

## Z badań nad biologią grzyba *Mycosphaerella sentina* (Fuck.) Schroet.

Some biological study on *Mycosphaerella sentina* (Fuck.) Schroet.

MARIA BUDERACKA

### PRZEGLĄD LITERATURY

Jedną z ważniejszych chorób grusz jest biała plamistość liści powodowana przez *Mycosphaerella sentina* (Fuck.) Schroet. Grzyb ten w stadium konidialnym został opisany w r. 1834 przez Desmaziers (Florenzano 1946) jako *Depazea piricola*. Kilkadziesiąt lat później, tj. w r. 1869, Fuckel (Florenzano 1946) z liści grusz opisał podobnego grzyba pod nazwą *Septoria nigerrima*. Ponieważ okazało się, że obie te nazwy odnoszą się do tej samej formy grzyba, wobec tego zmieniając nazwę rodzajową ustalono ostatecznie brzmienie nazwy na *Septoria piricola* Desm.

Stadium workowe tego grzyba zostało wykryte i opisane w r. 1869 przez Fuckela (Florenzano 1946) jako *Sphaerella sentina*. Ponieważ nazwa rodzajowa *Sphaerella*, choć bez specjalnego uzasadnienia (Arx 1949), została zmieniona na *Mycosphaerella*, wobec tego Schroeter około r. 1892, opisany przez Fuckela, grzyb nazwał *Mycosphaerella sentina* (Fuck.) Schroet.

Przez długi okres uważano te dwie formy jako oddzielne gatunki. Dopiero w roku 1905 Klebaha (1918) eksperymentalnie dowiódł, że *Septoria piricola* jest stadium konidialnym *Mycosphaerella sentina*. To stwierdzenie Klebaha stało się podstawą do badań nad epidemiologią choroby powodowanej przez *Mycosphaerella sentina*, a w szczególności przyczyniło się do poznania źródła pierwotnej infekcji grusz na wiosnę.

Jedną z najważniejszych prac nad *Mycosphaerella sentina* to praca Florenzano (1946). Autor ten prześledził rozwój grzyba w jego fazie pasywnożytnej i saprofitycznej w warunkach Włoch i na tej podstawie zaproponował odpowiednie metody zwalczania.

W Szwajcarii biologią *Mycosphaerella sentina* zajmował się Müller (1951). Między innymi autor ten badał wymagania tego grzyba co do temperatury.

Zagadnienie odporności, względnie wrażliwości, poszczególnych odmian grusz w stosunku do *Mycosphaerella sentina* badali dla Niemiec W e n z e l (1935) i dla Belgii R o l l a n d (1946).

Większość autorów stwierdza, że *Mycosphaerella sentina* może porażać obok liści owoce grusz, zwłaszcza odmian wybitnie podatnych. Jedynie tylko D u g g a r (1899) w Ameryce nie zauważył porażenia owoców.

Prof. doktorowi Józefowi Kochmanowi za wiele cennych uwag i wskazówek metodycznych, jakich udzielił mi przy wykonywaniu niniejszej pracy, składam serdeczne podziękowanie.

## OBSERWACJE NAD CHOROBA I PATOGENEM

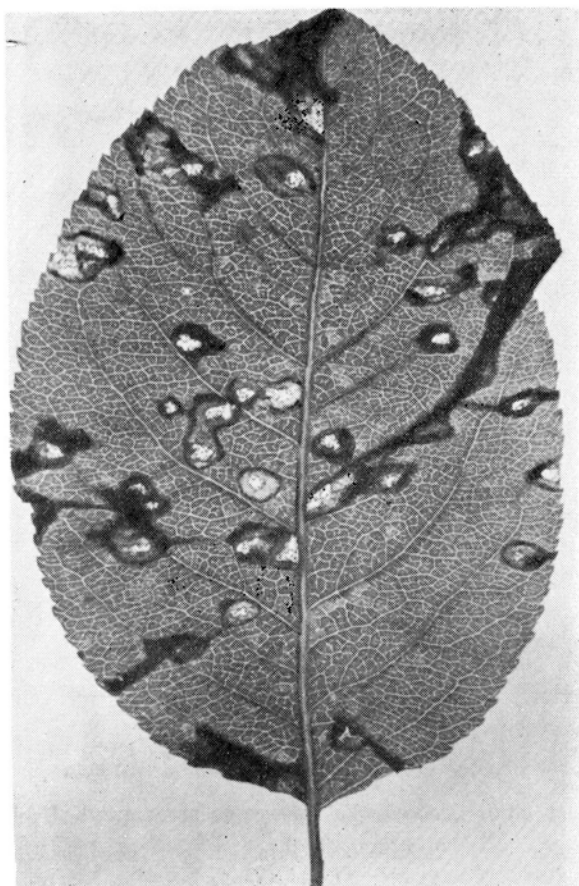
### Objawy porażenia

*Mycosphaerella sentina* poraża liście grusz w sadach oraz szkółkach i jest znany wszędzie tam, gdzie uprawiana jest grusza.

Na terenie Polski grzyb występuje pospolicie. Obok parcha powodowanego przez *Venturia pirina* jest drugim co do ważności patogenem grusz. Przy sprzyjających warunkach, tj. przy wczesnej i cieplej wiosnie, oraz przy częstych opadach letnich, grzyb może stanowić poważne niebezpieczeństwo dla sadów. Szkody powodowane przez grzyb *Mycosphaerella sentina* wyrażają się osłabieniem drzewa, co z kolei przyczynia się do zmniejszenia plonów.

Objawy chorobowe powodowane przez *Mycosphaerella sentina* występują na liściach i owocach. W lipcu na górnej stronie blaszki liściowej lub na ogonku powstają plamy małe okrągławe, o nieregularnym zarysie, początkowo brunatne, później w środku jaśniejsze, szare lub nawet białawe. W środku tych plamek widoczne są czarne, małe punkciki w ilości 5—15 będące owocnikami stadium konidialnego grzyba. Plamki te zwykle otoczone są brunatną obwódką, która może mieć też czasem barwę fioletowoczerwoną. Niekiedy plamy zlewają się razem. W późniejszym stadium rozwoju choroby zniszczona tkanka może wykruszać się, wskutek czego powstają otworki w liściach. Wielkość plam waha się w granicach 2—4 mm, a jeżeli są większe, to powstają na skutek łączenia się drobnych sąsiednich plam. Liczne nasze obserwacje wykazały, że plamy powstające w wyniku infekcji pierwotnej, tzn. na skutek zarażenia liści askosporami, są na ogół większe i ciemniejsze od plam wywołanych przez infekcję piknosporami w okresie późniejszym.

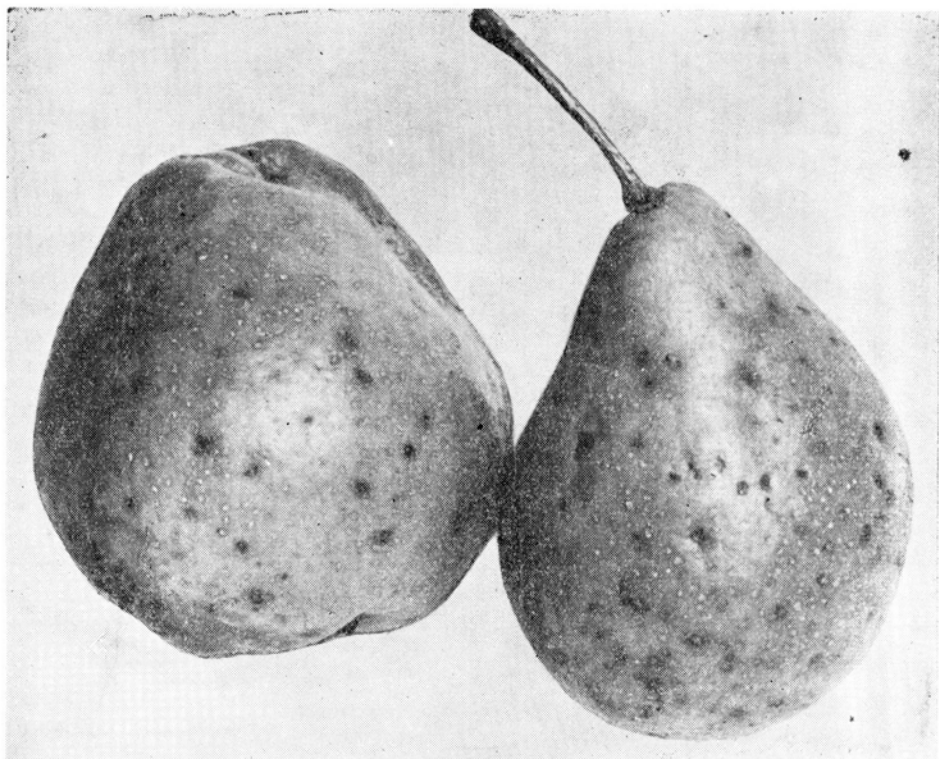
Ilość plamek na liściu jest różna i waha się od kilku do kilkudziesięciu, co zresztą zależne jest w dużym stopniu od warunków zewnętrznych. Przy częstych opadach, dość wysokiej temperaturze i przy braku przewiewu plamy mogą obejmować 50% powierzchni blaszki liściowej. W takim przypadku liście albo przedwcześnie opadają, albo stopniowo, poczynając od brzegów,



Ryc. 1. Liść gruszy odm. „Bera Hardy” porażony przez grzyb *Mycosphaerella sentina*  
Leaf of pear var. „Bera Hardy” infected by *Mycosphaerella sentina*

zasychają i pozostają na drzewie. Zdarzają się przypadki prawie całkowitej defoliacji w wyniku silnego porażenia.

Obserwacje przeprowadzone w Polsce wykazały, że w przypadku silnego rozwoju choroby również owoce odmian szczególnie wrażliwych, jak np. „Lukasówka”, mogą być porażane przez *Mycosphaerella sentina*. Na porażonych owocach powstają stosunkowo nieduże, ciemnobrunatne, wgłębione plamy, otoczone przeważnie czerwoną obwódką. Na niektórych widoczne są, zwłaszcza pod lupą, bardzo małe wzniesienia będące piknidiami grzyba. Plamy te są stosunkowo łatwe do odróżnienia od plam wywołanych przez parcha grusowego *Venturia pirina*, jako znacznie mniejsze, bardziej regularne i zazwyczaj posiadające czerwoną obwódkę.



Ryc. 2. Owoce gruszy odm. „Lukasówka” porażone przez grzyb *Mycosphaerella sentina*  
Fruits of pear var. „Lukasówka” infected by *Mycosphaerella sentina*

#### MORFOLOGIA GRZYBA

*Mycosphaerella sentina* posiada dwa stadia rozwojowe: stadium workowe i stadium konidialne. Stadium workowe grzyba ma charakter saprofityczny i rozwija się na opadłych liściach w ciągu jesieni, zimy i na wiosnę. Zaś stadium konidialne rozwija się na liściach i owocach w okresie wegetacyjnym.

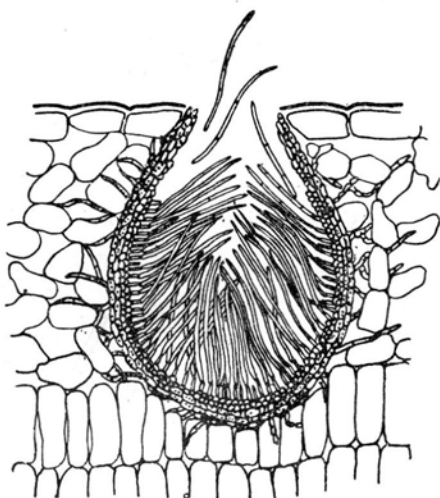
*Mycosphaerella sentina* w swej konidialnej formie tworzy w środku plamki widoczne zarówno na górnej, jak i na spodniej stronie liścia, drobne, ciemne punkciki — piknidia. Piknidia te są barwy ciemnobrunatnej, kształtu jajowatego, zwykle cokolwiek spłaszczone. Posiadają one na szczycie ujście, przez które wydostają się zarodniki konidialne. Przeprowadzone pomiary 100 piknid wykazały, że wielkość ich wynosi średnio  $97 \times 138 \mu$ , przy czym maksymalna szerokość nie przekracza  $150 \mu$ , a wysokość  $120 \mu$ , zaś minimalna szerokość wynosi  $115 \mu$ , a wysokość  $90 \mu$ . Dane pomiarów naszego materiału odpowiadają wielkościom podanym w literaturze (Floren-



z a n o 1946). Ścianki piknidiów zbudowane są z pseudoparenchymy, która tworzy wyraźną osłonkę, wyróżniającą się barwą i strukturą od miękiszu. Wnętrze piknidium wysłane jest warstwą trzoneków konidialnych, na których powstają zarodniki konidialne. Długość trzoneków konidialnych wynosi  $10\ \mu$ , zaś grubość  $1\ \mu$ . Zarodniki konidialne są bezbarwne lub cokolwiek przydymione, wydłużone, mniej lub więcej wygięte i tępo zakończone. W cy-

Ryc. 3. Przekrój przez piknidium grzyba  
*Mycosphaerella sentina*. Pow.  $300\times$

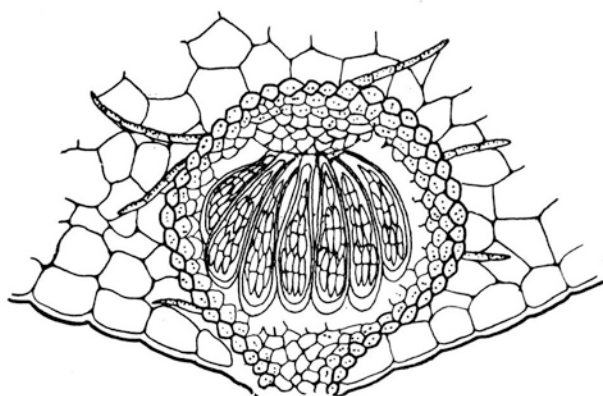
Cross section through picnidium of *Mycosphaerella sentina*.  $300\times$



toplazmie zarodników widoczne są drobne ziarnistości, wśród których wyróżniają się krople tłuszczu. Zarodniki są trójkomórkowe, a wymiary ich na podstawie przeprowadzonych 100 pomiarów wynoszą: długość  $45-55\ \mu$ , a szerokość  $2,7-3,2\ \mu$ , średnie  $51\times 3\ \mu$ .

*Mycosphaerella sentina* (F u n k.) S c h r o e t. w obrębie klasy workowców zaliczana jest do rzędu *Pseudosphaeriales*, rodziny *Mycosphaerellaceae*. Otocznie (pseudothecia) *Mycosphaerella sentina* dojrzewają i najlepiej są widoczne w kwietniu i maju. Występują one głównie na dolnej stronie przezi-mowanych liści, tworząc srebrzystoszare plamki pokryte drobnymi czarnymi punkcikami. Plamki te najczęściej ograniczone są najdrobniejszymi nerwami i występują pojedynczo lub złączone po kilka razem, tworząc większe powierzchnie. Poza tym występują one głównie wzdłuż nerwu głównego, a czasem tylko na peryferiach liścia. Otocznie *Mycosphaerella sentina* zawsze występują grupowo i dość gęsto, ale osobno, co jest cechą charakterystyczną dla podrodzaju *Mycosphaerella*.

Skupienia otoczni *M. sentina* są łatwe do odróżnienia od otoczni *Venturia pirina*, które prawie zawsze są rozrzucone, cokolwiek większe i mają zgnilozielony odcień. Dojrzałe otocznie (pseudothecia) grzyba *Mycosphaerella sen-*



Ryc. 4. Przekrój przez otocznę grzyba *Mycosphaerella sentina*. Pow. 300 ×  
Cross section through perithecial stage of *Mycosphaerella sentina*, 300 ×



Ryc. 5. Zarodniki konidialne i workowe grzyba *Mycosphaerella sentina*. Pow. 420 ×  
Conidia and ascospores of *Mycosphaerella sentina*, 420 ×

*tina* są to kuliste, brunatne utwory, które na opadłych liściach są dostrzegalne gołym okiem. Średnica otoczni mieści się w granicach 84—150  $\mu$ , średnia wielkość ze 100 pomiarów wynosi 112,5  $\mu$ . Ogólnie wymiary te odpowiadają danym z literatury (95—130  $\mu$  — Florenzano 1946). Ścianka otoczni o grubości 9—13  $\mu$  jest utworzona z 3 do 4 warstw komórek pseudo-parenchymy. Błony zewnętrznych komórek ścianki są ciemnobrunatne i zgrubiałe, a błony komórek wewnętrznych są cienkie i prawie bezbarwne. Worki w otoczni powstają w dolnej jej części i są połączone podstawami w pęczek, który utrzymuje się także po rozgnieceniu owocnika. Worki są maczugowate, cokolwiek zakrzywione i posiadają podwójną błonę. W dojrzałych workach najpierw pęka zewnętrzna błona, a nieco później wewnętrzna. Dopiero przerwanie błony wewnętrznej umożliwia uwolnienie się zarodników. Przeciętna długość worka wynosi 50—70  $\mu$ , a szerokość 10—13  $\mu$ . Najczęściej zarodniki

ułożone są w górnej części worka w dwóch rzędach, natomiast w dolnej części występują zazwyczaj tylko pojedynczo. Zarodniki workowe są wydłużone, dwukomórkowe, lekko zgięte, bezbarwne, ku końcowi cokolwiek zwężające się, tempo zakończone. Wymiary zarodników z materiału polskiego wynoszą  $3,2-3,6 \times 26-31 \mu$ . Na ogół odpowiadają one wymiarom podanym w literaturze. Średnia ze 100 pomierzonych zarodników z materiału polskiego wynosi  $3,3 \times 27 \mu$ . Strzępki grzybni stadium konidialnego rozwijające się w tkankach żywiciela są bezbarwne lub jasnobrunatne i podzielone.

### CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W badaniach nad biologią grzyba *Mycosphaerella sentina* zwrócono uwagę na:

1. Kielkowanie zarodników konidialnych i workowych grzyba.
2. Rozwój grzyba na różnych pożywkach.
3. Wpływ temperatury na wzrost grzyba.
4. Mechanizm infekcji.
5. Patogeniczność grzyba w doświadczeniach infekcyjnych szklarniowych.
6. Rozwój otoczn i wyrzut zarodników workowych.

### Kielkowanie zarodników

Müller (1951) w swych badaniach nad *Mycosphaerella sentina* uwzględnił również kielkowanie zarodników tego grzyba. Autor ten nie podaje jednak, na jakim podłożu i po upływie jakiego czasu obserwował kielkowanie zarodników, zaznacza tylko, że zarodniki workowe najlepiej, bo w 90%, kielkują w temp.  $21^{\circ}\text{C}$ . Zaś dobre kielkowanie zarodników konidialnych może przebiegać w szerszych granicach temperatur, tj. od  $9-27^{\circ}$ , przy czym ilość kielkujących zarodników wynosi 75%.

Doświadczenie nad kielkowaniem zarodników konidialnych i workowych grzyba *Mycosphaerella sentina* pochodzących z kultur przeprowadzono w wodzie zwykłej w następujących temperaturach:  $6^{\circ}$ ,  $10^{\circ}$ ,  $15^{\circ}$ ,  $20^{\circ}$ ,  $25^{\circ}$ ,  $30^{\circ}$ ,  $35^{\circ}$ . Proces kielkowania obserwowano po 12, 24 i 48 godzinach.

Kielkujące zarodniki konidialne najczęściej tworzą dwie strzępki rostkowe powstające na dwóch biegunach, a wyjątkowo może wytworzyć się trzecia z boku zarodnika. Czasem występuje tylko jedna strzępka rostkowa. Dwie lub trzy strzępki rostkowe najczęściej powstają w temperaturze  $20-25^{\circ}$ , natomiast jedną strzępkę wytwarzają zarodniki kielkujące w niższych temp., tj.  $10-15^{\circ}$ .

Zarodniki workowe kielkując tworzą zwykle jedną strzępkę rostkową, w nielicznych tylko przypadkach powstają dwie strzępki na dwóch biegunach zarodnika.

Jeżeli chodzi o wpływ temperatury na proces kielkowania zarodników *Mycosphaerella sentina*, to okazało się, że zarodniki konidialne mogą kielkować w szerszych granicach temperatury, tj. 10—25°, niż zarodniki workowe, które zaczynają kielkować dopiero w temp. 15°, przy czym optimum zarówno dla jednych, jak i drugich zarodników mieści się między 20 a 25°. W temp. 6° i powyżej 30° zarodniki konidialne i workowe grzyba *Mycosphaerella sentina*

TABELA 1 — TABLE 1

Kielkowanie zarodników konidialnych i workowych grzyba *Mycosphaerella sentina* w zależności od temperatury i czasu

Germination of conidia and ascospores of *Mycosphaerella sentina*

Temperatura Temperature	Liczba zarodników w dwóch kroplach wiszących Number of spores in two hanging drops		Liczba kielkujących zarodników Number of germinating spores						% kielkujących zarodników po 48 godz. Percentage of germinating spores after 48 hours	
			po 12 godz. after 12 hours		po 24 godz. after 24 hours		po 48 godz. after 48 hours			
			z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.		
	z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.	z. kon. conid.	z.work. ascosp.
6	21	36	—	—	—	—	—	—	—	—
10	21	—	1	—	3	—	8	—	38	—
15	41	30	2	—	7	—	11	2	26	6,6
20	21	41	2	8	9	29	14	34	66	80,5
25	66	40	9	11	13	27	49	31	74	74,5
30	35	23	1	—	1	—	1	1	2,8	—
35	32	—	—	—	—	—	—	—	—	—

nie kielkują. Uzyskane wyniki co do wpływu temp. na proces kielkowania zarodników *Mycosphaerella sentina* pokrywają się z danymi otrzymanymi przez M ü l l e r a (1951).

Zaznaczyła się również różnica w czasie rozpoczęcia kielkowania zarodników konidialnych i workowych w zależności od temperatury. Podczas gdy zarodniki konidialne po 12-godzinach kielkują już w temp. 10°, to zarodniki

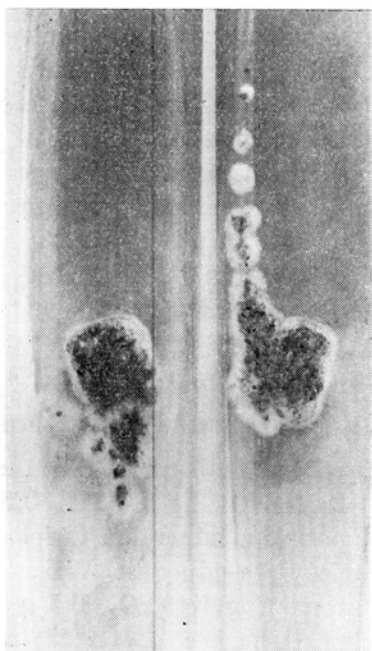
workowe po tym czasie zaczynają kielkować dopiero w temp. 20°C. Tak więc ogólnie biorąc zarodniki workowe w procesie kielkowania wykazują większe wymagania co do temperatury niż zarodniki konidialne.

### Rozwój grzyba na różnych pożywkach

Dotychczas grzyb *Mycosphaerella sentina* w sztucznych kulturach był mało badany. D u g g a r (1899) podaje, że otrzymał zarodnikujące kultury tego grzyba na sterylizowanych strąkach i pędach fasoli, a M ü l l e r (1951)

Ryc. 6 Kultura grzyba *Mycosphaerella sentina* po 14 dniach w temp. 22°

Culture of *Mycosphaerella sentina* after  
14 days at 22°



badając wpływ temperatury na rozwój tego grzyba nie podaje, na jakiej pożywie go hodował.

Kulturę grzyba *Mycosphaerella sentina* uzyskano z zarodników konidialnych i workowych. W pierwszym przypadku przeniesiono rozgniecione piknidium na wysterylizowane strąki fasoli. W drugim zaś oczyszczone i kilkanaście razy wymyte wodą wycinki liści z dojrzałymi otoczniami przytwierdzono do górnej części szalki Petriego. Uwalniające się z otoczni zarodniki workowe, padając na powierzchnię pożywki agarowo-brzeczkowej, kielkowały dając początek kulturze grzyba, którą przenoszono następnie na różne pożywki agarowe w płytkach Petriego lub w próbkach.

Grzyb *Mycosphaerella sentina* hodowano na następujących pożywkach:

agarowo-brzeczkowej (25% brzeczeki), dekstrozowo-ziemniaczanej (2% dekstrozy) oraz agarowo-mineralnych, jak pożywki: Czapka, Appela-Wollenwebera oraz Waksmana. Poza tym zaszczerpiono grzyb na ryżu, ziarnie pszenicy i płatkach owsianych. Spośród wszystkich wyżej wymienionych pożywek bardzo dobrą okazała się agarowo-brzeczkowa, na której dokonano obserwacji nad charakterem wzrostu grzyba. Należy zaznaczyć, że grzyb *Mycosphaerella sentina* w kulturach rośnie bardzo powoli. W miejscu szczepienia tworzy się delikatny, szarobiaławy nalot, w którym już po 3—6 dniach powstają czarne, nieregularne wzniesienia częściowo zagłębione w podłożu. Wzniesienia te stanowią skupienia piknidiów. Na piknidiach tych wkrótce pojawiają się czarne krople złożone z zarodników konidialnych. W miarę rozwoju kultury grzyba skupienia piknidiów powiększają się, a ich powierzchnia pokrywa się delikatnym, białym nalotem grzybni. Piknidia rozwijające się w kulturach mają mniej regularny kształt od piknidiów wytwarzanych w naturze. Zarys kolonii grzyba bywa różny i nigdy nie ma jakiegoś regularnego kształtu. Po otrzymaniu sztucznej kultury przeprowadzono badania potrzeb pokarmowych grzyba na różnych podłożach w czterech doświadczeniach. Kultury grzyba do tych doświadczeń zaszczerpiano na skosy po 10 probówek na każdy rodzaj pożywki. Kultury te umieszczano w termostacie o temp. 23°.

**D o ś w i a d c z e n i e I.** Badanie wzrostu grzyba *Mycosphaerella sentina* na różnych pożywkach.

Do doświadczenia tego wybrano następujące pożywki:

1. pożywka mineralna Czapka: 1000 ml  $H_2O$ , 20 g agaru, 30 g sacharozy, 2 g  $NaNO_3$ , 1 g  $KH_2PO_4$ , 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,05 g KCl, 0,01 g  $FeSO_4$ ,
2. pożywka mineralna Czapka: + 20 g drożdży,
3. pożywka mineralna Waksmana: 1000 ml  $H_2O$ , 10 g glukozy, 5 g peptonu, 1 g  $KH_2PO_4$ , 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 20 g agaru,
4. pożywka peptonowa: 2% peptonu + 2% agaru,
5. pożywka sacharozowa: 2% sacharozy + 2% agaru,
6. pożywka dekstrozowo-ziemniaczana — wyciąg z ziemniaków na 1 l (250 g ziemniaków na 1 l wody) + 2% dekstrozy + 2% agaru,
7. pożywka agarowo-brzeczkowa: 25% brzeczeki + 2% agaru.

Po dwudziestu dniach od daty zaszczerpienia porównano wzrost grzyba i wyniki zebrano w tabelę (tab. 2).

Jak widać z obok zamieszczonej tabeli, najlepsze okazały się trzy ostatnie pożywki, tj. agarowo-brzeczkowa, dekstrozowo-ziemniaczana i pożywka Waksmana, na których wzrost grzyba był najlepszy i najobfitsze było na nich zarodnikowanie. Na pozostałych pożywkach wzrost grzyba i zarodnikowanie były słabsze. Na pożywce sacharozowej rozwijała się bardzo obficie biała grzybnia powierzchniowa — wśród której w małej ilości tworzyły się

TABELA 2 — TABLE 2

Makroskopowy obraz kultury grzyba na różnych pożywkach  
po 20 dniach

Macroscopic appearance of the fungus on various media after 20 days

Lp. No.	Rodzaj pożywki Kind of medium	Zarodniko- wanie kultury Spore forma- tion of culture	Tworzenie powierzchnio- wej grzybni Production of aerial my- celium	Średnie wy- miary w mm kultur z 10 pomiarów* Size of culture- average from ten measu- rements
1	P. peptonowa Peptone agar	—	—	2×1,5
2	P. Czapka Czapek's medium	—	++	7×1,0
3	P. Czapka + drożdże Czapek's medium + yeast	+++	++++	11×3,0
4	P. sacharozowa Sacharose agar	+	++++	12×3,0
5	P. agarowo-brzeczkowa Maltagar	++++	+++	7,5×6,0
6	P. dekstr.-ziemniaczana Potato-dextrose agar	+++	+++	10×5,5
7	P. Waksmana Waksman's medium	+++	+++	8×6,0

O b j a ś n i e n i a :

— brak (lack), + b. słabe (slight), ++ średni (moderate), +++ silne (severe),  
++++ b. silne (very severe).

\* Kultury nie stanowiły regularnego koła, wobec tego mierzono ich najdłuższe i najkrótsze wymiary.

The cultures were not regularly circular and thus the shortest and longest dimensions were measured.

piknidia grzyba. Dodatek do pożywki Czapka 20 g suszonych drożdży korzystnie wpłynął na zarodnikowanie grzyba.

D o ś w i a d c z e n i e II. Badanie zapotrzebowania *Mycosphaerella sentina* na poszczególne składniki w pożywce.

Dla przeprowadzenia tego doświadczenia zastosowano pożywkę Waksmana. W tym celu wzięto pożywkę o pełnym składzie oraz kolejno bez po-



szczególnych składników, jak glukoza (źródło węgla), pepton (źródło azotu),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i  $\text{MgSO}_4$ , pozostawiając inne składniki w niezmienionym składzie.

Kultury przechowywano w termostacie w temperaturze 23°C. Obserwacji i pomiarów dokonano po upływie 45 dni. Prawie we wszystkich przypadkach, przy braku któregośkolwiek ze składników, obserwowano bardzo słabe zarodnikowanie. Nieco lepsze zarodnikowanie zauważono tylko na pożywce z brakiem  $\text{MgSO}_4$ . Najslabszy ogólny wzrost grzyba zaznaczył się na pożywce bez glukozy, zaś zupełnie dobrze grzyb rozwijał się na pożywce bez  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  i bez  $\text{MgSO}_4$ . Jak widać z załączonej tabeli, na wzrost kultury decydujący wpływ ma zawartość w pożywce cukru i peptonu.

TABELA 3 — TABLE 3

Wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina* na pożywce Waksmana o pełnym i zmodyfikowanym składzie

Growth of fungus *Mycosphaerella sentina* on Waksman's medium lacking in each one of the components

	Pełna pożywka  Full medium	Bez glukozy  Without glucose	Bez peptonu  Without peptone	Bez $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Without $\text{KH}_2\text{PO}_4$	Bez $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  Without $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Stopień zarodnikowania Degree of spores production	++++	+	+	+	++
Średnica kolonii w mm* Average of culture in mm	27,3	3,5	5,0	21,1	17,3

\* Średnia z 10 pomiarów.

Mean of ten measurements.

Doświadczenie III. Badanie wpływu różnych źródeł cukrów w podłożu na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*.

Do doświadczenia tego zastosowano pożywkę Appela i Wollenwebera, w której zamiast glukozy wprowadzano inne cukry, a pozostałe składniki pożywki zostały niezmienione. Jedną z kombinacji była również pożywka Appela i Wollenwebera bez cukru oraz pożywka agarowo-brzeczkowa. Skład pożywki Appela i Wollenwebera: glukoza — 10 g,  $\text{NH}_2\text{NO}_3$  — 2 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,5 g, woda destylowana — 1000 ml, agar — 20 g.

TABELA 4 — TABLE 4

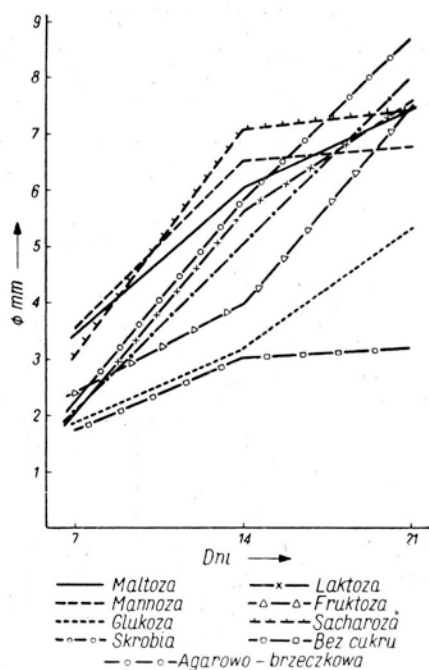
Wpływ różnych postaci cukru na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*

Effect of various sources of sugars on the fungus growth

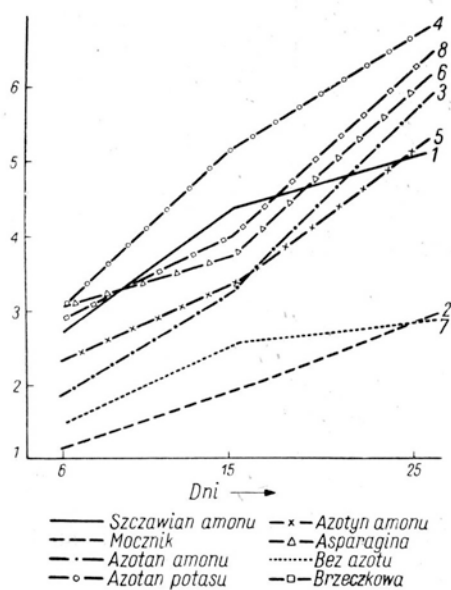
Lp. No.	Źródło cukru Source of sugar	Po 7 dniach After 7 days	Wzrost po 14 dniach Growth after 14 days		Wzrost po 21 dniach Growth after 21 days	
		Średnia średnica w mm Average diameter in mm	Średnia średnica w mm Average diameter in mm	Przyrost w mm Growth in mm	Średnia średnica w mm Average diameter in mm	Przyrost w mm Growth in mm
1	Maltoza Maltose	3,5	6,1	2,6	7,5	1,4
2	Mannoza Mannose	3,6	6,6	3,0	6,9	0,3
3	Glukoza Glucose	1,9	3,2	1,3	5,55	2,35
4	Skrobia Starch	2,29	5,96	3,71	8,7	2,74
5	Laktoza Lactose	2,10	5,7	3,6	7,6	1,9
6	Fructoza Fructose	2,45	4,16	1,7	7,5	3,34
7	Sacharoza Sacharose	3,15	7,16	4,1	7,5	0,34
8	Bez cukru Without	1,7	3,1	1,4	3,3	0,2
9	Brzeczkowa Malt extract	2,10	5,1	3,0	8,06	2,8

Jak wynika z powyższego zestawienia i wykresu, najlepszą postacią cukru dla wzrostu grzyba okazała się skrobia (lepszy wzrost niż na pożywce agarowo-brzeczkowej). Następnie, również dobrze przyswajalne okazały się dwucukry: laktoza, sacharoza, maltoza i jednocukier fruktoza. Najślabszy wzrost notowano na pożywce, w skład której wchodziła glukoza. Przyrost grzyba na pożywce bez cukru był nieznaczny.

D o ś w i a d c z e n i e IV. Badanie wpływu różnych źródeł azotu w podłożu na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*.



Wykres 1. Wpływ różnych źródeł cukru na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*  
Effect of various sources of sugars on the fungus growth



Wykres 2. Wpływ różnych postaci azotu na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*  
Effect of nitrogen various sources on the fungus growth

TABELA 5 — TABLE 5

Wpływ różnych postaci azotu na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina*

Effect of nitrogen various sources on the fungus growth

Lp. No.	Źródło azotu Kind of nitrogen	Wzrost po 6 dniach	Wzrost po 15 dniach		Wzrost po 25 dniach		Uwagi Remarks
		Średnia śred- nica w mm  Ave- rage dia- meter in mm	Średnia śred- nica w mm  Ave- rage dia- meter in mm	Przy- rost w mm  Growth in mm	Średnia śred- nica w mm  Ave- rage dia- meter in mm	Przy- rost w mm  Growth in mm	
1	Szczawian amonu Ammonium oxalate	2,7	4,4	1,7	5,2	0,8	Powierzch. grzybn. Superficial mycel- lium
2	Mocznik Urea	1,1	1,7	0,6	2,9	1,1	Brak piknidiów Lack of pycnidia
3	Azotan amonu Ammonium nitrate	1,9	3,2	1,3	5,8	2,5	Drobne piknidia Small pycnidia
4	Azotan potasu Potassium nitrate	3,0	5,4	2,3	6,8	1,3	Normalny wzrost, dobre zarodników. Normal growth abundant sporala- tion
5	Azotyn amonu Ammonium nitrite	2,3	3,4	1,4	4,8	1,0	Wzrost zahamo- wany Growth stoped
6	Asparagina						Normalny wzrost i zarod.
	Asparagine	3,1	3,5	0,5	6,1	2,5	Normal growth and sporulation
7	Bez azotu Without nitrogen	1,5	2,5	1,0	2,9	0,3	Brak piknidiów Lack of pycnidia
8	Brzeczkowa						B. dobre zarodnikowanie
	Malt extract	2,9	4,0	1,9	6,4	2,3	Very good sporu- lation

W dalszym toku badań postanowiono zbadać, jakie źródło azotu jest najkorzystniejsze dla rozwoju grzyba *Mycosphaerella sentina*. W przeprowadzonym doświadczeniu stosowano również pożywkę Appela i Wollenwebera, gdzie zmieniano związki zawierające azot nie zmieniając innych składników.

Najlepszym źródłem azotu dla wzrostu *Mycosphaerella sentina* okazał się azotan potasu, następnie kolejno asparagina i szczawian amonu. Najbardziej niekorzystny dla grzyba okazał się azot w postaci mocznika, gdyż kultura wyglądała tak samo jak na pożywce bez azotu. Należy również podkreślić, że brak azotu w pożywce wpływa niekorzystnie nie tylko na wzrost grzyba, ale i na jego zarodnikowanie.

### Wpływ temperatury na wzrost grzyba *Mycosphaerella sentina* ]

W pracy nad biologią grzyba Müller (1951) badał wpływ różnych temperatur na wzrost kultury na płynnej pożywce. Autor obserwował swe doświadczenie w ciągu 5 miesięcy, a w końcowej fazie porównał przyrost wagowy. Z doświadczenia wynika, że grzyb *Mycosphaerella sentina* w temp. 27°C posiadał najlepszy wzrost, zaś przy temp. 30°C nie mógł się już rozwijać. W opublikowanej pracy Müller nie podał, jaki rodzaj płynnej pożywki był użyty w doświadczeniu.

TABELA 6 — TABLE 6

Wpływ temperatury na wzrost kultury grzyba *Mycosphaerella sentina*

Effect of temperature on the fungus growth

Lp. No.	Temperatura w °C Temperature in °C	Średnia średnica kultury w mm po 30 dniach Average diameter of growth in mm after 30 days	Tworzenie zarodników Production of spores
1	30	2,3	—
2	27	18,5	+++
3	25,5	16,0	+++
4	23—24	15,2	++
5	20	12,1	+
6	15	11,9	+
7	5	2,1	—

Do naszych badań w celu ustalenia optymalnej temperatury użyto pożywki brzezkowej. Do przeszczepienia wzięto dobrze zarodnikującą 3-tygodniową kulturę. Szalki w ilości po 6 sztuk na każdą temp. po zaszczerpieniu umieszczono w następujących temperaturach: 30°, 27°, 25,5°, 23—24°, 20°, 15°, 5°. Po 30 dniach zakończono doświadczenie, a wyniki zebrano w tabelę (tab. 6).

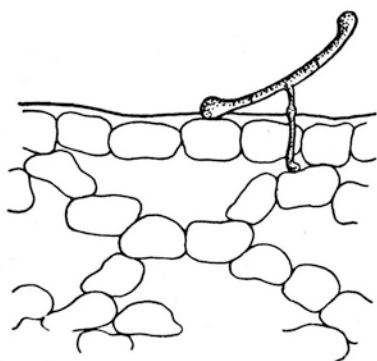
Z danych literatury i naszych obserwacji wynika, że wzrost grzyba jest w dużym stopniu zależny od temperatury. Najlepszy przyrost, jak też najlepsze zarodnikowanie, otrzymano w temperaturze 27°, a nieco słabsze w temperaturze 25,5°. W pozostałych temperaturach, z wyjątkiem temperatury 30° i 5°, grzyb rozwijał się bardzo wolno, wytwarzając w temperaturze 18°C najwięcej powierzchniowej grzybni. W temp. 30°C i 5° widać wyraźne zahamowanie wzrostu kultury. Jak z powyższego wynika, *Mycosphaerella sentina* do swego rozwoju wymaga stosunkowo wysokiej temperatury. Potwierdzają to również obserwacje dokonane w warunkach naturalnych, objawy chorobowe bowiem występują na liściach dopiero w pełni lata.

### Mechanizm infekcji

Sposób wnikania grzyba *Mycosphaerella sentina* do wnętrza liścia nie był dotychczas badany. Dlatego postanowiono prześledzić ten proces i w tym celu dokonano szeregu prób.

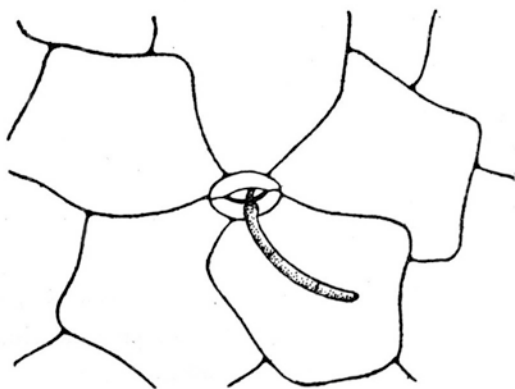
**M e t o d y k a.** W sterylnych, wyłożonych mokrą bibułą szalkach Petriego ułożono świeże, wymyte liście gruszy. Na górnej, jak i na dolnej stronie blaszki liściowej umieszczono za pomocą bagietki krople uprzednio przygotowanej zawiesiny zarodników. Zarodniki służące do inokulacji uzyskano z 3-tygodniowej kultury grzyba hodowanego na pożywce brzezkowej. Krople utrzymywały się na powierzchni liści przez 7—9 dni. Szalki znajdowały się w temp. 21°C. Na podstawie uprzednio przeprowadzonych prób stwierdzono, że badania mikroskopowe należy rozpocząć dopiero po upływie 120 godzin (tj. po 5 dniach). Do badań brano wycinki liścia spod kropli i krojono brzytwą. Skrawki oglądano pod mikroskopem w 50% roztworze kwasu mlekowego. Do barwienia używano błękitu bawelnianego.

Badania licznych preparatów wykazały, że przenikanie strzępek rostkowych odbywa się bezpośrednio przez nabłonek i skórę. Strzępka infekcyjna po zetknięciu się z powierzchnią kutikuli nie wytwarza jakiegoś wyraźnego rozszerzenia, lecz przebija kutikulę i przeciska się najczęściej między komórkami skórki. Poza tym obserwowano wnikanie strzępek rostkowych grzyba przez szparki, przy czym proces ten trwał tak samo długo jak przy przenikaniu bezpośrednio przez kutikulę.



Ryc. 7. Przenikanie strzępki rostkowej bezpośrednio przez kutikulę i skórę  
Direct penetration of germ tube through the cuticula and epidermis

Ryc. 8. Przenikanie strzępki rostkowej do otworu szparkowego  
Penetration of germ tube in stomatal pore



### Doświadczenia infekcyjne w szklarni

W literaturze jest tylko jedna wzmianka (S t e v e n s 1954) o doświadczeniach nad infekcją grusz przez grzyb *Mycosphaerella sentina*. Mianowicie K l e b a h n infekując grusze uzyskał pierwsze objawy chorobowe w postaci plam po 15 dniach, zaś piknidia pojawiły się dopiero po 29 dniach.

Doświadczenie przeprowadzono w czerwcu 1958 roku na czteroletnich drzewkach karłowych dwu odmian grusz, tj. „Salisbury” i „Bera Hardy”, które zostały zasadzone w szklarni na wiosnę 1957 roku. Zainfekowano po trzy drzewka z każdej odmiany pozostawiając po jednym jako kontrolnym. Każde drzewko traktowano jako jedno powtórzenie. Do infekcji użyto zawiesiny zarodników konidialnych grzyba z 30-dniowej kultury. Zawiesina zawierała około 3 milionów zarodników w jednym ml. Przed opryskaniem drzewek zaznaczono na każdym z nich wszystkie znajdujące się liście. Opryskane drzewka natychmiast przykryto na okres 48 godz. dużymi szklanymi kloszami, których ściany zostały wysłane wilgotną bibułą. Klosze ustawiono



na odpowiednio przygotowanych podstawach. Średnia temperatura w szklarni w okresie pierwszych 22 dni wahała się w granicach 18—21°.

Po upływie 16 dni od założenia doświadczenia na wszystkich opryskanych zawieszoną liściach pojawiły się charakterystyczne dla tej choroby plamy, w środku których widoczne były czarne owocniki stadium konidialnego grzyba. Powtórzona po 38 dniach obserwacja wykazała, że zarówno ilość porażonych liści, jak i ilość plam nieznacznie powiększyła się. Wyniki obserwacji przedstawia załączone zestawienie (tab. 7). Przy pierwszej obserwacji uwzględniono ilość porażonych liści oraz ilość i wielkość plam.

TABELA 7 — TABLE 7

Sztuczna infekcja dwóch odmian grusz grzybem *Mycosphaerella sentina*

Artificial infection experiment of two pears varieties by fungus *Mycosphaerella sentina*

Odmiana Variety	Oznacz. drzew Indicate trees	Liczba liści zaznaczonych przed doświadczeniem. Number of leaves indicated before experiment	Po 16 dniach After 16 days			Po 38 dniach After 38 days	Średnia z trzech powtórzeń Average of 3-replications	Uwagi Remarks
			Liczba liści poraż. Number of leaves infected by leafspot	Ogólna liczba plam Total number of spots	Średnia z 10 średnich plam w mm Average of 10 spots diameter in mm	Ogólna liczba porażonych liści Total number of leaves infected by leafspot		
Bera Hardy	A	13	6	13	5,18	10	41,6	Na trzech liściach poraż. 50% bl. liściowej
	B	18	20	204	7,75	32		
	C	22	35	485	9,5	83		
	Kontrolne	19	—	—	—	—		
Salisbury	X	44	14	128	2,7	46	24,3	
	Y	26	8	65	2,9	15		
	Z	18	5	42	3,02	12		
	Kontrolne	31	—	—	—	—		

Doświadczenia nad infekcją potwierdziły wyniki badań Klebana (1904), które wykazują, że okres inkubacji choroby trwa 15 dni z tą jednak różnicą, że w doświadczeniach naszych wcześniej na porażonych liściach wystąpiły piknidia grzyba. Jednocześnie z doświadczenia wynika, że użyte do doświadczenia dwie odmiany grusz wykazały różny stopień wrażliwości. Podczas gdy u odmiany „Bera Hardy” zauważono, że ilość porażonych liści

w stosunku do zaznaczonych podwoiła się, to u odmiany „Salisbury” ilość porażonych liści w tym samym czasie była trzy razy mniejsza od ilości zaznaczonych.

### Obserwacje nad rozwojem stadium workowego w warunkach naturalnych

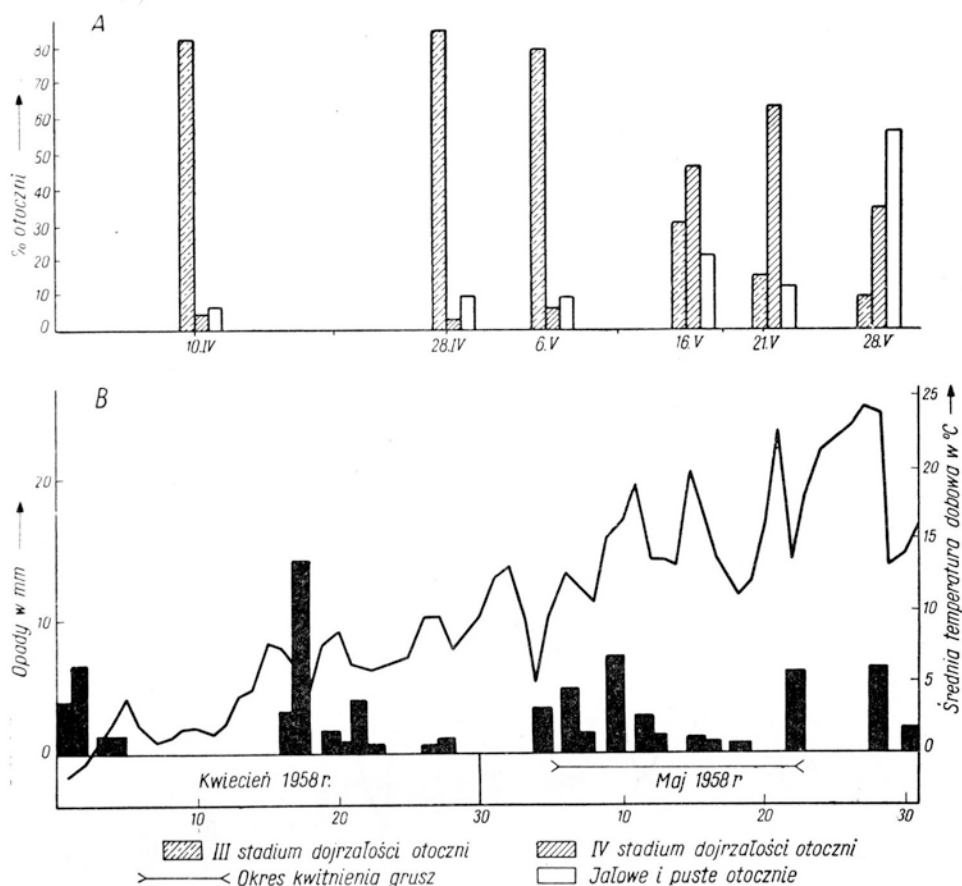
Obserwacje te miały na celu poznanie rozwoju stadium workowego *Mycosphaerella sentina* w warunkach naturalnych okolic Warszawy. W szczególności chodziło o określenie takich momentów rozwojowych jak: początek powstawania owocników, formowania się w nich worków i zarodników, dojrzewania zarodników workowych oraz ich uwalniania się z otocznii. Wprawdzie w tym kierunku były przeprowadzone badania przez Florenzano (1946), ale są to badania dla innych warunków klimatycznych, tj. Włoch, gdzie rozwój grzyba i choroby jest na ogół wcześniejszy.

Jako materiał do obserwacji posłużyły nam nagromadzone późną jesienią liście gruszy w sadzie SGGW przy ul. Rakowieckiej, które zabezpieczono przez przykrycie drucianą siatką. Obserwacje prowadzone były w okresie od grudnia 1957 r. do końca maja 1958 r., tj. do momentu najsilniejszego wysiewu zarodników workowych grzyba.

Początkowe obserwacje polegały na tym, że robiono skrawki z zimujących liści, na których obserwowano zaczątki otocznii. Od czasu gdy otocznie były na tyle uformowane, że były widoczne na powierzchni liści, wypreparowywano je w okresie każdej obserwacji w ilości 100 z próbki złożonej z 10 losowo wybranych liści. Wszystkie wypreparowane otocznie były rozgniatane na szkiełku przedmiotowym i oglądane pod mikroskopem. W ten sposób przeglądane otocznie klasyfikowano według następującej czterostopniowej skali:

1. otocznie bez worków
2. otocznie z pierwszymi workami
3. otocznie z workami i pierwszymi zarodnikami
4. otocznie z pierwszymi dojrzałymi zarodnikami.

Wyniki obserwacji były następujące: w okresie od 10 grudnia do mniej więcej połowy lutego w tkankach badanych liści występowały tylko mniej lub więcej wyraźne skupienia oliwkowobrunatnej grzybni, które należy uważać za początek tworzenia się otocznii. Poczynając od połowy lutego skupienia te stawały się coraz większe i coraz bardziej wyróżniały się w obumarłej tkance liścia. W pierwszej połowie marca niektóre otocznie były na tyle już wykształcone, że zaobserwowano w nich początek powstawania worków. Pierwsze dobrze wykształcone worki i początek powstawania zarodników zaobserwowano w pierwszej połowie kwietnia. W następnych dniach kwietnia ilość zarodników workowych stale wzrastała i dopiero w okresie maja, gdy



Wykres 3. Rozwój otoczni w okresie od 1.IV do 28.V.1958 r.

Perithecial stage development from 1.IV — 28.V.1958

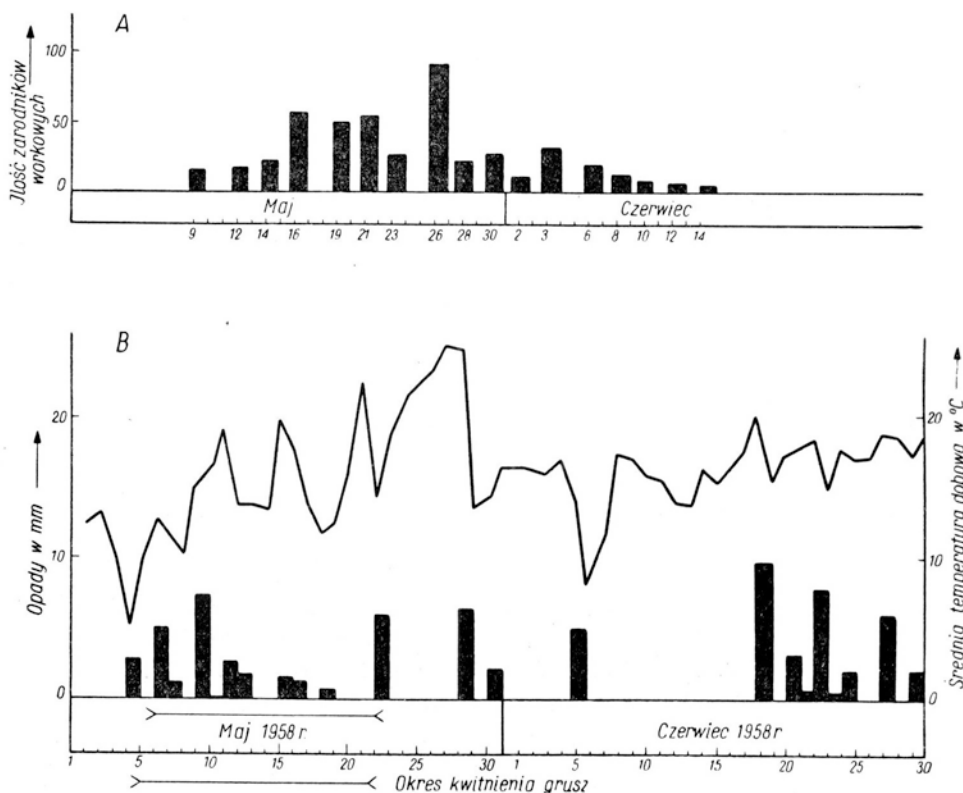
A — oś rzędnych: % ilość otoczni w dwóch ostatnich stadiach rozwoju oraz otocznie jałowe; oś odciętych: daty obserwacji. B — oś rzędnych: z lewej strony opady w mm, z prawej śred. temp. dobową; oś odciętych: dni miesiąca

Diagram A — ordinate: percentage number of perithecia in two last stages of development and sterile perithecia; abscissa: date of observations. Diagram B — ordinate: on right mean of daily temperature, on left rainfall in mm; abscissa: decades of April and May

średnie temperatury dobowe znacznie się podniosły, nastąpiło dojrzewanie zarodników — przewaga otoczni w czwartym stadium rozwojowym. Przeglądając dość obfity materiał łatwo było zauważyć znaczne różnice w stanie rozwoju między poszczególnymi otoczniami na jednym liściu. Na przykład na początku marca zaobserwowano, że podczas gdy jedne otocznie są już zupełnie wykształcone, to inne znajdują się w początkowej fazie rozwojowej. Późniejsze obserwacje również wykazały, że obok otoczni zupełnie dojrzałych, z których zaczęły się uwalniać zarodniki, były otocznie z workami, w których zarodniki dopiero co się wytwarzały lub nawet bez zarodników.

### Obserwacje nad przebiegiem wysiewu zarodników workowych

Z przeglądu literatury wynika, że proces wysiewu zarodników workowych z otoczni *Mycosphaerella sentina* dotychczas nie był obserwowany. Ponieważ proces ten dość ściśle się wiąże z zapoczątkowaniem choroby, tj. z pierwszą



Wykres 4. Przebieg wyrzutu zarodników workowych wiosną 1958 r.

The course of ascospores discharge during spring 1958

A — oś rzędnych: ilość zarodników znalezionych na szkiełkach; oś odciętych: daty obserwacji. B — oś rzędnych: z lewej strony — opady w mm, z prawej — śred. temp. dobową; oś odciętych: dni maja i czerwca

Diagram A — ordinate: number of ascospores on glasses; abscissa: date of observations. Diagram B — ordinate: on left — rainfall in mm; on right — mean of daily temperature; abscissa: days of May and June

infekcją liści grusz, dlatego postanowiono go prześledzić w latach 1958 i 1959, w okresie od początku kwietnia, kiedy zaczynają pojawiać się w coraz większej ilości dojrzałe zarodniki workowe do 20 czerwca, tj. do czasu kiedy już nie stwierdzono zarodników na wykładanych szkiełkach. Jako materiał po-

służyły nam pozostałe liście z partii, którą zabezpieczono siatką dla badań nad rozwojem stadium workowego. Na siatce w odległości około 4 cm od liści układano 10 szkiełek przedmiotowych, które zmieniano co 2—4 dni. W celu lepszego przyczepiania się zarodników szkiełka smarowano bardzo cienką warstwą bezbarwnej wazeliny. Przy każdym przeglądzie liczono ilość zarodników, jaka znajdowała się na powierzchni około 100 cm<sup>2</sup> szkiełek posługując się małym powiększeniem mikroskopu (obj. 10 × okular 15 ×). Ponieważ powierzchnia pola widzenia przy powiększeniu około 150× wynosi 1,3 mm<sup>2</sup>, wobec tego na każdym szkiełku oglądano 750 pól widzenia, co dało około 10 cm<sup>2</sup> obserwowanej powierzchni na jednym szkiełku. Przy przeglądzie 10 szkiełek przedmiotowych uzyskiwano 100 cm<sup>2</sup> powierzchni obserwowanej.

Ilość zarodników na jednym szkiełku obliczano w ten sposób, że dodawano ilość zarodników widzianą na poszczególnych polach widzenia.

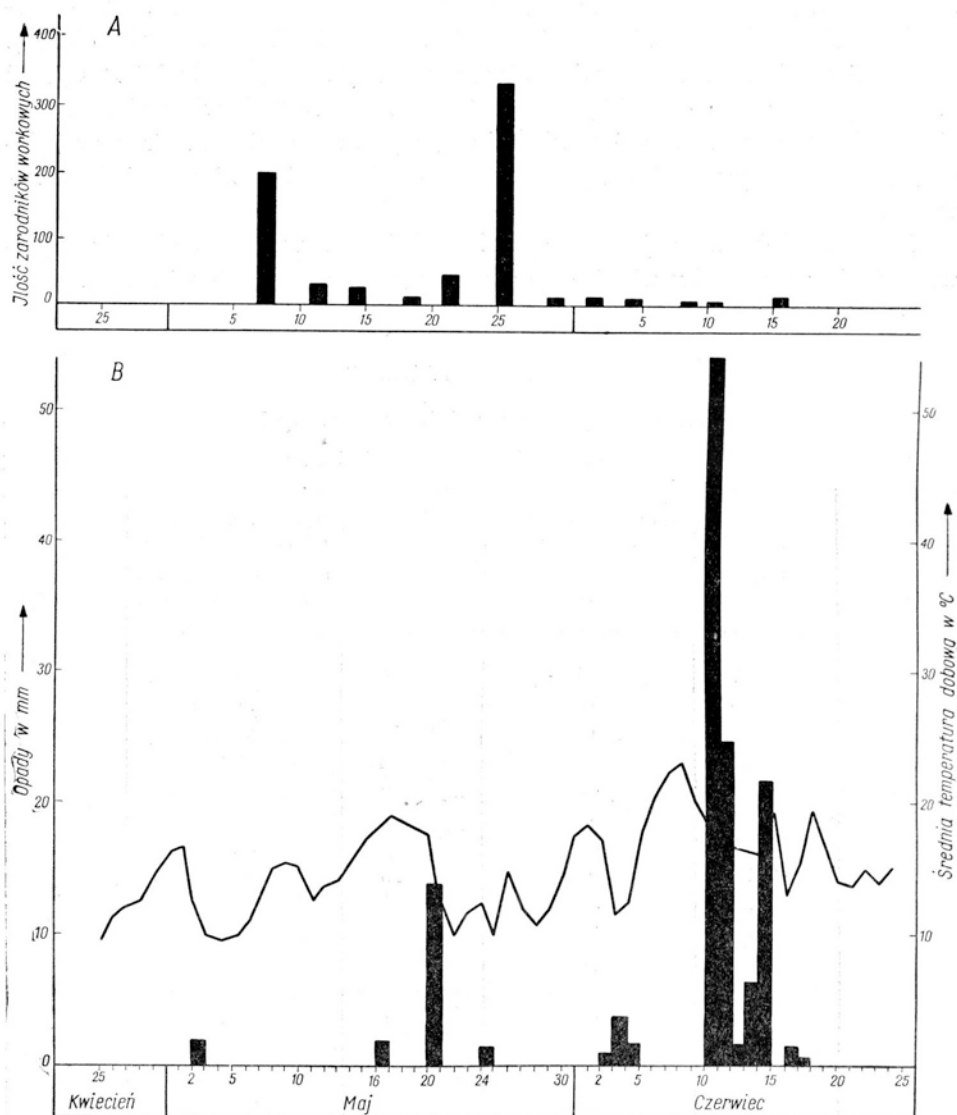
TABELA 8 — TABLE 8

Przebieg wysiewu zarodników workowych

The course of ascospores discharge

Data Date	Ogólna liczba zarodników na szkiełkach Total number of ascospores on the glasses	Data Date	Ogólna liczba zarodników na szkiełkach Total number of ascospores on the glasses
7	—	4	—
9	12	7	205
12	13	11	30
14	20	14	21
16	67	18	4
19	58	21	41
21	62	25	345
23	25	29	9
26	90		
28	18		
30	22		
1	12	1	9
3	25	4	5
6	17	8	2
8	10	11	2
10	9	16	6
12	6	19	—
14	4	22	—
18	—		

Jak widać z tabeli 8, wysiew zarodników workowych grzyba *Mycosphaella sentina* zarówno w roku 1958, jak i 1959 rozpoczął się w pierwszych dniach maja i skończył się w połowie czerwca, przy czym największe nasilenie przypadało na miesiąc maj. W pierwszej połowie czerwca ilość zarodni-



Wykres 5. Przebieg wyrzutu zarodników workowych wiosną 1959 r.

The course of ascospores discharge during spring 1959

Objaśnienia jak na wykresie 4 — Description as in the diagram 4

ków była nieduża, zaś w drugiej połowie w ogóle nie obserwowało się zarodników na szkiełkach, a oglądane pod mikroskopem otocznie zawierały bardzo małą ilość zarodników workowych. W roku 1959 wysiew zarodników rozpoczynał się nieco wcześniej i trwał trochę dłużej niż w roku poprzednim.

Pomimo że na załączonych wykresach nie widzi się wyraźnej korelacji między opadami a wysiewem zarodników, to jednak często można było zauważyć pewne zwiększenie ilości zarodników na szkiełkach po deszczach. Również z wykresów nie widać zależności wysiewu zarodników od temperatury. Mimo to jednak zaobserwowano w roku 1958, że wraz ze spadkiem temperatury z 22°C do 13°C następuje znaczne zmniejszenie ilości wysiewanych zarodników.

### STRESZCZENIE

1. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że pierwsze zaczątki otoczni grzyba *Mycosphaerella sentina* występują w grudniu. W końcu lutego otocznie osiągają właściwą wielkość. Worki zaczynają tworzyć się w marcu, zaś na początku kwietnia widoczne są w workach zarodniki workowe, których dojrzewanie i wysiew następuje w maju i pierwszej połowie czerwca.

2. Otocznie *Mycosphaerella sentina* występują grupowo, dość gęsto, ale każda osobno i tworzą srebrzystoszare plamki na dolnej stronie przezimowanych liści najczęściej wzdłuż nerwu głównego. Plamki te ograniczone są najdrobniejszymi żyłkami i występują pojedynczo lub łączone po kilka.

3. Pierwotna infekcja grusz przez grzyb *Mycosphaerella sentina* odbywa się przez zarodniki workowe, które uwalniane są z otoczni w okresie od początku maja do pierwszych dni czerwca.

4. Infekcja przez grzyb *Mycosphaerella sentina* odbywa się drogą wnikań strzępek rostkowych przez nabłonek do komórek skórki lub też strzępka infekcyjna przechodzi na granicy styku dwóch komórek skórki. Poza tym infekcja może odbywać się przez szparki.

5. Przy sztucznej infekcji przez opryskiwanie drzewek zawiesiną zarodników konidialnych objawy porażenia wystąpiły po 16 dniach.

6. Stwierdzono porażenie owoców przez grzyb *Mycosphaerella sentina*.

7. Zarodniki konidialne *Mycosphaerella sentina* kiełkowały w granicach temp. 10—30°, zaś zarodniki workowe 15—30°, przy czym optimum dla jednych i drugich zarodników wynosi około 23°.

8. Wzrost kultur *Mycosphaerella sentina* jest powolny. Jedną z najlepszych pożywek okazała się pożywka brzezkowa. Na pożywkach pozbawionych źródła azotu lub cukru rozwój grzyba i jego zarodnikowanie były bardzo słabe. Natomiast na pożywkach bez fosforanu potasu i siarczanu magne-



zowego grzyb rozwijał się dość dobrze, ale gorzej niż na pożywkach o pełnym składzie.

9. Kultury *Mycosphaerella sentina* najlepiej rozwijały się w temp. 27°C.

Pracownia Fitopatologiczna

Zakładu Ekologii PAN

Kierownik: prof. dr Józef Kochman

(Wpłynęło: 27.2.1960 r.)

## SUMMARY

1. The observations have shown that the initials of perithecia are formed in December. At the end of February the perithecia were of normal size. The asci are formed in March, and in the beginning of April the ascospores are already visible, they are discharged in May and the first half of June.

2. The perithecia of *Mycosphaerella sentina* are formed as dense groups but each separately and form silver-gray spots on lower surface of the leaves from the past year. Usually they are formed along the midrib. The spots are limited by small veinlets and appear single or only few fused together.

3. The primary infection of pears by *Mycosphaerella sentina* is by ascospores which are discharged from perithecia from the beginning of May to the first days of June.

4. Infection by *Mycosphaerella sentina* is effected by germination hyphae penetrating through cuticula into epidermal cells or between two adjacent epidermal cells. Infection through stomata was also observed.

5. After artificial infection by spraying the trees with conidial suspension the first infection phenomena were observed in 16 days.

6. The attacking of fruits by *Mycosphaerella sentina* was observed.

7. The conidia and ascospores of *Mycosphaerella sentina* germinate at temperatures from 10° to 30°C. The optimal temperature for both is ab. 23°C.

8. The growth of the cultures of *Mycosphaerella sentina* is slow. The best medium was malt extract. On medium without the source of nitrogen or sugar the development of the fungus was very weak. On media without potassium phosphate and magnesium sulphate the development of the fungus was rather satisfactory although less than on the complete medium.

9. The optimal temperature for the cultures of *Mycosphaerella sentina* was 27°C.

## LITERATURA

1. A r x. A., 1949, Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Mycosphaerella* Sydowia, Annales Mykologici, 2.
2. B o r e c k i Z., 1957, Badania nad biologią patogena grusz grzyba *Venturia pirina* Aderh. (*Fusicladium pirinum* Fuck.), Acta Agrobot. 6: 59—116.

3. C u n i n g h a m H.S., 1928, A study of histologic changes induced in leaves by certain leaf spotting fungi, *Phytopath.* 18: 717—751.
4. D u g g a r B.M., 1898, Some Important Pear Diseases Biulletin 145 Cornell University Agricultural Experiment Station Ithaca N.Y. Botanical Division, 597—611.
5. F l o r e n z a n o G., 1946, *Mycosphaerella sentina* (Funk.) Schroet. Signalisation de la forme peritheciale en Italie et observations relatives à sa biologie (I), *Int. Bull. Plant. Prot.* 20: 17—26.
6. G r a m E., W e b e r A., 1953, Plant diseases in orchard, nursery and garden crops, Philosophical Library: New York, 184.
7. K l e b a h n H., 1918, Haupt und Nebenfruchtformen der Ascomyceten Verlag von Gebr. Bornträger Leipzig., S. 127.
8. M ü l l e r E., 1951, Die Weissfleckenkrankheit der Birnbäume, *Schweiz. Zeitschrift für Obst und Weinbau* 8: 163—166.
9. N o a c k F., 1928, *Plectascineae*, Handbuch der Pflanzenkrankheiten 2, Berlin, 623.
10. R o l l a n d G., 1946, La Septoriose du Poirier, *Biulletin bimestriel. La Fruit Belge*, 14: 32—36.
11. S t e v e n s F.L., 1954, Plant disease fungi. Macmillan Company, New York, 173.
12. V i e n n o t - B o u r g i n., 1949, Les champignons parasites des plantes cultivées. Masson C<sup>ie</sup>, Editeurs (Libraires de L'Académie de Medecine) Paris, 2.
13. W e n z e l H., 1935, Beobachtung über die Anfälligkeit von Birnensorten gegen die Weissfleckenkrankheit *Mycosphaerella sentina*, *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 15: 305—316.