TABELA 3 — TABLE 3

Wzrost grzyba *Gloeosporium album* O s t e r w. w różnych temperaturach, określony przez średnią wartość średnicy kultury i średnią masę grzybni wysuszonej do stałej wagi

The growth of *Gloeosporium album* O s t e r w. in different temperatures determined as average diameter of the culture and average weight of dried mycelium

Temperatura Temperature		7°	10°	13°	16°	19°	22°	25°	28°	31°	34°
Wiek kultury Age of the culture											
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	6,0	8,0	10,2	10,7	12,1	8,0	8,0	0	0	0
	masa w mg weight in mg	1,4	1,7	3,9	4,1	7,9	6,9	0,7	0	0	0
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	13,1	18,1	23,7	24,5	27,8	18,2	17,0	8,0	0	0
	masa w mg weight in mg	14,3	25,0	28,0	39,9	50,7	35,0	27,6	6,9	0	0
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	16,2	22,2	27,5	34,4	35,0	26,2	21,8	12,4	0	0
	masa w mg weight in mg	17,8	21,0	35,0	45,2	55,2	49,1	39,2	11,2	0	0
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	24,1	29,6	35,3	37,4	42,0	28,1	22,0	15,3	0	0
	masa w mg weight in mg	52,9	74,1	100,1	109,3	127,8	84,3	41,0	11,1	0	0
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	37,1	40,8	43,5	47,1	61,9	36,2	31,4	17,0	0	0
	masa w mg weight in mg	57,8	70,9	106,3	111,7	132,1	98,2	42,0	12,3	0	0

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t = 0,05$ wynosi dla średnicy 3,0, a dla masy wysuszonej grzybni 11,4.

The lowest significant difference for $t = 0,05$ is for average value of diameter 3.0 and for average weight of dried mycelium 11.4.

TABELA 4 — TABLE 4

Wzrost grzyba *Gloeosporium fructigenum* Berk. w różnych temperaturach określony przez średnią wartość średnicy kultury i średnią masę grzybni wysuszonej do stałej wagi

The growth of *Gloeosporium fructigenum* Berk. in different temperatures determined as average diameter of the culture and average weight of dried mycelium

Temperatura Temperature Wiek kultury Age of the culture		7°	10°	13°	16°	19°	22°	25°	28°	31°	34°
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	15,0	18,1	24,2	32,7	43,1	43,5	50,8	39,2	6,0	0
	masa w mg weight in mg	4,7	9,9	15,5	28,9	42,0	42,3	61,4	27,7	2,3	0
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	19,0	34,2	48,2	77,0	90,0	90,0	90,0	80,0	10,0	0
	masa w mg weight in mg	24,9	59,7	91,6	284,8	326,5	335,5	341,5	316,5	21,3	0
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	32,1	43,5	64,8	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	13,0	0
	masa w mg weight in mg	54,4	88,5	126,7	288,0	343,7	386,2	391,0	352,8	24,3	0
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	43,8	66,1	75,2	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	17,0	0
	masa w mg weight in mg	87,2	171,5	132,2	324,6	361,0	394,5	403,8	353,1	31,3	0
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	67,2	84,1	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	24,1	0
	masa w mg weight in mg	145,6	220,5	324,4	416,8	420,8	410,2	424,3	382,7	74,3	0

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t = 0,05$ wynosi dla średnicy 2,9, a dla masy wysuszonej grzybni 23,1.

The lowest significant difference for $t = 0,05$ is for average value of diameter 2.9 and for average weight of dried mycelium 23.1.

Wpływ składu pożywki na rozwój grzybów

Metodyka badań. Celem badań było określenie najlepszych pożywek dla poszczególnych grzybów, umożliwiających ich łatwe wyizolowanie i hodowlę. Hodowla prowadzona była w szalkach Petriego o średnicy 9 cm w temperaturze 19° dla grzybów *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* oraz 25° dla *Gloeosporium fructigenum*. W każdej szalce znajdowało się 15 ml pożywki agarowej. Ogółem wypróbowano osiem pożywek półsyntetycznych. Pożywki były następujące:

1. Pożywka Czapka według Ainsworth i Bisby (1950) zawierająca:

azotanu sodu	2	g
jednozasadowego fosforanu potasu	1	g
chlorku potasu	0,5	g
siarczanu magnezu	0,5	g
siarczanu żelaza	0,01	g
sacharozy	30	g
agaru	20	g
wody destylowanej	1000	ml

2. Pożywka według Czapka z glukozą zamiast sacharozy.

3. Pożywka według Czapka z maltozą zamiast sacharozy.

4. Pożywka wg Czapka ze skrobią rozpuszczalną zamiast sacharozy.

5. Pożywka ziemniaczana ze skrobią rozpuszczalną, w ilości 10 g, zawierająca wywar z 600 g obranych i gotowanych ziemniaków oraz 20 g agaru na 1000 ml wody.

6. Pożywka brzezkowa zawierająca 2% suchej masy brzezki oraz 2% agaru.

7. Pożywka brzezkowa zawierająca 6% suchej masy brzezki i 2% agaru.

8. Pożywka brzezkowa zawierająca 18% suchej masy brzezki i 2% agaru.

Wszystkie pożywki były sterylizowane w autoklawie w temperaturze 116°C w ciągu 20 minut. Poszczególne pożywki nie różniły się wyraźnie kwasowością, która wynosiła od pH 6,5 do pH 7,0. Pożywki klarowano przez dekantację. Doświadczenie obejmowało ogółem 24 kombinacje (3 grzyby na 8 pożywkach), każda kombinacja reprezentowana była na 10 szalkach. Hodowlę prowadzono przez pięć tygodni, a wyniki doświadczenia zbierano przez pomiar średnicy kultury i oznaczanie stałej wagi suchej grzybni. Wagę grzybni oznaczano dwukrotnie, za każdym razem na pięciu szalkach każdej kombinacji.

Wyniki i wnioski. Szczegółowe wyniki przedstawione są w tabelach 5, 6 i 7. Równocześnie zastosowanie dwóch metod określania wzrostu wykazało, jak niecisła może być metoda pomiaru średnicy kultury przy ho-

dowli grzybów tworzących zbite skupienia grzybni bez tendencji do pokrywania całej powierzchni pożywki. Fakt ten ilustrują przedstawione rezultaty, z których wynika, że po 21 dniach średnice kultur *Gloeosporium perennans* na pożywkach zawierających 2% i 6% suchej masy brzoźki wynosiły 34,3 mm i 32,7 mm, a wagi suchej grzybni 76,6 mg i 187,1 mg.

Na pożywce zawierającej 6% s.m. brzoźki grzyb wytwarzał bardzo obfitą lecz zbitą grzybnę zarówno powietrzną, jak i przerastającą agarowo-brzożkowe podłoże. Waga suchej grzybni, wytwarzanej na tej pożywce, była przeszło dwukrotnie większa od wagi grzybni na innych pożywkach.

Oceniając poszczególne pożywki należy stwierdzić, że wszystkie one nadawały się do hodowli grzyba. Nie stwierdzono różnicy we wzroście *Gleo-*

TABELA 5 — TABLE 5

Wpływ składu pożywki na wzrost grzyba *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs przy temperaturze 19°C

The influence of the composition of the medium on the growth of *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs at 19°C

Pożywka Medium		Czapka z sa- char.	Czapka z glu- kozą	Czapka z mal- tozą	Czapka ze skro- bia roz.	Ziem- niacza- na	Brzez- kowa 2% s.m.	Brzez- kowa 6% s.m.	Brzez- kowa 18% s.m.
Wiek kultury Age of the culture		Cza- pek's with sucrose	Cza- pek's with glucose	Cza- pek's with mal- tose	Cza- pek's with starch	Potato	Malt 2% d.m.	Malt 6% d.m.	Malt 18% d.m.
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	23,1	21,0	23,2	21,1	24,6	14,0	14,2	20,1
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	35,0	32,2	30,1	33,4	33,7	23,4	24,5	25,8
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	44,2	40,1	37,5	40,3	44,8	31,3	32,7	32,6
	masa w mg weight in mg	128,7	137,9	128,4	105,3	151,8	76,6	44,0	154,9
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	54,2	51,8	46,0	47,3	51,7	43,2	44,0	43,1
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	71,1	63,4	59,2	62,3	70,3	54,4	60,2	57,3
	masa w mg weight in mg	145,0	148,5	137,1	146,2	181,2	117,8	331,3	182,6

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t = 0,05$ wynosi dla średnicy 2,0, a dla masy wysuszonej grzybni 10,3.

The lowest significant difference for $= 0,05$ is for average value of diameter 2,0 and for average weight of dried mycelium 10,3.

sporum perennans na skutek stosowania różnych źródeł węgla w pożywce Czapka, jak również większej przydatności powszechnie stosowanej pożywki, zawierającej 2% suchej masy brzożki i pożywki ziemniaczanej od pożywki Czapka opartej na składnikach mineralnych. Biorąc za kryterium oceny masę wytworzonej grzybni, za najlepszą należy uznać pożywkę zawierającą 6% suchej masy brzożki. Na żadnej z pożywek nie stwierdzono zarodnikowania grzyba poza wytwarzaniem pojedynczych zarodników na brzegach kultury.

Grzyb *Gloeosporium album* reagował wyraźnie na skład pożywki. Przyrost grzybni był znacznie intensywniejszy na pożywkach agarowo-brzożkowych niż na pożywkach typu Czapka. Spośród czterech przebadanych źródeł węgla w pożywce Czapka, najlepszym okazała się skrobia rozpuszczalna, a najgorszym glukoza. Sacharoza i maltoza zajmowały miejsce pośrednie.

TABELA 6 — TABLE 6

Wpływ składu pożywki na wzrost grzyba *Gloeosporium album* Osterw. przy temperaturze 19° C

The influence of the composition of the medium on the growth of *Gloeosporium album* Osterw. at 19° C

Pożywka Medium Wiek kultury Age of the culture		Czapka z sa- charozą Cza- pek's with sucrose	Czapka z glu- kozą Cza- pek's with glucose	Czapka z mal- tozą Cza- pek's with mal- tose	Czapka ze skro- bią roz. Cza- pek's with starch	Ziem- niacza- na Potato	Brzoż- kowa 2% s.m. Malt 2% d.m.	Brzoż- kowa 6% s.m. Malt 6% d.m.	Brzoż- kowa 18% s.m. Malt 18% d.m.
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	10,0	8,1	12,3	16,4	21,4	21,3	16,2	17,0
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	12,3	10,1	15,1	21,3	25,8	26,4	25,1	24,1
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	15,1	12,0	18,2	23,4	30,2	33,1	31,7	34,8
	masa w mg weight in mg	28,6	15,3	36,0	51,5	84,2	96,9	163,0	325,6
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	24,0	17,1	23,7	24,7	40,3	45,8	45,0	50,7
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	30,2	23,4	26,3	27,1	44,4	47,3	59,7	63,8
	masa w mg weight in mg	99,1	54,4	90,0	112,4	126,4	114,1	284,3	310,8

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t=0,05$ wynosi dla średnicy 3,0, a dla masy wysuszonej grzybni 11,4.

The lowest significant difference for $t=0,05$ is for average value of diameter 3.0, and for average weight of dried mycelium 11.4.

Gloeosporium album okazał się w przeciwieństwie do *Gloeosporium perennans* grzybem rozwijającym się doskonale na pożywkach zawierających silnie skoncentrowane źródła węgla. Ilustracją tego jest waga suchej grzybni na pożywce zawierającej 18% suchej masy brzezki. Na pożywce tej grzybnia tworzyła gruby, zbity kożuch. Różnice w średnicy kultur i wadze suchej grzybni zaznaczały się coraz wyraźniej w miarę przedłużania hodowli i dlatego należy tłumaczyć je nie tylko różną przydatnością składników odżywczych, ale także ich szybszym wyczerpywaniem się na pożywkach mniej skoncentrowanych.

Spośród badanych pożywek tylko pożywki agarowo-brzezkowe, agarowo-ziemniaczaną i pożywkę Czapka ze skrobią rozpuszczalną można uznać za nadające się dla celów izolacji pierwotnej i hodowli grzyba *Gloeosporium album*.

TABELA 7 — TABLE 7

Wpływ składu pożywki na wzrost grzyba *Gloeosporium fructigenum* Berk. przy temperaturze 25° C

The influence of the composition of the medium on the growth of *Gloeosporium fructigenum* Berk. at 25°C

Pożywka Medium		Czapka z sa- charozą	Czapka z glu- kozą	Czapka z mal- tozą	Czapka ze skro- bią roz.	Ziem- niacza- na	Brzez- kowa 2% s.m.	Brzez- kowa 6% s.m.	Brzez- kowa 18% s.m.
Wiek kultury Age of the culture		Cza- pek's with sucrose	Cza- pek's with glucose	Cza- pek's with mal- tose	Cza- pek's with starch	Potato	Malt 2% d.m.	Malt 6% d.m.	Malt 18% d.m.
7 dni days	średnica w mm diameter in mm	48,2	54,1	47,9	29,6	47,1	54,3	52,7	43,8
14 dni days	średnica w mm diameter in mm	74,2	80,2	75,3	45,2	72,1	86,6	87,2	73,5
21 dni days	średnica w mm diameter in mm	90,0	90,0	90,0	82,3	90,0	90,0	90,0	90,0
	masa w mg weight in mg	137,4	134,9	123,6	112,8	119,7	115,8	187,4	411,7
28 dni days	średnica w mm diameter in mm	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0
35 dni days	średnica w mm diameter in mm	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0	90,0
	masa w mg weight in mg	190,8	180,0	163,4	154,5	142,4	139,3	282,9	524,0

Najmniejsza udowodniona różnica dla $t = 0,05$ wynosi dla średnicy 2,2, a dla masy wysuszonej grzybni 17,2.

The lowest significant difference for $t = 0.05$ is for average value of diameter 2.2, and for average weight of dried mycelium 17.2.

W przeciwieństwie do poprzednich grzybów *Gloeosporium fructigenum* bardzo szybko rozrastał się na pożywce i po trzech tygodniach grzybnia pokrywała całą jej powierzchnię. Już w pierwszym tygodniu hodowli na wszystkich pożywkach w centrum kultury zjawiały się owocniki pokryte śluzowatym, pomarańczoworóżowym skupieniem zarodników konidialnych. Grzyb wytwarzał obfitą grzybnę powietrzną barwy ciemnoszarej. Najlepszy wzrost grzybnii stwierdzono na pożywce silnie skoncentrowanej, zawierającej 18% suchej masy brzezki. Wszystkie zastosowane pożywki nadawały się do hodowli grzyba. Najlepsze zarodnikowanie konidialne obserwowano na pożywce Czapka ze skrobią rozpuszczalną i na pożywce agarowo-ziemniaczanej.

Przeprowadzone obserwacje porównawcze nad rozwojem na pożywkach sztucznych grzybów *Gloeosporium perennans*, *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum*, wykazały różnice w właściwościach fizjologicznych badanych grzybów. Kultury *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* były podobne, wzrost ich był dosyć powolny, natomiast obficie wytwarzały zbitą, puszystą grzybnę powietrzną, która u *Gloeosporium perennans* miała barwę białoszarą, a u *Gloeosporium album* białą. Obfite zarodnikowanie występowało sporadycznie na pojedynczych szalkach dopiero po 7—9 tygodniach. Acervulus formował się w obu wypadkach na podłożu stromatycznym i pokrywał się gęstą wydzieliną stanowiącą skupienie zarodników. O ile na owocach i pędach śluzowate skupienia zarodników konidialnych miały identyczny wygląd u obu grzybów, to na pożywkach różniły się wyraźnie. U grzyba *Gloeosporium perennans* posiadały one zabarwienie jasniejsze, a u *Gloeosporium album* kremowe.

METODY HODOWLI ZAPEWNIAJĄCE DOBRE ZARODNIKOWANIE GRZYBÓW

Opracowanie metod hodowli, które zapewniłyby dobre zarodnikowanie, stało się konieczne ze względu na przewidziane doświadczenia infekcyjne. Według danych z literatury (Edney 1956) grzyby *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* należą do bardzo słabo zarodnikujących na pożywkach. Przeprowadzone badania tylko częściowo potwierdziły ten pogląd. Zarodnikowanie obu grzybów było istotnie słabe przy zastosowaniu ogólnie przyjętych metod hodowli polegających na inokulacji pożywki w jednym punkcie i przechowywaniu kultur przez cały czas w tej samej temperaturze. Grzyb *Gloeosporium fructigenum* zarodnikował bardzo dobrze w tych warunkach i dlatego nie przeprowadzano nad nim dodatkowych badań.

W poszukiwaniu odpowiednich metod hodowli grzybów *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* zwrócono uwagę na trzy czynniki; na temperaturę, skład pożywki i sposób jej szczepienia. Równoczesne badanie tych trzech czynników stwarzało konieczność wykonania bardzo licznych prób

i objęło 232 różne kombinacje. W tych warunkach trudno było potraktować wszystkie próby jako metodyczne doświadczenia z odpowiednią ilością powtórzeń. Próby te obejmowały partie kultur po 10 probówek w każdej kombinacji i dopiero po stwierdzeniu, że w pewnej kombinacji miało miejsce bardzo dobre zarodnikowanie, powtarzano ją w tych samych warunkach w 20 probówkach.

Badając wpływ temperatury na zarodnikowanie zwrócono główną uwagę na czas trwania okresu inkubacji po zaszczepieniu pożywki. W wyniku badań stwierdzono, że dla obu grzybów temperatura inkubacji nie powinna przekraczać 22°C, a czas jej trwania 3 dni. Po tym okresie zaszczepione pożywki powinny być przeniesione do temperatury od 6 do 12°C. Najlepsze zarodnikowanie uzyskano po skróceniu okresu inkubacji do 12 godzin lub umieszczeniu pożywek w temperaturze 6—12°C bezpośrednio po zaszczepieniu.

Uzyskanie dobrego zarodnikowania wymagało niezależnie od temperatury zastosowania odpowiedniej metody szczepienia pożywki. Metoda ta polegała na umieszczeniu na pożywce inokulum w formie zawiesiny zarodników, którą rozprowadzano na całej powierzchni pożywki, a nadmiar inokulum spływał na dno probówki. Inokulację przeprowadzano przy pomocy pipety umieszczając w każdej probówce 0,2 ml zawiesiny zawierającej od 100 000 do 400 000 zarodników w 1 ml. W wyniku takiego szczepienia na powierzchni pożywki rozwijały się liczne kultury jednozarodnikowe zlewające się po kilku dniach w zwartą warstwę grzybni i gęsto formujących się owocników. Na pożywkach szczepionych zawiesiną zarodników, lecz umieszczanych na dłuższy okres w temperaturze powyżej 12°C, grzyby nie zarodnikowały, natomiast dobrze rozwijały grzybnię powietrzną. Optymalne warunki dla zarodnikowania, dotyczące temperatury i sposobu szczepienia, były podobne dla obu grzybów, natomiast wymagania ich co do składu pożywki były różne. *Gloeosporium perennans* zarodnikował najlepiej na pożywce agarowej, zawierającej niewielkie ilości brzezki w granicach od 1% do 2% w przeliczeniu na suchą masę brzezki, oraz na pożywkach zawierających wyciąg z liści jabłoni pewnych odmian („Cortland”, „McIntosh”, „Koksa Pomarańczowa”) w ilości 20 g roztartych świeżych liści na 1000 ml pożywki agarowo-brzezkowej zawierającej 1—2% s.m. brzezki. Na 10 ml takiej pożywki umieszczonej w formie skośnej w probówce, zaszczepionej zawiesiną zarodników i umieszczonej w temperaturze 9°C, po uprzednim okresie inkubacji w temperaturze 18°C w ciągu 24 godzin, uzyskiwano przeciętnie po pięciu tygodniach 650 000 000 zarodników z jednej probówki, a po trzech miesiącach ilość ta przekraczała 1 miliard zarodników z jednej probówki. Ilości zarodników uzyskane z jednej probówki obliczano przez zmywanie ich 10 ml wody. Otrzymaną zawiesinę rozcieńczano do 100 ml. Z zawiesiny tej pobierano dwadzieścia próbných kropli, w których obliczano ilość zarodników przy użyciu ka-

mery Bürkera. Uzyskane wyniki przeliczano na ilość zawiesiny zawierającej zarodniki z jednej próbówki.

Gloeosporium album zarodnikował najlepiej na pożywce agarowo-brzezkowej zawierającej 5% suchej masy brzezki z dodatkiem 2% skrobi rozpuszczalnej. Równie dobra była pożywka agarowo-brzezkowa o tym samym stężeniu z dodatkiem 0,5% ekstraktu drożdżowego. Najlepsze zarodnikowanie uzyskano po zaszczepieniu tych pożywek zawiesiną zarodników i umieszczeniu w temperaturze 6—12°C. Pierwsze skupienia zarodników zjawiały się już po 14 dniach, a po czterech tygodniach z jednej próbówki uzyskiwano średnio 1 250 000 000 zarodników. Największą ilość zarodników uzyskiwano po 3 miesiącach, ilość ta dochodziła do 3 miliardów.

W przeciwieństwie do *Gloeosporium perennans* grzyb *Gloeosporium album* zarodnikował dość dobrze na pożywkach szczepionych grzybnią lub zarodnikami w jednym punkcie, ale pierwsze skupienia zarodników zjawiały się dopiero po 2—3 miesiącach.

ŹRÓDŁA INFЕКCJI W SADZIE

Krótki przegląd literatury

Poznanie źródeł infekcji jest jednym z podstawowych warunków opracowania skutecznej metody walki z chorobą. Pomimo wieloletnich badań nad biologią grzybów, powodujących gorzką zgniliznę jabłek, źródła infekcji nie są jeszcze dokładnie poznane (Wilkinson 1954, Ort 1956, Gunthrie 1957). Nie wyjaśniona jest także rola stadium workowego grzybów *Glomerella cingulata*, *Pezicula malicorticis* i *Pezicula alba* w rozwoju choroby. Niedostateczna znajomość biologii grzybów, powodujących gorzką zgniliznę, utrudnia wyjaśnienie takich zjawisk, jak występowanie choroby na owocach z poszczególnych drzew lub z pojedynczych sadów, pomimo wyrównanych warunków uprawy, doboru odmian i ochrony. Większość autorów uważa, że główne źródła infekcji stanowią te części korony drzewa, na których udało się znaleźć zarodnikujące formy grzybów (Wilkinson 1954, Corke 1956, Gunthrie 1957, Walker 1957, Montgomery 1958). Przeważnie są to formy konidialne, stosunkowo rzadko występują apothecia *Pezicula malicorticis* lub perithecia *Glomerella cingulata*. Opinia co do drugorzędnej roli stadium workowego tych grzybów jest zgodna (Gunthrie 1957, Edney 1956, Siemaszko 1929). Pomimo licznych obserwacji nad zarodnikowaniem konidialnym grzybów, powodujących gorzką zgniliznę jabłek, Ort (1956) uważa, że wyniki tych obserwacji nie tłumaczą tak powszechnego występowania gorzkiej zgnilizny, jak to ma miejsce w ciągu ostatnich lat w Europie zachodniej. Zależność pomiędzy porażeniem

pędów i owoców gnijących później w przechowalni wykazały liczne doświadczenia nad wycinaniem ran zgorzelinowych oraz usuwaniem martwych części gałęzi i sęczków z tym, że uzyskane rezultaty były przeciwne od zamierzonych. Owoce z „oczyszczonych” drzew były znacznie silniej porażone przez gorzką zgniliznę (Gunt hrie 1957, Oort 1956, Corke 1956). Zjawisko to zostało wyjaśnione w wyniku szczegółowych obserwacji nad rezultatami cięcia. Powstające po cięciu rany porażane były przez *Gloeosporium perennans*, który doskonale rozwijał się i zarodnikował na nowym podłożu. Odkazanie licznych drobnych ran powstających po usunięciu gałęzi i sęczków dawało znikome rezultaty.

Obserwacje nad źródłami infekcji w warunkach polskich

Pomimo wielu wspólnych cech występujących u trzech badanych grzybów, zagadnienie źródeł infekcji może być rozpatrywane wspólnie tylko dla *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album*.

Gloeosporium perennans i *Gloeosporium album*. Jednym ze źródeł infekcji najłatwiejszym do zaobserwowania są rany zgorzelinowe na pędach, na których *Gloeosporium perennans* często zarodnikuje tworząc acervulus. Poza tym oba grzyby żyją saprofitycznie na martwych sęczkach i na korzeniach tworząc liczne skupienia zarodników konidialnych. Zarodnikowanie grzybów dostrzegalne jest przy obserwacji makroskopowej. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że po umieszczeniu w mokrej kamerze materiału zebranego z drzew na powierzchni pędów i sęczków pojawiają się liczne sporodochia oraz skupienia zarodników pokrywające niewidoczny poprzednio acervulus umieszczony w zagłębieniach kory. Okres inkubacyjny porażonych pędów i sęczków bywa bardzo różny. Pierwsze skupienia zarodników mogą się zjawić już po kilkunastu godzinach, inne dopiero po kilku tygodniach. Po wyjęciu pędów lub sęczków z mokrej kamery acervulus lub sporodochia szybko wysychały, traciły pierwotny kształt i stawały się trudne do rozpoznania.

W przeprowadzonych badaniach zwrócono uwagę na terminy występowania form zarodnikujących grzybów na żywych i martwych częściach korony oraz na ilości powstających zarodników. Wstępne obserwacje, przeprowadzone w Sadzie Pomologicznym Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach na jabłoniach odmiany „Cortland” wykazały, że *Gloeosporium perennans* poraża najczęściej zamierające sęczki, sakwy owocowe lub wierzchołki przyciętych, jednorocznych pędów. *Gloeosporium album* występował przeważnie na martwych lub zamierających sakwach owocowych. Poza tym znaleziono nieliczne rany zgorzelinowe na starszych pędach porażonych przez *Gloeosporium perennans* oraz konidialne formy obu grzybów na korze starszych gałęzi. Z czterech jabłoni pobierano co miesiąc próbki po 500 zamierających sęczków i skrawków kory, które umieszczano w wilgotnej kamerze w tempe-

Ryc. 4. Grzyb *Gloeosporium perennans* zarodnikujący na sęczkach i martwej korze
Gloeosporium perennans sporing on branch stubs and dead bark
 (Photo. East Malling Research Station 1957)

TABELA 8 — TABLE 8

Procent porażonych przez *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* sęczków, sakw owocowych i skrawków kory w okresie od lutego do grudnia 1958 r.

Percentage of branch stubs, spurs and of bark preparations attacked by *Gloeosporium perennans* and *Gloeosporium album* at the period from February to December 1958

Data zebrania próbki Date of the samples	<i>Gloeosporium perennans</i>		<i>Gloeosporium album</i>	
	po 24 godz. after 24 hrs.	po 15 dniach after 15 days	po 24 godz. after 24 hrs.	po 15 dniach after 15 days.
15. II	1,7	6,8	2,5	12,4
15. III	0,0	2,7	0,0	4,2
14. IV	0,0	1,5	1,8	3,7
16. V	0,0	0,0	1,2	1,5
15. VI	0,0	1,7	0,8	2,3
15. VII	0,0	0,5	0,0	1,0
15. VIII	0,0	0,5	0,0	0,0
15. IX	0,0	6,1	1,3	2,0
17. X	2,4	11,8	0,3	17,2
15. XI	0,0	2,3	0,0	4,8
15. XII	0,0	0,3	0,0	2,0

raturze 10°C. Próbkę przeglądano dwukrotnie, po 24 godzinach i po 15 dniach. Pierwszą próbkę pobrano 15 lutego, a ostatnią 15 grudnia 1958 r. Wyniki obserwacji przedstawione są w tabeli 8.

Ilość zarodników konidialnych na jednym sęcisku dochodziła do 22 milionów dla *Gloeosporium perennans* i do 80 milionów dla *Gloeosporium album*.

Żaden z grzybów nie powodował zgnilizny owoców w sadzie; spotykano wprawdzie opadłe pojedyncze młode zawiązki owocowe, na których rozwijał się *Gloeosporium perennans* lub *Gloeosporium album*, jednak nigdy nie znaleziono ich na mumiach owocowych powstałych w wyniku porażenia wyrośnię-

Ryc. 5. Grzyb *Gloeosporium album* zarodnikujący na martwej sakwie owocowej

Gloeosporium album sporing on dead fruit sac.

(Photo. East Malling Research Station 1957)

tych już jabłek. Wyniki przeprowadzonych obserwacji pozwalają przypuszczać, że *Gloeosporium perennans* występuje w sadzie najczęściej jako saprofit na martwych częściach pędów oraz jako pasożyt na młodych pędach. *Gloeosporium album* rozwija się niemal wyłącznie na martwych częściach pędów, najczęściej na martwych sakwach owocowych, które stanowiły 69% materiału, na którym znaleziono zarodnikujący grzyb. Obserwacje te częściowo są zgodne z danymi z literatury, z tym że w badaniach przeprowadzonych w Anglii i w Holandii (Edney 1956, Wilkinson 1954, Oort 1956, Corke 1956) w mniejszym stopniu podkreśla się rolę form saprofitycznych obu grzybów jako źródeł infekcji, przywiązując główną wagę do ran zgorzelinowych. Nie dziwnego, że przy takim ujęciu zagadnienia niezro-

zumiałe staje się powszechne występowanie zgnilizny spowodowanej przez grzyb *Gloeosporium album* (O o r t 1956).

Gloeosporium fructigenum. Grzyb ten niesłusznie uważany za główną przyczynę gorzkiej zgnilizny owoców w Polsce występował znacznie rzadziej na jabłkach w przechowalni, natomiast znaleziony został kilkakrotnie w sadzie na dojrzewających owocach odmian jesiennych. Przeprowadzone obserwacje nad zrakowaceniami i ranami zgorzelinowymi pędów nie potwierdziły poglądu jakoby grzyb ten należał u nas do pasożytów pędów i gałęzi (S i e - m a s z k o 1929), natomiast obserwowano go często na martwych częściach gałęzi. Obok martwych części korony drzewa, główne źródło infekcji stanowić mogą mumie owocowe. Mumie te były nieliczne, jednak ilość zarodników konidialnych, jaka na nich powstawała była ogromna. W listopadzie 1958 roku obserwowano w okresie wilgotnej pogody słuzowate skupienia zarodników ściekające w formie kropli z wiszących mumii. W porównaniu ze stadium konidialnym, stadium workowe występowało bardzo rzadko. Obserwowano je kilkakrotnie zarówno na mumiach owocowych, jak i na pędach. Rozwój poszczególnych otoczni nie był równomierny. Liczne spośród nich wykształcały dojrzałe zarodniki workowe jesienią 1958 roku, inne dopiero wiosną następnego roku, gdy z pierwszych otoczni nie zostało już śladu, a na podłożu stromatycznym, na którym one powstawały, rozwijało się wtórnie zarodnikowanie konidialne. Zarodnikowanie workowe obserwowano tylko w miesiącach jesiennych i wiosennych, podczas gdy zarodnikowanie konidialne miało miejsce przez cały rok, a nasilenie jego zależało przede wszystkim od temperatury i wilgotności powietrza.

DOŚWIADCZENIA INFEKCYJNE

Krótki przegląd literatury

Przebieg infekcji owocu doprowadzającej w rezultacie do jego zgnilizny został stosunkowo najlepiej zbadany u grzyba *Gloeosporium perennans* dzięki pracom E d n e y a (1956, 1958). Dotychczasowe wiadomości o początkowej fazie choroby są niekompletne, odnosi się to zwłaszcza do grzybów *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum*. Trzy gatunki grzybów, powodujące gorzką zgniliznę jabłek, różnią się nie tylko budową morfologiczną i cechami fizjologicznymi, ale także patogenicznością w stosunku do owoców jabłoni.

E d n e y (1958) w przeprowadzonych doświadczeniach wykazał, że *Gloeosporium perennans* jest szczególnie groźny, jeżeli infekcja nastąpi bezpośrednio przed zbiorem. Autor ten uważa, że o wystąpieniu zgnilizny spowodowanej przez *Gloeosporium perennans* decydują trzy podstawowe warunki: przebieg infekcji w sadzie, odporność odmianowa i warunki przechowywania

(E d n e y 1958). Głównym przedmiotem badań E d n e y a był rozwój grzyba na owocach w okresie poprzedzającym zbiór. Badacz ten stwierdził, że *Gloeosporium perennans* może infekować owoce w sposób czynny. Zarodniki kielkując tworzą appressorium i strzępka rostkowa przebija skórę owocu, jednak ten sposób infekcji nie ma, według E d n e y a, większego znaczenia w praktyce. Decydujące znaczenie ma przerastanie strzępek grzybni przez pęknięcia warstwy korkowej przetchlinek. Nie uszkodzona warstwa korka w miejscu przetchlinki stanowi dla strzępki rostkowej przeszkodę nie do przebycia, pomimo to E d n e y uważa, że formowanie na niej appressorium odgrywa dużą rolę w infekcji, ponieważ przytwierdzone do cienkiej warstwy korka daje początek strzępcie, która nie może wprawdzie przebić podłoża, jednak rozrastając się na jego powierzchni może natrafić na pęknięcia i szczeliny. Okres od momentu infekcji do wystąpienia zgnilizny określa E d n e y jako fazę utajonego rozwoju grzyba, czyli inkubacji, która może trwać przez wiele miesięcy i przyjmuje, że o odporności niedojrzałych owoców decydują czynniki biochemiczne.

Zasób naszych wiadomości o przebiegu infekcji u grzybów *Gloeosporium fructigenum*, a zwłaszcza *Gloeosporium album*, jest znacznie mniejszy. W świetle badań przeprowadzonych w Europie zachodniej *Gloeosporium fructigenum* mógłby być uważany na jabłkach za typowego pasożyta ran. Pogląd ten uznany jest przez wielu autorów (Wilkinson 1954, Butler and Jones 1949).

Polowe doświadczenie infekcyjne — I

M a t e r i a ł i m e t o d y k a d o ś w i a d c z e n i a. Doświadczenia infekcyjne z grzybami *Gloeosporium perennans*, *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum* przeprowadzono w latach 1958—1959 w Sadzie Pomologicznym Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach na jabłoniach odmiany „Cortland”, która wykazuje dużą wrażliwość na porażenie przez gorzką zgniliznę.

Doświadczenie miało 16 kombinacji zróżnicowanych pod względem terminu inokulacji oraz użytego do inokulacji owoców gatunku grzyba. Poniżej przedstawione jest zestawienie kombinacji doświadczenia:

1. Kombinacja kontrolna z dnia 28 czerwca.
2. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium perennans* w dniu 28.VI.
3. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium album* w dniu 28.VI.
4. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium fructigenum* w dniu 28.VI.
5. Kombinacja kontrolna z dnia 6 sierpnia.
6. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium perennans* w dniu 6.VIII.
7. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium album* w dniu 6.VIII.

8. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium fructigenum* w dniu 6.VIII.
9. Kombinacja kontrolna z dnia 12 września.
10. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium perennans* w dniu 12.IX.
11. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium album* w dniu 12.IX.
12. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium fructigenum* w dniu 12.IX.
13. Kombinacja kontrolna z dnia 8 października.
14. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium perennans* w dniu 8.X.
15. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium album* w dniu 8.X.
16. Owoce zakażane zarodnikami *Gloeosporium fructigenum* w dniu 8.X.

W metodyce doświadczenia zwrócono szczególną uwagę na ustawienie czynników kontrolnych ze względu na przewidywaną dużą zmienność wyników na skutek wpływu warunków zewnętrznych. Każda kombinacja kontrolna reprezentowana była na 200 owocach, a kombinacje z zakażanymi jabłkami na 100 owocach. Poszczególne owoce były etykietowane. Próbką 100 owoców była dostatecznie duża dla zebrania porównywalnych wyników; z ilości tej do okresu zbiorów zawsze pozostawało ponad 50 owoców nadających się do przechowywania.

Do doświadczenia wybrano pięć dobrze owocujących, trzydziestoletnich jabłoni odmiany „Cortland”. Kombinacje kontrolne reprezentowane były na 40 owocach na każdym drzewie, a kombinacje z zakażanymi jabłkami na 20 owocach każdego drzewa. Drzewa objęte doświadczeniem zostały opryskane dwukrotnie przed kwitnieniem przeciwko parchowi jabłoniowemu, po kwitnieniu nie przeprowadzano żadnych opryskiwań.

Inokulację owoców przeprowadzono w terminach 28 czerwca, 6 sierpnia, 12 września i 8 października, bezpośrednio po zbiorze. Do inokulacji użyto zawiesin zarodników zawierających po 3 mln zarodników w 1 ml. Na jeden owoc zużywano przeciętnie 0,2 ml inokulum, które rozprowadzano przy pomocy szklanego pulweryzatora. Zarodniki do inokulacji pobierano z kultur na pożywkach. Przed inokulacją sprawdzano kiełkowanie zarodników. Kiełkowanie zarodników było zawsze bardzo dobre i przekraczało u wszystkich grzybów 65% w wodzie wodociągowej oraz 98% w 2-procentowym roztworze glukozy.

Owoce objęte doświadczeniem zostały zebrane 8 października i umieszczone najpierw w kamerze chłodniowej o temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ i wilgotności względnej powietrza 87—91%. W okresie zbiorów nie stwierdzono na inokulowanych owocach występowania gorzkiej zgnilizny. Owoce przechowywano w chłodni do 15 grudnia, po czym — w celu przyspieszenia ich dojrzewania — przeniesiono do kamery termostatycznej o temperaturze 13°C i wilgotności względnej powietrza 73—78%. W tych warunkach owoce bardzo szybko dojrzewały. Oznaczenie porażenia owoców przez gorzką zgniliznę przeprowadzono dwukrotnie w dniu 30 grudnia 1958 i 12 lutego 1959 r.

TABELA 9 — TABLE 9

Porażenie owoców w dniu 30 grudnia 1958 r. w wyniku sztucznego zakażenia jabłek w sadzie

Infection of fruits at December 30, 1958 as a result of artificial infections of apples in the orchard

Kombinacja doświadczenia Experimental combination		Liczba owoców No. of fruits		Liczba owoców porażonych przez grzyby Number of fruits attacked by:											
		inokulowa- nych inocu- lated	zebra- nych collec- ted	Gloeosporium perennans		Gloeosporium album		Gloeosporium fructigenum		inne grzyby other fungi		razem owoców porażonych total of attacked			
				liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%		
Kontrolna Control	28.VI	200	131	0	0	3	2,3	0	0	0	0	0	0	3	2,3
	6.VIII	200	184	1	0,5	2	1,1	0	0	0	0	1	0,5	4	2,1
	12.IX	200	196	1	0,5	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	3	1,5
	48.X	200	200	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Gloeosporium perennans	28.VI	100	77	12	15,6	0	0	0	0	0	0	0	0	12	15,6
	6.VIII	100	90	17	18,9	0	0	0	0	0	0	1	1,1	18	20
	12.IX	100	95	25	26,3	0	0	0	0	0	0	0	0	25	26,3
	8.X	100	100	37	37	0	0	0	0	0	0	1	1	38	38
Gloeosporium album	28.VI	100	66	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	2	3
	6.VIII	100	92	0	0	1	1,1	0	0	0	0	0	0	1	1,1
	12.IX	100	99	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	4	4
	8.X	100	100	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Gloeosporium fructigenum	28.VI	100	77	0	0	1	1,3	0	0	0	0	0	0	1	1,3
	6.VIII	100	95	0	0	0	0	3	3,2	0	0	0	3	3	3,2
	12.IX	100	95	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,1	1	1,1
	8.X	100	100	0	0	0	0	4	4	0	0	3	3	7	7

TABELA 10 — TABLE 10

Porażenie owoców dnia 12 lutego 1959 r. w wyniku sztucznego zakażenia jabłek w sadzie
 Infection of fruits at February 12, 1959 as a result of artificial infections of apples in the orchard

Kombinacja doświadczenia Experimental combination		Liczba owoców No. of fruits		Liczba owoców porażonych przez grzyby: Number of fruits attacked by:									
Gatunek grzyba Species of fungus	data inokulacji date of inoculation	inokulo- wanych inocu- lated	zebra- nych collec- ted	<i>Gloeosporium</i> <i>perennans</i>		<i>Gloeosporium</i> <i>album</i>		<i>Gloeosporium</i> <i>fructigenum</i>		inne grzyby other fungi		razem owoców porażonych total of attacked	
				liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%
Kontrolna Control	28.VI 6.VIII 12.IX 8.X	200	131	7	5,3	5	3,8	1	0,8	3	2,3	16	12,2
		200	184	1	0,5	6	3,3	3	1,6	1	0,5	11	5,9
		200	196	3	1,5	2	1,0	2	1,0	2	1,0	7	3,5
		200	200	0	0	4	2,0	1	0,5	5	2,5	10	5,0
<i>Gloeosporium</i> <i>perennans</i>	28.VI 6.VIII 12.IX 8.X	100	77	67	87,0	0	0	0	0	2	2,6	69	89,6
		100	50	88	97,8	0	0	0	0	0	0	88	97,8
		100	95	95	100	0	0	0	0	0	0	95	100
		100	100	100	100	0	0	0	0	0	0	100	100
<i>Gloeosporium album</i>	28.VI 6.VIII 12.IX 8.X	100	66	0	0	0	0	0	0	2	3,0	2	3,0
		100	92	1	1,1	1	1,1	0	0	6	6,5	8	8,7
		100	99	0	0	3	3,0	0	0	2	2,0	5	5,0
		100	100	2	2,0	1	1,0	2	2,0	3	3,0	8	8,0
<i>Gloeosporium</i> <i>fructigenum</i>	28.VI 6.VIII 12.IX 8.X	100	77	0	0	5	6,5	3	3,9	4	5,2	12	15,6
		100	95	0	0	2	2,1	3	3,2	4	4,2	9	9,5
		100	95	2	2,1	2	2,1	4	4,2	4	4,2	12	12,6
		100	100	1	1,0	0	0	5	5,0	3	3,0	9	9,0

W y n i k i d o ś w i a d c z e n i a. Obserwacje mikroskopowe nad rozwojem grzybów na powierzchni skórki po inokulacji wykazały duże różnice pomiędzy trzema badanymi gatunkami grzybów. Zarodniki *Gloeosporium fructigenum* kielkując wytwarzały przeważnie appressorium. Przytwierdzone do skórki zarodniki i rozwijająca się grzybnia były bardzo trudne do splukania. Grzybnia rosnąca na powierzchni owocu początkowo rzadka, lecz widoczna pod mikroskopem przy dokładnej obserwacji, po czterech tygodniach była bardzo trudna do wykrycia. Zjawisko szybkiego rozwoju grzybni po inokulacji, a następnie jej zamierania obserwowano po wszystkich terminach inokulacji. W dwa miesiące po inokulacji można było znaleźć na skórce pojedyncze zarodniki, nie stwierdzono jednak obecności grzybni.

Gloeosporium album nie wytwarzał appressorium, natomiast grzybnia rozrastała się bardzo intensywnie pokrywając skórę owocu gęstą siatką. Największą ilość grzybni obserwowano w pięć do ośmiu dni po inokulacji, po czym stwierdzono stopniowe jej obumieranie.

Gloeosporium perennans rozwijał się początkowo podobnie jak *Gloeosporium album*, ale oprócz gęstej siatki grzybni obserwowano na skórce nieliczne, małe appressoria. Szczegółowe obserwacje skórki owoców przeprowadzone w kilka dni po inokulacji owoców w dniu 12 września wykazały obecność rozgałęzionych strzępek grzybni w miejscu przetchlinek. Nie udało się wprowadzić zidentyfikować gatunków grzybów, do których grzybnia ta należała, ale zjawisko to obserwowano tylko na owocach inokulowanych zarodnikami *Gloeosporium perennans*.

Szczegółowe wyniki doświadczenia przedstawione są w tabelach 9 i 10. Wyniki te wskazują na wybitną patogeniczność grzyba *Gloeosporium perennans*, który w warunkach doświadczenia był najgroźniejszym pasożytem. Rezultaty uzyskane w kombinacjach kontrolnych są zgodne z obserwacjami nad przyczynami gnicia jabłek w przechowalni w Skierniewicach. Straty jabłek na skutek zgnilizny stanowiły ogółem na próbkach kontrolnych 6,5%, w tym straty spowodowane przez poszczególne grzyby były następujące: *Gloeosporium perennans* 2,5%, *Gloeosporium album* 1,9%, *Gloeosporium fructigenum* 0,7%, inne grzyby 1,5%. Należy jednak zaznaczyć, że cyfry te odnoszą się do pierwotnej przyczyny gnicia oraz do owoców pozbawionych jakichkolwiek uszkodzeń. Na wielu owocach porażonych początkowo przez inne grzyby rozwijała się wtórnie zgnilizna spowodowana przez pędzlaki.

Sztuczne zakażenia owoców przeprowadzone zarodnikami *Gloeosporium perennans* w końcu lata i bezpośrednio po zbiorze powodowały porażenie 100% owoców. Inokulacja nie uszkodzonych owoców na dwa miesiące przed zbiorem powodowała porażenie 97,8% owoców, a inokulacja przeprowadzona 28 czerwca na trzy i pół miesiąca przed zbiorem spowodowała zgniliznę 87,0% owoców. Termin inokulacji nie miał wpływu na termin wystąpienia pierwszych objawów gorzkiej zgnilizny. Objawy te, w postaci małych plam

gnilnych przy przetchlinkach, zjawily się dopiero 23 grudnia, gdy owoce uzyskiwały dojrzałość konsumpcyjną. Pomiedzy poszczególnymi kombinacjami wystapily różnice w ilości plam gnilnych na owocach. Ilość ta była największa na jabłkach inokulowanych po zbiorze oraz 12 września i dochodziła do 78 plam na jednym owocu.

Sztuczne zakażanie owoców zarodnikami *Gloeosporium album* nie dawało żadnych rezultatów i ilość owoców porażonych przez ten grzyb była podobna do ilości w kombinacji kontrolnej.

Zakażanie owoców zarodnikami *Gloeosporium fructigenum* spowodowało gorzką zgniliznę pojedynczych jablek. Ilość porażonych jablek we wszystkich kombinacjach inokulowanych zarodnikami tego grzyba wyniosła 4,0%, a na próbkach kontrolnych 0,7%. Nie stwierdzono jednak wpływu terminu inokulacji na ilość porażonych owoców. Plamy gnilne powstawały przeważnie w miejscu drobnych uszkodzeń skórki. Przeprowadzone obserwacje własne potwierdziły opinię G a l u c c i - R a n g o n e (1957), że grzyb *Gloeosporium fructigenum* może infekować jabłka tylko przez uszkodzoną skórke, przy czym dużą rolę odgrywają drobne uszkodzenia powodowane przez owady.

Polowe doświadczenie infekcyjne — II

M a t e r i a ł i m e t o d y k a d o ś w i a d c z e n i a. Doświadczenie to, przeprowadzone również w 1958 r. w Skierniewicach, miało charakter uzupełniający; celem jego było również porównanie patogeniczności trzech gatunków grzybów, zastosowano jednak odmienną metodkę. Do doświadczenia wybrano pięć trzydziestoletnich, dobrze owocujących jabłoni odmiany „Cortland”. W dniu 28 września, na dwanaście dni przed zbiorem owoców, drzewa opryskano zawiesiną zarodników badanych grzybów. Inokulum użyte w doświadczeniu zawierało w 1 ml po 200 000 zarodników konidialnych grzybów *Gloeosporium perennans*, *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum*. Zastosowanie inokulum stanowiącego mieszaninę zarodników trzech grzybów pozwoliło na porównanie patogeniczności w identycznych warunkach. Inokulację drzew przeprowadzono przy pomocy opryskiwacza pneumatycznego „Vermorel”, zużywając na każde drzewo 5 litrów inokulum. W ten sposób każde drzewo zostało zakażone jednym miliardem zarodników każdego z badanych grzybów. W dniu 10 października zebrano owoce. Z plonu z każdego drzewa pobrano próbkę 200 owoców (ok. 25 kg) i umieszczono najpierw w chłodni w temperaturze +4°C, a w końcu grudnia przeniesiono do kamery termostatycznej o temperaturze +13°C i wilgotności względnej powietrza 73—78%, gdzie owoce szybko dojrzewały i wystąpiły na nich objawy chorobowe.

W y n i k i d o ś w i a d c z e n i a. Uzyskane rezultaty są bardzo charakterystyczne i uzupełniają wyniki poprzedniego, szczegółowego doświad-

czenia. Już w połowie stycznia na owocach zaczęły pojawiać się pierwsze objawy gorzkiej zgnilizny. Obraz makroskopowy plam wskazywał na *Gloeosporium perennans* lub *Gloeosporium album* jako przyczynę zgnilizny. Szczegółowy przegląd owoców przeprowadzono w dniach 3—5 lutego 1959 r. Z ogólnej próbki 1000 jabłek wyodrębniono:

- 768 owoców porażonych przez *Gloeosporium perennans*,
- 48 owoców porażonych przez *Gloeosporium album*,
- 72 owoce porażone przez *Gloeosporium fructigenum*,
- 86 owoców porażonych przez inne grzyby,
- 25 owoców zdrowych.

Owoce wykazujące objawy gorzkiej zgnilizny, na których grzyb nie zarodnikował, umieszczano w wilgotnej kamerze, gdzie w ciągu kilku lub kilkunastu dni występowało zarodnikowanie konidialne. Przeprowadzone doświadczenia połowe potwierdziły pogląd o wybitnej patogeniczności grzyba *Gloeosporium perennans*.

Doświadczenia laboratoryjne

Metodyka doświadczeń. Doświadczenia laboratoryjne nad sztucznymi zakażeniami owoców miały na celu porównanie patogeniczności trzech badanych gatunków grzybów i stwierdzenie ich zdolności do infekowania owoców uszkodzonych i nie uszkodzonych. Materiał doświadczenia stanowiły dojrzałe jabłka odmiany „Cortland”.

Owoce po inokulacji umieszczane były w wilgotnych kamerach o objętości 5 L w temperaturze 15°C. Inokulum przygotowywano w postaci zawiesiny zarodników pobieranych z kultur na pożywkach lub z porażonych owoców. W 1 ml inokulum znajdowało się 3 000 000 zarodników. Inokulację owoców przeprowadzano w dwojaki sposób, z uszkodzeniem skórki i bez uszkodzenia. W pierwszym wypadku nacinano delikatnie skalpelem skórkę i w miejscu nacięcia umieszczano kawałek waty nasycony zawiesiną zarodników. W drugim wypadku postępowano podobnie umieszczając watę z inokulum na skórcie nie uszkodzonej.

Spśród czystych kultur *Gloeosporium fructigenum* wyizolowanych z różnych roślin wybrano do badań tylko formy uzyskane z owoców orzecha włoskiego i z owoców jabłoni. Formy te wykazywały największe różnice w budowie morfologicznej. Każda kombinacja doświadczenia została powtórzona na 10 owocach. Po inokulacji opisywano co 5 dni rozwój choroby.

Wyniki doświadczenia. Szczegółowe rezultaty doświadczenia przedstawione są w tabeli 11. Przeprowadzone doświadczenia laboratoryjne potwierdziły rezultaty badań polowych i wykazały dużą patogenicz-

TABELA 11 — TABLE 11

Rozwój gorzkiej zgnilizny jabłek w wyniku sztucznego zakażenia
owoców w warunkach laboratoryjnych

The development of bitter rot of apples as a result of artificial
infection in laboratory conditions

Lp. No.	Źródło inokulum i sposób zakażenia Source of inoculum and kind of infection	Średnia wielkość średnicy plamy gnilnej w mm po dniach: Average diameter of the decay spot in mm after days:				
		5	10	15	20	25
1	<i>Gl. perennans</i> , zarodniki z kultury, owoc nie uszkodzony from culture, fruit undamaged	—	2,2	8,7	18,4	26,4
2	<i>Gl. perennans</i> , zarodniki z kultury, owoc uszkodzony from culture, fruit damaged	6,1	8,3	14,3	22,1	32,0
3	<i>Gl. perennans</i> , zarodniki z jabłek, owoc nie uszkodzony from apples, fruit undamaged	—	3,2	12,8	20,1	35,3
4	<i>Gl. perennans</i> , zarodniki z jabłek, owoc uszkodzony from apples, fruit damaged	11,7	14,8	26,4	36,6	48,6
5	<i>Gl. album</i> , zarodniki z kultury owoc nie uszkodzony from culture, fruit undamaged	—	—	—	—	—
6	<i>Gl. album</i> , zarodniki z kultury, owoc uszkodzony from culture fruit damaged	3,2	6,5	11,3	16,8	20,4
7	<i>Gl. album</i> , zarodniki z jabłek, owoc nie uszkodzony from apples, fruit undamaged	—	—	—	—	—
8	<i>Gl. album</i> , zarodniki z jabłek, owoc uszkodzony from apples, fruit damaged	3,4	10,3	16,1	28,7	39,4
9	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z kultury, owoc nie uszkodzony (orzech włoski) from culture, fruit undamaged (walnut)	—	—	—	—	—
10	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z kultury, owoc uszkodzony (orzech włoski) from culture, fruit damaged (walnut)	3,3	12,4	21,8	36,4	59,2
11	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z kultury owoc nie uszkodzony (jabłko) from culture, fruit undamaged (apple)	—	—	—	—	—

TABELA 11 — TABLE 11

(c.d. — cont.)

Lp. No.	Źródło inokulum i sposób zakażenia Source of inoculum and kind of infection	Średnia wielkość średnicy plamy gnilnej w mm po dniach: Average diameter of the decay spot in mm after days:				
		1	10	15	20	25
12	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z kultury, owoc uszkodzony (jabłko) from culture, fruit damaged (apple)	2,0	8,1	16,0	22,5	37,1
13	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z jabłka, owoc nie uszkodzony from apples, fruit undamaged	—	—	—	—	—
14	<i>Gl. fructigenum</i> , zarodniki z jabłka, owoc uszkodzony from apples, fruit damaged	4,5	9,3	18,7	26,6	39,9

ność grzyba *Gloeosporium perennans*, który zdolny był do infekowania zarówno przez rany, jak i przez nie uszkodzoną skórę. Przy infekcji owoców nie uszkodzonych, objawy zgnilizny zjawiały się po 8—10 dniach, zawsze w miejscu przetchlinek i od tego momentu zgnilizna rozwijała się identycznie, jak na owocach inokulowanych w miejscu uszkodzenia skórki. Uszkodzenie skórki przyspieszało w warunkach doświadczenia wystąpienie pierwszych objawów zgnilizny o 5 do 8 dni. Zdolność do infekowania owocu i wywołania choroby wykazywał zarówno grzyb hodowany na pożywce, jak i rozwijający się na owocu, jednak po inokulacji owocu zarodnikami z jabłek pierwsze objawy choroby występowały wcześniej, a zgnilizna miąższu rozwijała się szybciej. Zjawisko to wskazuje na zmniejszenie patogeniczności grzyba *Gloeosporium perennans* hodowanego na pożywce sztucznej.

Grzyby *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum* infekowały owoce tylko po uprzednim mechanicznym uszkodzeniu skórki. Liczne próby inokulacji zarówno w miejscu przetchlinek, jak i poza nimi, bez uszkodzenia skórki, nie dawały żadnych rezultatów. *Gloeosporium album* wywoływał, po zakażeniu owocu przez ranę, zgniliznę identyczną jak *Gloeosporium perennans* i dopiero z chwilą pojawienia się pierwszych zarodników konidialnych możliwe było określenie właściwej przyczyny zgnilizny.

U grzyba *Gloeosporium fructigenum* stwierdzono pewną różnicę w patogeniczności pomiędzy formami grzyba wyizolowanymi z owoców jabłoni i orzecha włoskiego. Zgnilizna spowodowana przez formę grzyba wyizolowaną z orzecha włoskiego rozwijała się szybciej. Podobnie jak *Gloeosporium perennans* grzyby *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum* wykazywały pewne zmniejszenie patogeniczności w wyniku hodowli na pożywkach sztucznych w porównaniu z formami rozwijającymi się na jabłkach.

WYNIKI I WNIOSKI

1. W wyniku badań nad gorzką zgnilizną jabłek, przeprowadzonych w latach 1957—1960 stwierdzono, że w warunkach polskich choroba ta powodowana była najczęściej przez grzyby *Gloeosporium perennans* Z e l l. et C h i l d s [syn. *Cryptosporiopsis malicorticis* (C o r d l. N a n n f.)] i *Gloeosporium album* O s t e r w. [syn. *Phlyctaena vagabunda* D e s m.], natomiast *Gloeosporium fructigenum* B e r k. [syn. *Colletotrichum gloeosporioides* P e n z.] uważany za główną przyczynę gorzkiej zgnilizny w Polsce, występował stosunkowo rzadko.

2. Objawy chorobowe na owocach wywoływane przez grzyby *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* są identyczne i ustalenie przyczyny zgnilizny możliwe jest dopiero po badaniu mikroskopowym. Skupienia zarodników konidialnych, powstające na owocach, mają kremowoszare zabarwienie. Grzyb *Gloeosporium fructigenum* wytwarzał na gnijących jabłkach liczne owocniki konidialne, które pokrywały się skupieniami zarodników o barwie pomarańczoworóżowej; grzyb ten był bardzo łatwy do odróżnienia.

3. *Gloeosporium perennans* znaleziony został przez autora na owocach oraz na pędach, na których powodował rany zgorzelinowe. Grzyby *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum* znaleziono jako pasożyty tylko na owocach.

4. Hodowlana pożywkach wykazała duże różnice w cechach morfologicznych i fizjologicznych badanych grzybów. *Gloeosporium album* i *Gloeosporium perennans* należą do grzybów wolno rosnących na pożywkach, w przeciwieństwie do *Gloeosporium fructigenum*, który w krótkim czasie pokrywa całą powierzchnię pożywki. Optymalna temperatura dla wzrostu *Gloeosporium perennans* i *Gloeosporium album* wynosiła 19°C, a w temperaturze 16°C wzrost był lepszy niż w temperaturze 22°C. Optymalna temperatura dla *Gloeosporium fructigenum* wynosiła 25°C. Grzyb ten wyizolowany z różnych roślin gospodarzy wykazywał dużą zmienność w budowie zarodników konidialnych. Wyizolowane formy grzyba różniły się także patogenicznością w stosunku do owoców jabłoni.

5. Dla grzyba *Gloeosporium perennans* najlepsza okazała się pożywka agarowo-brzeczkowa zawierająca 6% suchej masy brzeczeki. Grzyb ten rozwijał się także dobrze na pożywkach typu Czapka, zawierających różne źródła węgla. *Gloeosporium album* rozwijał się najlepiej na pożywce silnie skoncentrowanej, zawierającej 18% suchej masy brzeczeki, natomiast na pożywkach mineralnych typu Czapka grzyb rozwijał się słabo. *Gloeosporium fructigenum* rozwijał się dobrze zarówno na pożywkach organicznych, jak i mineralnych typu Czapka. Najlepszy wzrost stwierdzono na pożywce agarowo-brzeczkowej zawierającej 18% suchej masy brzeczeki.

6. *Gloeosporium fructigenum* zarodnikował bardzo dobrze na pożywkach zapewniających najlepszy wzrost grzybni, natomiast grzyby *Gloeosporium*

perennans i *Gloeosporium album* wymagały zastosowania specjalnych metod hodowli, polegających na szczepieniu pożywki zawiesiną zarodników (100 000 — 400 000 zarodników w 1 ml) i umieszczeniu ich w temperaturze od 6 do 12°C, po krótkim okresie inkubacji w temperaturze 16—22° nie przekraczającym 24 godzin.

7. Stwierdzono, że głównymi źródłami infekcji w sadzie są dla *Gloeosporium perennans* stadia konidialne grzyba na ranach zgorzelinowych oraz forma saprofityczna rozwijająca się na sęczkach i korze. Grzyb *Gloeosporium album* obserwowany był najczęściej w formie saprofitycznej na martwych sawkach owocowych i na korze starych gałęzi. *Gloeosporium fructigenum* występował jako saprofit na korze gałęzi, na martwych sęczkach oraz na nie licznym mumiach owocowych.

8. Stadium workowe grzyba *Pezicula malicorticis* (*Gloeosporium perennans*) znajdowano sporadycznie na martwych częściach korony drzewa w listopadzie 1958 i w marcu 1959 roku. W porównaniu z powszechnie występującym stadium konidialnym, stadium workowe nie odgrywa prawdopodobnie większej roli jako źródło infekcji. Stadium workowe grzyba *Glomerella cin gulata* (*Gloeosporium fructigenum*) obserwowano stosunkowo rzadko na mumiach owocowych, stadium konidialne występowało zarówno na mumiach owocowych jak i na martwych częściach kory.

9. Zarodnikowanie konidialne grzybów *Gloeosporium album* i *Gloeosporium perennans* ulegało wahaniom w ciągu okresu wegetacji. Największe ilości form zarodnikujących obu grzybów obserwowano na koronie drzewa w miesiącach jesiennych i wiosennych.

10. Spośród trzech badanych grzybów powodujących gorzką zgniliznę jabłek *Gloeosporium perennans* wykazywał największą patogeniczność. Grzyb ten zdolny był do porażania owoców przez skórę uszkodzoną i nie uszkodzoną. Przeprowadzone badania mikroskopowe oraz obserwacje nad rozwojem objawów chorobowych, wykazały, że *Gloeosporium perennans* infekuje owoce przez przetchlinki. *Gloeosporium album* i *Gloeosporium fructigenum* zakażały owoce tylko przez rany.

11. Sztuczne inokulacje owoców w sadzie przeprowadzane od końca czerwca wykazały, że w przypadku grzyba *Gloeosporium perennans* infekcja owoców może zachodzić przez cały okres letni. Inokulacja z 28 czerwca spowodowała gorzką zgniliznę jabłek odmiany „Cortland” na 87% owoców, a inokulacje przeprowadzone w końcu lata i po zbiorze spowodowały gnicie 100% owoców. Termin inokulacji nie miał wpływu na termin wystąpienia objawów chorobowych, które występowały dopiero w okresie uzyskiwania przez owoce dojrzałości konsumpcyjnej.

12. Sztuczne inokulacje owoców zarodnikami grzyba *Gloeosporium album* nie dawały żadnych rezultatów, a u grzyba *Gloeosporium fructigenum* powodowały zgniliznę pojedynczych owoców. Przy zastosowaniu metody inoku-

lacji owoców mieszaniną zarodników trzech badanych grzybów, tylko *Gloeosporium perennans* powodował powstawanie objawów chorobowych.

13. Hodowla grzybów na pożywkach sztucznych powodowała nieznaczne zmniejszenie patogeniczności w porównaniu z formami rozwijającymi się na owocach.

*Instytut Sadownictwa
w Skierniewicach*

(Wpłynęło: dn. 22.2.1960 r.)

SUMMARY

1. The investigations on bitter rot of apples were carried out from 1957 to 1960. It was found that under conditions prevailing in Poland the rot was most often brought out by the fungi *Gloeosporium perennans* Zell. et Childs [syn. *Cryptosporiopsis malicorticis* (Cord l.) Nannf.] and *Gloeosporium album* Osterw. [syn. *Phlyctaena vagabunda* Desm.]. The fungus *Gloeosporium fructigenum* Berk. [syn. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.], usually regarded as the main cause of bitter rot in Poland, occurred relatively rarely.

2. The symptoms of disease caused by the fungi *Gloeosporium perennans* and *Gloeosporium album* were exactly the same and for identifying the species responsible for the disease microscopic examinations were necessary. Accumulations of conidia of both species forming on fruit were creamy-grey. The fungus *Gloeosporium fructigenum* formed on rotting apples conidial sporophores which were covered by accumulations of orange-pink spores. The identification of this fungus was easy.

3. *Gloeosporium perennans* was found on fruit and on shoots on which it caused necrotic wounds. *Gloeosporium album* and *Gloeosporium fructigenum* were only found as parasites of fruit.

4. Cultures of the fungi on various substrata revealed considerable morphological and physiological differences between them. *Gloeosporium album* and *Gloeosporium perennans* grew slowly, whereas *Gloeosporium fructigenum* rapidly covered the whole surface of cultures. The optimum temperature for the growth of *Gloeosporium perennans* and *Gloeosporium album* was 19°C and at 16°C growth was more rapid than at 22°C. The optimum temperature for *Gloeosporium fructigenum* was 25°C. Isolations of this fungus from various plant hosts manifested a marked variability in the structure of conidia. The various isolated forms differed also with regard to their pathogenic effect on apples.

5. It was found that the best substratum for *Gloeosporium perennans* was an agar-malt medium containing 6 per cent malt extract. The fungus also developed rapidly on various mineral substrata, of the type of Czapek's

medium, with different sources of carbon. *Gloeosporium album* grew best on a highly concentrated medium containing 18 per cent of malt extract, whereas its development on mineral substrata of the type of Czapek's medium was poor. *Gloeosporium fructigenum* developed well both on organic and mineral substrata of the type of Czapek's medium. It grew best on an agar-malt medium containing 18 per cent of malt extract.

6. *Gloeosporium fructigenum* spored very well on the media providing optimum conditions for the growth of the mycelium. The sporing of *Gloeosporium perennans* and *Gloeosporium album* necessitated a special treatment. The culture medium had to be inoculated with a suspension of spores (100 000—400 000 spores in 1 c.c.) and after incubation during not more than 24 hours at 16—22°C the temperature had to be maintained at 6 to 12°C.

7. In the case of *Gloeosporium perennans* the conidial stages on necrotic wounds and the saprophytic forms developing on branch stubs and bark were found to be the main source of infection in orchards. The fungus *Gloeosporium album* was most often observed in the saprophytic form on dead spurs sacks and on the bark of old branches. *Gloeosporium fructigenum* occurred saprophytically on the bark of branches, on dead branch stubs, and on a few mummified fruit.

8. The apothecial stage of the fungus *Pezicula malicorticis* (*Gloeosporium perennans*) was found a few times on the dead parts of the tree crown in November 1958 and March 1959. As compared to the conidial stage the apothecial stage had probably no major significance as a source of infection. The perithecial stage of *Glomerella cingulata* (*Gloeosporium fructigenum*) was rarely observed on mummified fruit, whereas the conidial stage of this fungus occurred both on mummified fruit and on the dead parts of the bark.

9. The conidial sporing of the fungi *Gloeosporium album* and *Gloeosporium perennans* varied in the course of the vegetative period. The most numerous sporing forms of both these fungi were observed in the crowns of trees during the autumn and spring months.

10. *Gloeosporium perennans* was the most pathogenic of the three fungi causing bitter rot of apples. The fungus was capable of penetrating fruit even when the skin was not damaged. Microscopic examinations and the observations of the manner in which the symptoms of the disease developed showed that *Gloeosporium perennans* infected apples through stomata. *Gloeosporium album* and *Gloeosporium fructigenum* infected fruit only through wounds.

11. Artificial inoculations of fruit in the orchard carried out from the end of June showed that in the case of *Gloeosporium perennans* infection could take place through the whole summer. The inoculation of June 28 caused bitter rot in 87 per cent apples of the Cortland variety, and fruit inoculated at the end of summer and after the harvest rotted in 100 per cent.

The symptoms of the disease appeared always when full ripeness was being reached regardless of the date of inoculation.

12. The inoculation of fruit with spores of the fungus *Gloeosporium album* was without effect and with spores of *Gloeosporium fructigenum* it caused the rotting of a few fruits only. When fruits were inoculated with a mixture of spores of the three fungi the symptoms of the disease were caused only by *Gloeosporium perennans*.

13. The cultivation of the fungi on artificial substrata slightly reduced their pathogenic virulence as compared to the forms developing on fruit.

LITERATURA

1. Ainsworth G.C. and Bisby G.R., 1950, A dictionary of the fungi, C.M.I. Kew, p. 199.
2. Anderson H.W., 1956, Diseases of fruit crops, New York, p. 67.
3. Arnaud G., 1931, Traite de Pathologie Vegetale, Paris, pp. 822—827.
4. Arx J.A., 1957, Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda, Phytopathologische Zeitschrift 29: 413—468.
5. Arx J.A., 1957, Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze, Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde, Amsterdam.
6. Arx J.A., 1958, Die „Gloeosporien“ des Kernobstes, Phytopathologische Zeitschrift 33: 108—114.
7. Arx J.A. und Müller E., 1954, Die Gattungen der amersporiem Pyrenomyceten, Bern.
8. Bolay A., 1956, Observation en Hollande de la forme parfaite du Champignon *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs, Tijdschrift over Planteziekten 62: 322—324.
9. Brooks F.T., 1953, Plant Diseases, London, p. 358.
10. Butler E.J. and Jones S.G., 1949, Plant Pathology, London, p. 728.
11. Corke A.T.K., 1954, Bitter rot of apples. Branch inoculations with *Gloeosporium perennans* and *Gloeosporium album*, Ann. Rep. of the Agri. and Hort. Res. Sta. Long Ashton Bristol, pp. 164—168.
12. Corke A.T.K., 1956, Bitter rot of apples II, saesonal variations in the development and sporulation of cankers of *Gloeosporium* spp. inoculated into apple branches, The Journal of Hort. Science, 31 (4): 272—283.
13. Edney K.L., 1956, The rotting of apples by *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs, Ann. Appl. Biol 44 (1): 113—128.
14. Edney K.L., 1958, Observations on the infections of Cox Orange Pippin apples by *Gloeosporium perennans* Zeller et Childs, Ann. Appl. Biol. 46 (4): 622—629.
15. Galucci-Rangone (Maria M.), 1956, Un infezione da *Gloeosporium fructigenum* Berk. su Mele e Pere conservate in magazzino, Ann. Spe. agr. N.S., 10,5. (R.A.M. 36: 410).
16. Gram E. and Weber A., 1951, Plant diseases, London, pp. 117—125.
17. Groom R.W. and Hall J.C., 1957, Perennial canker of pear, Plant Pathology 6 (3): 95.
18. Gunthrie E.J., 1957, A study of the dispersal of *Gloeosporium* spp. on apples, A thesis for the degree of Doctor of Philosophy, Library of the East Malling Research Station.

19. Gunthrie E.J., 1959, The occurrence of *Pezicula alba* sp. nov. and *Pezicula malicorticis*, the perfect stage of *Gloeosporium album* and *Gloeosporium perennans*, in England, Brit. Myc. Soc. Trans. 42 (4): 502—507.
20. Kienholz (J.), Ess (R), 1939, Comparative study of the apple anthracnose and perennial canker fungi, J. agric. Res. Lix, 9 (R.A.M. 20: 635).
21. Luttrell E.S., 1951, Taxonomy of the *Pyrenomyces*, Columbia.
22. Montgomery H.B.S., 1958, Effect of storage conditions on the incidence of *Gloeosporium*, rots of apple fruits, Nature, 182, pp. 737—738.
23. Nannfeldt J.A., 1932, Studien über die Morphologie und Systematik der Nicht-Lichenisierten inoperculaten Discomyceten, Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsala Ser. IV.
24. Ochrona Roślin, 1956, praca zbiorowa, Warszawa 1956, s. 479.
25. Oort A.J.P., 1956, *Gloeosporium*-vruchrot Bij Appels, Medeling der Landbouwhogeschool en de opzoe Kingsstat, 21, pp. 507—518.
26. Sharples R.O., 1959, Observations on the perfect stage of *Gloeosporium perennans* in England, Brit. Myc. Soc. Trans. 42 (4): 507—513.
27. Siemaszko W., 1929, Choroby drzew i krzewów owocowych, Warszawa.
28. Viennot-Bourgin G., 1949, Les Champignons Parasites des plantes cultivées, Paris 1949, pp. 594, 681, 1356.
29. Wilkinson E.H., 1954, Fungal rots of apples with special reference to *Gloeosporium* app. Ann. Appl. Biol. 41 (2): 354—358.
30. Wollenweber H.W. und Hochapfel H., 1949, Beiträge zur Kenntnis parasitärer und saprophytischer Pilze, IV, *Vermicularia*, *Colletotrichum*, *Gloeosporium*, *Glomerella* und ihre Beziehung zur Fruchtfäule, Zschft. Parasitenkunde 14, 181—268.