Z badań nad biologią *Glomerella cingulata* (Stonem). Spauld. et v. Schrenk na wierzbach koszykarskich

A study of the biology of *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk
on the basket willow

TERESA RYBAK-MIKITIUK

WSTĘP

Wierzba koszykarska jako surowiec i jako wyroby wikliniarskie zajmuje poważną pozycję w naszym eksporcie. Również zapotrzebowanie rynku krajowego na wiklinę i jej wyroby jest bardzo duże, a w ostatnich latach zapotrzebowanie to ciągle wzrasta. W związku z tym dąży się do intensyfikacji produkcji wierzby koszykarskiej.

Do wierzb koszykarskich zalicza się kilkanaście gatunków wierzb z których najważniejszymi są: *Salix viminalis* L., *Salix amygdalina* L. i *Salix purpurea* L. Gatunki te dały początek wielu odmianom i krzyżówkom, z których najczęściej uprawiana jest *Salix americana*. Wierzba ta przywieziona została do Europy z Ameryki w 1885 roku (Jeżewski i Chodorowski 1956). Na drugim miejscu pod względem zajmowanej powierzchni na naszych plantacjach znajduje się *Salix viminalis*. Obydwie te wierzby podlegają licznym chorobom, które niejednokrotnie znacznie pogarszają i obniżają plony. Najwięcej strat w ostatnich latach na plantacjach wiklinowych wyrządza grzyb *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk.

PRZEGLĄD LITERATURY

Grzyb ten po raz pierwszy został opisany w 1921 roku przez Fukushi (Nattrass 1928) w Japonii z *Salix purpurea* var. *angustifolia* pod nazwą *Physalospora miyabeana*. Jednocześnie badacz ten stwierdził, że stadium konidialne tego grzyba należy do *Gloeosporium* nie podając nazwy gatunkowej. W kilka lat później, bo w 1928 roku w Anglii, Nattrass (1928) zbadał morfologię i biologię tego patogena łącznie z mechanizmem infekcji. Nattrass zatrzymując dla tego grzyba nazwę *Phy-*

salospora miyabeana podaje, że występujący na wierzbie grzyb ma bardzo wiele cech wspólnych z gatunkiem *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk. Również w następnej pracy Nattrass i Hutchinson (1929) używają dla tego grzyba nadal nazwy *Physalospora miyabeana*. Podobnie pod tą samą nazwą opisuje tego grzyba w Anglii Dennis (1931). Wreszcie pod nazwą *Physalospora miyabeana* grzyb ten opisany jest jako czynnik chorobotwórczy wierzb w amerykańskim podręczniku fitopatologii leśnej Baxtera (1943) oraz w angielskim podręczniku chorób roślin Butlera i Jonesa (1949). Natomiast Harrisson (1929) w Kanadzie wyraża pogląd, że grzyb z wierzby należy zaliczyć raczej do rodzaju *Glomerella*, nie podaje jednak nazwy gatunkowej. Również Diercks (1957) w Niemczech dochodzi do wniosku, że grzyb *Physalospora miyabeana* występujący na wierzbie jest bardzo zbliżony do rodzaju *Glomerella*. Wydaje się, że przynależność rodzajowa tego grzyba została wyjaśniona ostatecznie w pracach szwajcarskich mikologów Arxa i Müllera (1954) oraz Arxa (1957), którzy wykazali, że opisywany dotychczas grzyb z wierzby pod nazwą *Physalospora miyabeana* należy do gatunku *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk ze stadium konidialnym *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

Występowanie grzyba *Glomerella cingulata* na wierzbie zanotowano w różnych krajach Europy, Ameryki i Azji, między innymi w Niemczech (Diercks 1957), Anglii (Nattrass 1928 i Dennis 1931), Holandii (Van Poeteren 1935), Włoszech ([12] 1943), Kanadzie (Harrisson 1929), Stanach Zjednoczonych (Clinton 1929) i Japonii (Fukushi wg Nattrassa 1928).

W Polsce grzyb *Glomerella cingulata* na wierzbie został stwierdzony po raz pierwszy przez J. Kochmana w 1929 r. w Pożogu k. Puław. W 1957 r. grzyb ten został znaleziony na plantacjach wiklinowych w Bogdańcu k. Białegostoku i w Brzegu n/Odrą.

ZEWNĘTRZNE OBJAWY PORAZENIA

Glomerella cingulata powoduje plamy na liściach i pędach oraz obumieranie wierzchołków pędów wierzb. Porażeniu podlegają młode liście i pędy w pobliżu wierzchołka wzrostu. W początkach czerwca na liściach widoczne są niewielkie, ograniczone nerwami plamy. Powstają one najczęściej na brzegu lub na wierzchołku liści i stopniowo rozszerzają się obejmując nerw główny i ogonek liściowy (ryc. 1). Z ogonków liściowych choroba przedostaje się na pędy. Początkowo około połowy lipca w węzłach pędów występują niewielkie, lekko zagłębione, jasnobrunatne pla-

Ryc. 1. Plamy na liściach *Salix americana* spowodowane przez grzyb *Glomerella cingulata*

Discoloration of leaves of *Salix americana* caused by *Glomerella cingulata*

my, które później ciemnieją. Plamy te stopniowo rozciągają się w górę i dół pędu obejmując jednocześnie coraz większą część jego obwodu. Na skutek przyrastania na grubość zdrowej części pędu, plamy na pędzie stopniowo zagłębiają się (ryc. 2). Skórka i zewnętrzne tkanki kory pękają odsłaniając stopniowo łyko, a nawet drewno. W ten sposób na pędach tworzą się otwarte rany. Zagłębione plamy na pędach, przechodzące często w otwarte zrakowacenia, wyrządzają największe straty gospodarcze. Pędy takie nie nadają się do łuszczenia, łatwo się łamią i pękają. Często zrakowacenia te są niedostrzegalne na powierzchniach plantacyjnych, ujawniają się one dopiero przy obróbce prętów wiklinowych.

Niekiedy też porażenie przebiega nieco inaczej. Jeżeli porażeniu podlegają młode części pędu w pobliżu wierzchołka wzrostu, to choroba

Ryc. 2. Wycinek jedno-
rocznego pędu *S. vi-*
minalis ze zrakowace-
niem spowodowanym
przez *G. cingulata*

Piece of one year old
stem of *S. viminalis*
with cancer caused by
G. cingulata

Fot. B. Siemaszko

Ryc. 3. Charakterystyczne zaginanie się wier-
chońków pędu *Salix americana* porażonego przez
grzyb *Glomerella cingulata*

The curving of *Salix americana* shoot tops
attacked by *Glomerella cingulata*

Fot. B. Siemaszko

z tych części przesuwają się ku dołowi pędu. Porażony w ten sposób wierzchołek pędu brunatnieje, stopniowo obumiera i zagina się ku dołowi (ryc. 3).

Na plamach pędów, a niekiedy i liści, w okresie od wiosny aż do końca lata pojawiają się drobne wzniesienia będące zarodnikowaniem konidialnym grzyba *Glomerella cingulata*. Oprócz tego od drugiej połowy

lata aż do późnej jesieni na zrakowaceniach pędów tworzą się otocznie grzyba w formie ciemnych punkcików.

W przypadku porażenia *Salix americana*, na obumarłych wierzchołkach aż do późnej jesieni pozostają zeschnięte liście, natomiast przy porażeniu *Salix viminalis* liście z wierzchołków odpadają, a pozostają jedynie kawałki ogonków liściowych.

Zamieranie wierzchołków pędów powoduje niejednokrotnie wiele strat materiałowych w gospodarstwach wikliniarskich, zwłaszcza jeżeli pojawi się ono w pełni okresu wegetacyjnego, gdy wierzba przyrasta jeszcze na wysokość. Pędy o zaschniętych wierzchołkach wypuszczają wtedy liczne pędy boczne, co w efekcie prowadzi do powstawania form krzaczastych.

Porażenie wierzchołków pędów w szczególnie dużym nasileniu wystąpiło w Bogdańcu w latach 1957 i 1958. Na niektórych poletkach porażenie pędów *S. americana* dochodziło do 80%. Jeszcze nieco wyższy procent chorych pędów dał się zauważyć na poletkach *S. viminalis*.

WEWNĘTRZNE OBJAWY PORAŻENIA

W porażonych gałązkach grzyb *Glomerella cingulata* powoduje również zmiany wewnętrzne. Grzybnia przedostaje się przez tkanki okrywające do łyka i miazgi, w których rozrasta się bardzo obficie. Po pewnym czasie miazga zostaje zabita przez grzybnię, wskutek czego przyrost na grubość w tym miejscu pędu całkowicie ustaje. Miejsce to staje się początkiem zrakowacenia, które stopniowo rozszerza się w górę i dół pędu. Grzybnia z miazgi przechodzi do drewna i powoduje brunatne zabarwienie miękiszu drewna i promieni rdzeniowych.

MORFOLOGIA GRZYBA

Stadium konidialne grzyba *Glomerella cingulata* nosi nazwę *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. i należy do podgrupy *Melanconiales*. Stadium to rozwija się w warunkach naturalnych na chorych pędach, a niekiedy i liściach wierzb. Zarodnikowanie konidialne występuje w formie różowych brodawczek, których średnica wynosi 0,3—0,7 mm. Brodawczki te są często ułożone tak gęsto obok siebie, że prawie łączą się wzajemnie. Początkowo pod skórą tworzy się ciemnobrunatna podkładka, z której wyrasta warstwa luźno ustawionych obok siebie trzonek konidialnych. Trzonki konidialne są bezbarwne, tylko u podstawy lekko zabarwione, jedno lub dwukomórkowe, lekko skręcone, zwężone nieco u góry, o wymiarach 25—35×3,5—5 μ . Na trzonkach tych powstają zarodniki konidialne. Są one bezbarwne, jednokomórkowe, elipsoidalne, proste albo tylko lekko zgięte. Wnętrze zarodników wypełnia ziarnista

substancja, wśród której widoczne są 2 krople tłuszczowe, umieszczone na końcach zarodników. Krople te są szczególnie wyraźne u młodych 1—3 dniowych zarodników. Wielkość zarodników konidialnych z polskiego materiału wynosi $14\text{--}27 \times 4\text{--}7 \mu$, a przeciętnie $17\text{--}19 \times 5,4 \mu$.

Zarodnikowanie konidialne obserwowano na plamach pędów lub na obumarłych wierzchołkach *Salix americana*, *S. acutifolia*, *S. alba* i *S. viminalis*. Zarodnikowanie na liściach i ogonkach liściowych nie należy do zjawisk zbyt częstych i w warunkach naturalnych zanotowano je w Bogdańcu tylko na *Salix viminalis*. W warunkach laboratoryjnych jednak, przy zachowaniu wysokiej wilgotności powietrza, różowe brodaweczki złożone z masy zarodników konidialnych wytwarzały się w dużej ilości na obydwu stronach liści zarówno *Salix viminalis* jak i *Salix americana*, *S. acutifolia* i *S. alba*.

Stadium workowe grzyba *Glomerella cingulata* rozwija się w naturze często prawie równocześnie ze stadium konidialnym i występuje w miejscach rakowatych oraz na obumarłych wierzchołkach pędów. Na liściach stadium to nie tworzy się. Otocznice są kuliste, ciemno zabarwione, zagłębione w miększu korowym. Średnica otocznicy z polskiego materiału wynosi $130\text{--}215 \mu$. W otocznicach worki powstają na dnie. Worki są wydłużone, w środku nieco rozszerzone, a na wierzchołku zwężone. Błona worka jest jednowarstwowa (*unitunicatae*), w górnej części worka znacznie zgrubiała. Wymiary worków wynoszą $50\text{--}85 \times 10\text{--}12 \mu$. Pomiędzy workami znajdują się płonne strzępki (parafyzy) o wymiarach $60 \times 1\text{--}2 \mu$. W worku znajduje się 8 zarodników, które ułożone są zwykle w 2 ukośnych rzędach. Zarodniki workowe są jednokomórkowe i podobne do zarodników konidialnych. Wielkość ich wg moich pomiarów wynosi przeważnie $16\text{--}18 \times 5\text{--}6 \mu$.

Grzyb *Glomerella cingulata* należy do rodziny *Polystigmataceae*, rzędu *Sphaeriales*, pnia *Ascohymeniales* (Arx i Müller 1954).

KIELKOWANIE ZARODNIKÓW

Nat trass (1928) w badaniach nad *Glomerella cingulata* na wierzbie uwzględnił zarówno kielkowanie zarodników konidialnych, jak i workowych tego grzyba. Dennis (1931) zaś zajmował się tylko kielkowaniem zarodników konidialnych. Obaj badacze przeprowadzali kielkowanie zarodników w kropli wiszącej wody destylowanej, a Dennis także na pożywce agarowo-brzeczkowej. Nat trass w swej pracy nie podaje jednak bliższych danych dotyczących temperatur, w których przeprowadzał próby kielkowania zarodników workowych i konidialnych, ani też ilościowego przebiegu procesu kielkowania w zależności od czasu. Nat trass

stwierdza jedynie, że najlepiej kiełkują zarodniki konidialne i workowe w temperaturze pokojowej. Dennis zaś podaje procentowe wyniki procesu kiełkowania zarodników konidialnych w zależności od temperatury, a nie uwzględnia przebiegu kiełkowania w zależności od czasu.

Celem moich doświadczeń było zbadanie procesu kiełkowania zarodników konidialnych i workowych oraz szybkości wzrostu strzępek rostkowych w zależności od czasu i temperatury.

Kiełkowanie zarodników przeprowadzono w kropli wiszącej wody destylowanej oraz na pożywce agarowo-brzeczkowej (30% brzeczki 8° Blg). W tym ostatnim przypadku szkiełka przedmiotowe powlekano cienką warstwą pożywki i umieszczono je w płytkach Petriego wyścielonych wilgotną bibułą. Na przygotowaną w ten sposób warstwę pożywki nakładano krople zawiesiny zarodników. Obserwacje kiełkujących zarodników przeprowadzano w odstępach 3 godz.

Zarodniki konidialne i workowe przed kiełkowaniem powiększały nieznacznie swą objętość i dzieliły się na 2 komórki. Między kiełkowaniem zarodników konidialnych i workowych były pewne różnice. Zarodniki konidialne i workowe kiełkując tworzyły strzępki rostkowe, które wyrastały w grzybnie, albo też tworzyły strzępki rostkowe, na których końcach wykształcały się zarodniki. Ponadto zarodniki workowe tworzyły konidia przez pączkowanie, bez tworzenia się strzępek rostkowych. Zjawisko pączkowania zarodników workowych zauważył również Natrass (1928).

Wkrótce po wykiełkowaniu zarodników konidialnych i workowych na końcach strzępek rostkowych lub też bezpośrednio na zarodniku tworzyły się apresoria. Początkowo były one bezbarwne, później przybierały zabarwienie ciemnooliwkowe. Apresoria umożliwiały mocne przytwierdzenie się zarodników do powierzchni substratu. W moich doświadczeniach nakładano krople wody z zarodnikami tego grzyba na liść wierzby i następnie po 1, 2, 3, 4, 5 i 6 godzinach poddawano te liście działaniu silnego strumienia wody. Okazało się, że po 1 i 2 godzinach od momentu umieszczenia kropli na liściu wszystkie zarodniki zostały splukane przez działający na nie strumień wody. Natomiast już po 3 i więcej godzinach zarodniki przy pomocy apresoriów przytwierdziły się tak silnie do powierzchni liści, że nie dały się zmyć. Wielkość apresoriów wynosiła $7-11 \times 4-5 \mu$. Apresoria tworzyły się zawsze liczniej w kropli wody destylowanej niż na pożywce agarowo-brzeczkowej.

Przeprowadzona próba kiełkowania zarodników w 5 temperaturach wykazała, że temp. 26°C jest optymalna dla kiełkowania zarodników tego grzyba. W tej temp. procent kiełkujących zarodników był największy i najszybciej też odbywał się przyrost długości strzępek grzybni

(tab. 1 i 2, ryc. 4 i 5). W temp. 26°C na pożywce agarowo-brzeczkowej zarodniki zaczęły kiełkować już po 2,5 godz., a w kropli wody po 3 godzinach. Przy temp. 6°C zarodniki workowe i konidialne zaczęły kiełkować dopiero po 26 godz. Temp. 40°C nie zabijała zarodników worko-

Ryc. 4. Procent kiełkujących zarodników konidialnych (————) i workowych (-----) *Glomerella cingulata* w kropli wiszącej wody destylowanej.
Oś x — godziny; oś y — %

Percentage germination of conidia (————) and ascospores (-----) of *Glomerella cingulata* in hanging-drop of distilled water. Axis x — hours; axis y — %

Rys. 5. Procent kiełkujących zarodników konidialnych (————) i workowych (-----) *Glomerella cingulata* na pożywce agarowo-brzeczkowej.
Oś x — godziny; oś y — %

Percentage germination of conidia (————) and ascospores (-----) of *Glomerella cingulata* on malt agar medium. Axis x — hours; axis y — %

wych w kropli wody. Zarodniki te przeniesione po 36 godz. do temp. 26° C kiełkowały. Natomiast zarodniki konidialne w kropli wody oraz zarodniki konidialne i workowe na pożywce agarowo-brzeczkowej przeniesione z temp. 40° C do temp. 25° C nie kiełkowały.

TABELA 1 — TABLE 1

Kiełkowanie zarodników konidialnych i workowych *Glomerella cingulata* w kropli wiśzającej wody destylowanej w zależności od czasu i temperatury

Germination of conidia and ascospores in hanging-drop of distilled water according to time and temperature

Temp.	Długość strzępek kiełkujących zarodników w μ *							
	Length of germ tubes of germinating spores in μ							
	po 3 godz. after 3 hours		po 6 godz. after 6 hours		po 9 godz. after 9 hours		po 15 godz. after 15 hours	
	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores
6°C	—	—	—	—	—	—	—	—
18°C	—	14	9	27	38	44	46	50
26°C	14	20	32	52	70	58	76	68
30°C	—	10	12	25	30	26	30	28
40°C	—	—	—	—	—	—	—	—

* Średnia długość 100 najdłuższych strzępek rostkowych z 50 pól widzenia mikroskopu, przy powiększeniu ok. 200 $\times$.

Mean length of 100 longest germ tubes of 50 microscopic fields, at 200 $\times$ approx.

— Brak kiełkowania — No germination

Spośród 2 użytych przeze mnie rodzajów podłoża do kiełkowania zarodników, pożywka agarowo-brzeczkowa okazała się lepsza od wody destylowanej (tab. 1 i 2, ryc. 4 i 5). Zarówno ilość kiełkujących zarodników, jak i szybkość wzrostu strzępek na pożywce agarowo-brzeczkowej była większa niż w wodzie destylowanej. W temp. 26° C po 24 godz. w kropli wody średnia długość 100 pomierzonych strzępek wynosiła 100 μ , a na pożywce agarowo-brzeczkowej długość ta wynosiła 202 μ .

Po 48 godzinach na końcach strzępek kiełkujących zarodników workowych i konidialnych tworzyły się zarodniki konidialne.

Z przeprowadzonych doświadczeń nad kiełkowaniem zarodników grzyba *G. cingulata* wynika, że zarodniki konidialne i workowe mogą kiełkować zarówno w temperaturze 6° C, jak i w 30° C. W największej ilości i w najkrótszym okresie czasu kiełkowały one przy stałej temperaturze 26° C, w nieco mniejszym procencie w temperaturze 15—17° C.

TABELA 2 — TABLE 2

Kiełkowanie zarodników konidialnych i workowych *Glomerella cingulata* na pożywce agarowo-brzeczkowej w zależności od czasu i temperatury

Germination of conidia and ascospores of *Glomerella cingulata* on malt agar medium according to time and temperature

Temp.	Długość strzępek kiełkujących zarodników w μ *							
	Length of germ tubes of germinating spores in μ							
	po 3 godz. after 3 hours		po 6 godz. after 6 hours		po 9 godz. after 9 hours		po 15 godz. after 15 hours	
	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores	konid. conidia	work. ascospores
6°C	—	—	—	—	—	—	—	—
18°C	—	+	8	19	42	60	70	100
26°C	13	15	30	51	98	111	400	450
30°C	—	—	+	29	25	30	42	38
40°C	—	—	—	—	—	—	—	—

* Średnia długość 100 najdłuższych strzępek rostkowych z 50 pól widzenia mikroskopu, przy powiększeniu ok. 200 $\times$.

Mean length of 100 longest germ tubes of 50 microscopic fields, at 200 $\times$ approx.

— Brak kiełkowania — No germination

+ Początek kiełkowania + Beginning of germination

Ostatecznie więc stwierdzono, że przy stałych temperaturach nie ma większych różnic między ilością oraz czasem kiełkowania zarodników workowych i konidialnych *G. cingulata*. Istnieją tylko pewne różnice w sposobie kiełkowania zarodników workowych i konidialnych oraz nieznaczne różnice we wrażliwości zarodników workowych i konidialnych na działanie wyższych temperatur. Zarodniki konidialne tracą swą żywotność w kropli wody destylowanej w temp. 40° C, podczas gdy zarodniki workowe w tej temp. zachowują jeszcze zdolność kiełkowania.

HODOWLA NA POŻYWKACH

Glomerella cingulata z wierzby należy do grzybów dających się bardzo łatwo hodować w sztucznych kulturach. Grzyb ten był już kilkakrotnie badany na rozmaitych podłożach. Nattrass (1928) hodował *Glomerella cingulata* na pożywce agarowo-brzeczkowej, na sterylizowanych gałązkach wierzb i jabłoni oraz na kawałkach ziemniaków. Harrison (1929) zaś używał do hodowli tego grzyba sterylizowane gałązki wierzb, ziemniaki i bób. Grzyb *Glomerella cingulata* z wierzby we wszystkich przypadkach jego hodowli w kulturach przez wyżej wymienionych autorów wytwarzał zawsze stadium workowe. Stadium konidialne typu *Colletotrichum* wytwarzało się w kulturach raczej rzadko (Nattrass 1928), częściej natomiast występowało zarodnikowanie typu *Ovulariopsis* (Harrison 1929).

W niniejszych badaniach hodowano tego grzyba na następujących pożywkach: agarowo-brzeczkowej (1,8% agaru, 25% brzeczki 8° Blg.) agarowo-mineralnej (4% glukozy, 0,3% K_2HPO_4 , 0,25% $Mg SO_4$, 0,5% NH_4NO_3), agarowo-ziemniaczanej (1,7% agaru, 10% glukozy, 200 g rozdrobnionych ziemniaków gotowanych w 1 l wody przez $\frac{1}{2}$ godz.), agarowo-owsianej (1,7% agaru, 10% płatków owsianych), ryżowej (25% ryżu), płynnej Richarda (2,5% glukozy, 0,025% KH_2PO_4 , 0,2% KNO_3 , 0,125 $MgSO_4$, 0,5% NH_4NO_3 i ślad żelaza) i na sterylizowanych pędach wierzb.

Grzyb *Glomerella cingulata* rósł i rozwijał się na wszystkich wyżej wymienionych pożywkach. Grzybnia przyrastała stosunkowo najszybciej na pożywce agarowo-brzeczkowej. Nieco wolniej odbywał się wzrost grzyba na pożywce agarowo-owsianej, a jeszcze wolniej przyrastała grzybnia na pożywce z ryżu. Najgorszą z pożywek dla wzrostu grzybni okazała się pożywka agarowo-ziemniaczana z 10% dodatkiem glukozy (ryc. 6).

W celu zbadania wpływu temperatury na wzrost grzyba przeprowadzono pomiary 2 dniowych przyrostów grzybni na pożywce agarowo-brzeczkowej, agarowo-owsianej, ryżowej i agarowo-ziemniaczanej z 10% dodatkiem glukozy, w temp. 6°, 15—17°, 25° i 30° C. Tabela 3 podaje wzrost grzyba *Glomerella cingulata* na pożywce agarowo-brzeczkowej.

Ze wszystkich badanych temperatur najlepszą dla wzrostu grzybni okazała się temp. 25° C. W tej temperaturze wzrost kultur był najlepszy, nie tylko co do rozmiarów zajmowanej powierzchni (tab. 3), lecz również co do ilości wytworzonej grzybni. Grzybnia zanurzona w pożywce agarowo-brzeczkowej była początkowo różowa, zaś grzybnia powietrzna była biała. Dopiero po upływie 2—3 dni na powierzchni grzybni zjawiało się zabarwienie popielatoszare. W miejscach stykania się grzybni ze szkłem tworzyły się ciemnozabarwione, zbite strzępki o cha-

Ryc. 6. Wzrost *Glomerella cingulata* w temp. 25°C na pożywce: 1 — agarowo-brzeczkowej; 2 — owsianej; 3 — ryżowej; 4 — ziemniaczanej z 10% dodatkiem glukozy; Oś x — ilość dni po zaszczepieniu; oś y — ogólna powierzchnia w cm²
 Growth of *Glomerella cingulata* at 25°C temp. on medium: 1 — malt agar; 2 — oat agar; 3 — rice; 4 — potato agar with 10% addition of glucose. Axis x — number days after inoculation; axis y — total surface in cm²

rakterze sklerocjonalnym. Po 3 dniach od zaszczepienia kultury, na końcach strzępek grzybni powietrznej tworzyły się pojedyncze zarodniki konidialne. Po 5 dniach na powierzchni kultury zjawiało się zarodnikowanie konidialne grzyba w formie różowych kropeł. Było to zarodnikowanie typu *Colletotrichum*, które tworzyło się w kulturach tylko w przypadku wyizolowania grzyba z materiału pochodzącego z naturalnej infekcji. Przy kolejnym przeszczepieniu grzyba z pożywki na pożywkę zarodnikowanie to już nie występowało.

TABELA 3 — TABLE 3

Srednia powierzchnia kultur *Glomerella cingulata* w mm² na pożywce agarowo-brzeczkowej
 Mean surface of culture of *Glomerella cingulata* on malt agar medium, in mm²

Wiek kultury w dniach Age of culture in days	Temperatura Temperature			
	6°C	15—17°C	25°C	30°C
2	—	7,06	105,72	—
4	—	181,36	706,50	26,40
6	—	514,45	1661,06	152,00
8	9,07	1121,63	3235,45	—
10	36,29	2073,93	4973,76	211,55
12	120,70	3714,62	7850,00	254,00
14	—	4998,88	—	—

Ryc. 7. Zarodnikowanie konidialne typu *Graphium* pochodzące ze sterylizowanych pędów wierzb zarażonych przez *Glomerella cingulata*. Pow. ok. 400 $\times$
Graphium fructification derived from sterilized stems of willows infected by *Glomerella cingulata*. 400 $\times$ approx

W kulturach na gałązkach wierzb poza zarodnikowaniem typu *Colletotrichum* zauważono ponadto inny sposób wytwarzania zarodników konidialnych. Było to zarodnikowanie typu *Graphium* (ryc. 7). Zbite wiązki strzępek na szczycie rozprzeczwały się i tworzyły zarodniki. Wymiary tych zarodników były nieco mniejsze od zarodników powstających przy zarodnikowaniu typu *Colletotrichum*. Kielkujące zarodniki powstałe przy zarodnikowaniu typu *Graphium* tworzyły apresoria. Ten typ zarodnikowania konidialnego *Glomerella cingulata* nie był dotychczas obserwowany.

Ogólny wygląd kultur w temp. 15–17° C nie różnił się zasadniczo od kultur hodowanych w temp. 25° C. Niewielkie różnice występowały tylko

w tempie wzrostu i rozwoju grzyba. W temp. 30° C wzrost odbywał się wolno i po upływie 12 dni ustał zupełnie. W tej temperaturze skąpa grzybnia powietrzna zasychała. Natomiast w temp. 6° C wzrost odbywał się najwolniej i grzybnia pokrywała całą powierzchnię szalki o średn. 10 cm dopiero po 6 miesiącach. Wygląd zewnętrzny kultury w temp. 6° C odbiegał bardzo od wyglądu tejże w temp. 25° C. Na pożywce agarowo-brzeczkowej zarówno powierzchniowa, jak i zanurzona w substracie grzybnia była koloru mlecznobiałego. Grzybnia powierzchniowa była luźna. Strzępki grzybni powietrznej były dość długie i prawie wcale nierozgałęzione. Na końcach niektórych strzępek tworzyły się zarodniki konidialne, bardzo zróżnicowane pod względem długości. Po 3 miesiącach od zaszczepienia grzybnia w agarze stała się czarna, natomiast grzybnia powietrzna pozostała biała i bardzo luźna. W kulturach tych nigdy nie występowało różowe zabarwienie, tak charakterystyczne dla kultur hodowanych w wyższych temperaturach.

W sztucznych kulturach grzyba *Glomerella cingulata* z łatwością tworzyły się otocznie, które występowały zawsze w dużych skupieniach. Na pędach wierzb zaś otocznie występowały pojedynczo, umieszczone w pewnych odstępach od siebie. Czas pojawiania się w kulturach otoczni i zarodników workowych zależał w znacznej mierze od temperatury, a tylko w nieznacznym stopniu od rodzaju pożywki. Najszybciej, bo już po 8 dniach, zaczynały tworzyć się otocznie w pożywce agarowo-brzeczkowej w temp. 25° C, a po następnych 8—10 dniach otocznie były już zwykle wykształcone. Dojrzałe zarodniki pojawiały się w otocznich zwykle po 4 tygodniach od czasu zaszczepienia grzyba. W temp. 6° C otocznie zaczynały tworzyć się najpóźniej, bo dopiero po 4 miesiącach.

Czasem też zdarzały się szczepy grzyba całkowicie sterylne. W kulturach tych tworzyły się wprawdzie zbite utwory grzybniowe przypominające otocznie, ale nigdy nie znajdowano w nich worków z zarodnikami. Kultury te różniły się znacznie swym wyglądem zewnętrznym od pozostałych kultur. Charakteryzowały się one wolniejszym nieco wzrostem, ciemniejszym zabarwieniem grzybni powietrznej i prawie czarną grzybnią zanurzoną w podłożu. Podobne zjawisko bezpłodnych szczepów grzyba *Glomerella cingulata* z wierzby obserwował również Natrass (1928). Szczepy te są heterotaliczne (Arx 1957).

PATOGENICZNOŚĆ *GLOMERELLA CINGULATA*

Glomerella cingulata jest grzybem, który na wierzbie występuje bardzo często razem z grzybem *Fusicladium saliciperdu* (All. et Tub.) Lind.

Niektórzy badacze w Stanach Zjednoczonych, jak Clinton i Mc

Cormick (Rupert i Leach 1942) uważają, że właściwym pasożytem powodującym zrakowacenia na pędach wierzb jest *Fusicladium saliciperdum*, a *Glomerella cingulata* występuje na plantacjach jako pasożyt wtórny. Natomiast badacze w Anglii, jak Nattrass (1928) i Dennis (1931) uważają grzyb *Glomerella cingulata* za pasożyta o pierwszorzędnym znaczeniu dla wierzb. Doświadczenia przeprowadzone przez Dennisa wykazały, że *Glomerella cingulata* poraża zdrowe nie zranione liście i pędy wierzb. Podobnie Diercks (1957) traktuje grzyba *Glomerella cingulata* jako główny czynnik rakotwórczy pędów wikliny w Niemczech. Wreszcie niektórzy badacze, jak Harrisson (1929) w Kanadzie i Brooks i Walker (1935) w Anglii twierdzą, że obydwie te grzyby są w równym stopniu pasożytnicze i wyrządzają wiele strat w tamtejszych plantacjach wiklinowych. Również J. Kochman (1929) w Polsce stwierdza, że obydwie te grzyby mogą występować jako równorzędne pasożyty wierzb.

Obserwacje przeprowadzone w Polsce w latach 1957—59 w Bogdańcu k. Białegostoku i w 1958 r. w Brzegu n/Odrą dowodzą, że grzyb *Glomerella cingulata* wykazuje dużą aktywność pasożytniczą. Pasożyt ten w sprzyjających warunkach środowiska może być przyczyną epifitoz na plantacjach *S. americana* i *S. viminalis*.

DOŚWIADCZENIA INFEKCYJNE

Dla wyjaśnienia niezgodności w danych z literatury oraz potwierdzenia moich obserwacji polowych dotyczących stopnia patogeniczności grzyba *Glomerella cingulata* w stosunku do wierzb wykonano kilka doświadczeń infekcyjnych.

Doświadczenie I.

Celem tego doświadczenia było zbadanie stopnia patogeniczności grzyba *Glomerella cingulata* w stosunku do żywych, ale pozbawionych stałego dopływu soków pędów kilku gatunków wierzb uprawianych na naszych plantacjach.

W czerwcu 1958 r. wycięto na polu po 15 dziesięciocentymetrowych wierzchołków pędów z następujących gatunków wierzb: *S. alba*, *S. acutifolia*, *S. americana* i *S. viminalis*. Ze świeżo zebranych pędów wierzb oberwano liście. Całość materiału wydezynfekowano przez obmycie 50% alkoholem. Bezpośrednio po tym pędy rozmieszczono po 5 z każdego gatunku wierzb w 3 wydezynfekowanych płytkach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą. Podobnie liście umieszczono w 3 płytkach po 4 sztuki z każdego gatunku wierzb. Na 10 odcinków pędów i na 9 liści z każdego gatunku wierzb przy pomocy igły preparacyjnej nałożono krople zawie-

siny zarodników konidialnych (w 1 ml wody ok. 1 000 000 zarodników). Zawiesinę otrzymano z zarodników konidialnych zebranych z pędów wierzb. Pozostałe 5 odcinków pędów i 3 liście z każdego gatunku wierzby nie były zarażane i służyły jako kontrolne. Płytki z zarażonymi, jak i kontrolnymi pędami i liśćmi 4 gatunków wierzb umieszczono w termostacie w temp. 24° C. W płytkach tych zwilżano codziennie bibułę celem utrzymania wysokiej wilgotności powietrza. Przebieg i wyniki doświadczenia zebrano w tabeli 4. W lipcu 1958 roku przeprowadzono podobne doświadczenie z tą tylko różnicą, że końce odcinków pędów bezpośrednio po cięciu zostały zaparafinowane. Wyniki doświadczenia były bardzo zbliżone do wyników przedstawionych w tabeli 4.

TABELA 4 — TABLE 4

Procent porażonych odcinków pędów i oderwanych liści wierzb
w warunkach wysokiej wilgotności powietrza

Percentage of infected pieces of stems and detached willow
leaves under conditions of high relative humidity

Gatunek inokulowanej wierzby Species of inoculated willow		Czas — Time				U w a g i
		po dniach — after days				
		2	4	6	8	
<i>S. alba</i>	liście leaves	—	55,5	100,0	—	Po 6 dniach na liściach zarodnikowanie koni- dialne
	pędy stems	—	—	40,0	70,0	
<i>S. acuti- folia</i>	liście leaves	—	100,0	—	—	Po 4 dniach na liściach, a po 6 dn. na pędach zar- odnikowanie konidial- ne
	pędy stems	—	100,0	—	—	
<i>S. ameri- cana</i>	liście leaves	11,1	88,8	100,0	—	Po 6 dniach zar. koni- dialne, a po 15 dniach otocznie na pędach
	pędy stems	—	50,0	100,0	—	
<i>S. vimina- lis</i>	liście leaves	77,7	100,0	—	—	Po 4 dniach zarodniko- wanie konidialne na li- ściach
	pędy stems	—	—	60,0	100,0	

Prawie wszystkie pędy i liście infekowanych gatunków wierzb zostały porażone w równym stopniu po bardzo krótkim okresie czasu. Na większości spośród infekowanych liści i części pędów po 4 dniach wystąpiły liczne ciemne plamy. W tym samym czasie na pędach i liściach kontrolnych nie wystąpiły żadne zmiany chorobowe.

Doświadczenie II.

Celem tego doświadczenia było zbadanie stopnia patogeniczności grzyba *Glomerella cingulata* w stosunku do wierzb ukorzenionych.

W kwietniu 1958 roku ukorzeniono w wysterylizowanych wazonach z parowaną ziemią 20 sztobrów *Salix viminalis*. Na początku maja, kiedy wierzby miały ok. 20 cm wysokości, sprawdzono ich zdrowotność i przeprowadzono następujące doświadczenie infekcyjne. Rośliny w 15 wazonach opryskano dokładnie zawiesiną zarodników konidialnych *Glomerella cingulata* przy pomocy szklanego inhalatora. Pozostałe 5 roślin w wazonach opryskano czystą wodą destylowaną. Były to rośliny kontrolne. Następnie wszystkie te wazony umieszczono na okres 48 godz. pod szklanymi kloszami, wyścielonymi wilgotną bibułą. W okresie doświadczenia wazony pozostawały w szklarni, w której temperatura w ciągu doby wahała się od 17° do 22° C.

Już po 7 dniach od momentu inokulacji na liściach wystąpiły drobne plamy. Po 14 dniach plamy pojawiły się również na pędach. Zarodnikowanie konidialne nie pojawiło się jednak ani na pędach, ani na liściach. Zarodnikowanie to wystąpiło dopiero wtedy, kiedy liście z plamami oderwano od pędu i umieszczono w wydezynfekowanych płytkach Petriego wyścielonych wilgotną bibułą. Płytki z liśćmi przechowywano w szklarni obok wazonów z ukorzenionymi wierzbami. Różowe brodaweczki na liściach wytworzyły się już po 36 godz.

W czerwcu 1959 roku założono podobne doświadczenie z tą tylko różnicą, że sztoברי *S. americana* ukorzeniono w 15 wazonach na wolnym powietrzu. Rośliny te zostały opryskane zawiesiną zarodników konidialnych, podobnie jak w wyżej opisanym doświadczeniu. W ciągu 48 godz. od momentu inokulacji wazony z roślinami znajdowały się w szklarni, przykryte kloszami, wyścielonymi wilgotną bibułą. Po zdjęciu kloszów wazony wystawiono na pole. Po inokulacji, wierzby w wazonach 2 razy dziennie zraszano wodą. Wyniki doświadczenia przedstawia tabela 5.

Pierwsze objawy choroby w postaci plam na liściach wystąpiły już po tygodniu. Po 16 dniach na plamach pędów pojawiły się różowe brodaweczki złożone z zarodników konidialnych.

Z doświadczeń przeprowadzonych w szklarni i na polu wynika, że *Glomerella cingulata* poraża zupełnie zdrowe, nie uszkodzone wierzby. Pierwsze objawy porażenia występują na liściach, a potem na pędach. Przebieg choroby w doświadczeniu przeprowadzonym na wolnym powietrzu był bardzo podobny do przebiegu infekcji obserwowanej w warunkach naturalnych w Bogdańcu. Doświadczenie to wskazuje na fakt, że *Glomerella cingulata* jest dla wierzby pasożytem o pierwszorzędnym znaczeniu. Dla wzrostu i rozwoju tego grzyba potrzebna jest jednak

TABELA 5 — TABLE 5

Zarażenie przez *Glomerella cingulata* wierzb ukorzenionych
w wazonach

Infection by *Glomerella cingulata* of willows rooted in pots

Ogólna ilość roślin Total number of plants	Kontrolne Control	Inokulo- wane Inocula- ted	Z inokulowanych było Between inoculated plants made up:		
			z plamami na liściach i pę- dach po 2 tyg. with spots on leaves and stems, after 2 weeks	obumar- łych po 3 tyg. dried after 3 weeks	zdrowych healthy plants
15	5	10	7	2	1

wysoka wilgotność powietrza. W warunkach naturalnych grzyb ten z pewnością wykorzystuje wilgoć w postaci rosy, która szczególnie długo utrzymuje się w gęstych plantacjach wiklinowych na gruntach podmokłych. Stąd też wierzby rosnące w dużym zwarcu są szczególnie narażone na tę chorobę (Nattrass i Hutchinson 1929).

Doświadczenie III.

Celem tego doświadczenia było zbadanie stopnia podatności pędów na całej ich długości na porażenie przez grzyb *Glomerella cingulata*, w zależności od pory roku.

Doświadczenie to założono w czterech terminach: 2.VII, 20.VIII, 10.X.1958 oraz 1.VI.1959 roku. Każdorazowo do doświadczenia brano po 15 kawałków pędów o długości 10 cm, wyciętych z wierzchołka, środka i nasady jednorocznego pędu. Te 10 cm odcinki pędów pozbawiano liści, dezynfekowano przez obmywanie 50% alkoholem i umieszczano po 5 szt. w dziewięciu wydezynfekowanych płytkach Petriego wyłożonych zwilżoną bibułą. W doświadczeniu tym po 10 odcinków z wierzchołka, środka i nasady pędów zostało każdorazowo opryskanych przy pomocy inhalatora zawiesiną zarodników konidialnych pochodzących z gałązek wierzb (ok. 250 000 zarodników w 1 ml wody destylowanej). Odcinki kontrolne po 5 z wierzchołka, środka i nasady pędu opryskano wodą destylowaną. Wszystkie płytki umieszczono w termostacie w temp. 25° C. Bibułę wyscielającą płytki często zwilżano wodą. Wyniki doświadczenia zestawiono w tabeli 6.

Z powyższego doświadczenia wynika, że *Glomerella cingulata* najłatwiej poraża wierzchołki pędów. W ciągu czerwca i lipca w naszych warunkach pędy okazały się podatne na infekcję przez tego grzyba na

TABELA 6 — TABLE 6

Liczba porażonych sztucznie odcinków pędów *Salix americana* w zależności od pory roku i miejsca inokulacji na pędzie

Number of artificially infected pieces of stems of *Salix americana* according to the seasons of year and the place on stems

Data inokulacji Date of inoculation	Liczba odcinków pędów pochodzących z: Number of pieces of the stems derived from:								
	wierzchołka pędu top of the stem			środką pędu middle of the stem			nasady pędu base of the stem		
	ino- kulo- wa- nych ino- cula- ted	cho- rych in- fec- ted	zdrowych non- in- fec- ted	ino- kulo- wa- nych ino- cula- ted	cho- rych in- fec- ted	zdrowych non- in- fec- ted	ino- kulo- wa- nych ino- cula- ted	cho- rych in- fec- ted	zdrowych non- in- fec- ted
2.VII.1958	10	9	1	10	10	—	10	2	8
20.VIII.1958	10	7	3	10	—	10	10	—	10
10.X.1958	10	1	9	10	—	10	10	—	10
1.VI.1959	10	10	—	10	10	—	10	6	4

całej swej długości. W pierwszej połowie lata plamy powstawały na różnych wysokościach jednorocznych pędów. Jednak w drugiej połowie lata pasożyt nie był już w stanie przedostać się przez tkankę okrywającą do środkowych i dolnych partii pędów. Wtedy na infekcję najbardziej narażone były same wierzchołki pędów. Spośród 10 infekowanych pod koniec sierpnia kawałków pędów, odciętych u nasady i 10 wyciętych ze środka pędów, ani jeden z nich nie wykazał objawów choroby (tab. 6). W doświadczeniu przeprowadzonym w I połowie października objawy porażenia w postaci 2 niedużych plam wystąpiły tylko na 1 odcinku z wierzchołka pędu, natomiast wszystkie inne odcinki pędów nie podlegały porażeniu. Chociaż więc grzyb wytwarza jeszcze na jesieni zarodnikowanie konidialne i workowe, to infekcja już nie zachodzi, nie tyle ze względu na niską temperaturę, ile raczej ze względu na zmiany zachodzące w samej roślinie — gospodarzu. W doświadczeniu założonym 10 października 1958 roku poza wysoką wilgotnością była również utrzymana temp. 25° C, a mimo to jednak infekcja nie zachodziła.

Doświadczenie IV.

Doświadczenie to miało na celu zbadanie wpływu temperatury na przebieg infekcji pędów wierzb przy zachowaniu wysokiej wilgotności względnej powietrza.

Świeżo zebrane, jednomiesięczne pędy *Salix americana*, po wydezynfekowaniu 50% alkoholem, włożono do płytek Petriego wyścielonych wilgotną bibułą. Ogółem przygotowano 36 pędów, które umieszczono po 3 w 12 wydezynfekowanych płytkach. W 8 płytkach pędy opryskano dokładnie zawiesiną zarodników workowych, które otrzymano z czystych kultur (ok. 250 000 zarodników w 1 ml wody destylowanej). Pędy kontrolne w 4 pozostałych płytkach opryskano jedynie wodą destylowaną. Płytki Petriego z zainfekowanymi pędami umieszczono w stałych temp. 6°, 18°, 25° i 30° C. W każdej z tych temperatur umieszczono 2 płytki z 6 infekowanymi pędami i 1 płytkę z 3 pędami kontrolnymi. Przebieg i wyniki tego doświadczenia przedstawia tabela 7.

TABELA 7 — TABLE 7

Wpływ temperatury na przebieg infekcji pędów *Salix americana*
Effect of temperature on the infection of stems of *Salix americana*

Temp. w °C Temp. in °C	Ogólna liczba liści na 6 ino- kulowanych pędach Total number on 6 inocula- ted leaves	Liczba porażonych liści po dniach Number of infected leaves after days						Uwagi
		2	3	4	5	6	7	
6	64	—	—	—	—	—	5	Po 18 dniami pla- my pojawi- ły się na 19 liściach
18	66	3	16	17	22	22	22	
25	65	14	23	23	65	—	—	Po 5 dniami plamy na pędach
30	65	—	—	2	3	14	14	

Jak wynika z załączonej tabeli infekcja może zachodzić we wszystkich czterech badanych temperaturach. W poszczególnych temperaturach różny jest jednak okres inkubacji. W temp. 18° i 25° C objawy choroby wystąpiły już po 2 dniach, w temp. 30° C po 4 dniach, a w temp. 6° C po 7 dniach od momentu inokulacji. Najlepszą dla infekcji okazała się więc temp. 25° C, w której zostały porażone wszystkie liście na 6 inokulowanych pędach. Nieco gorszą była temp. 18° C, w której została porażona

$\frac{1}{3}$ część inokulowanych liści. Najgorszą dla infekcji okazała się temp. 6° C, w której ilość porażonych liści była najmniejsza i najdłuższy był okres inkubacji.

Temperatura wywiera również wpływ na zarodnikowanie grzyba. W tych samych warunkach wysokiej wilgotności względnej powietrza grzyb tworzył zarodnikowanie konidialne tylko w temp. 18° i 25° C, natomiast w temp. 6° i 30° C zarodnikowanie nie występowało. Płytki z temp. 6° C po 25 dniach przeniesiono do temp. 25° C. W tej temperaturze już po 3 dniach wytworzyły się na liściach liczne skupienia zarodników konidialnych.

Doświadczenie V.

Celem tego doświadczenia było znalezienie progu infekcyjnego dla grzyba *Glomerella cingulata* w stosunku do żywych pędów wierzb, ale pozbawionych stałego dopływu soków. Chodziło więc o znalezienie drogą doświadczenia takiej najmniejszej ilości zarodników czynnika chorobotwórczego, która to ilość mogłaby w sprzyjających warunkach wywołać chorobę.

W czerwcu 1958 roku wycięto z pola 80 tegorocznych pędów *Salix viminalis*. Po wydezynfekowaniu pędy te umieszczono po 5 szt. w 16 odpowiedniej wielkości wydezynfekowanych płytkach Petriego wyłożonych zwilżoną bibułą. Pędy te następnie opryskano przy pomocy szklanego inhalatora zawiesiną zarodników workowych uzyskanych ze sztucznych kultur. Stężenie zawiesiny obliczano przy użyciu pipety chemicznej i mikroskopu. Pipetą chemiczną pobrano 1 ml zawiesiny i obliczono ilość kropli zawartych w tej objętości w temp. pokojowej. Z kolei zabrano 1 kroplę zawiesiny na szkiełko podstawkowe. Na kroplę tę nałożono szkiełko nakrywkowe o znanej powierzchni. Pod mikroskopem przy 25-krotnym powiększeniu obiektywu policzono ilość zarodników mieszczących się w 20 polach widzenia. Pola te wybrano na przekątnych szkiełka nakrywkowego. Średnią liczbę zarodników z 20 pól widzenia pomnożono przez obliczoną poprzednio dla danego powiększenia mikroskopu liczbę pól widzenia, mieszczącą się w powierzchni danego szkiełka nakrywkowego. Tak więc uzyskano liczbę zarodników w 1 kropli. Liczbę tę pomnożono przez liczbę kropli zawartych w 1 ml zawiesiny w danej temperaturze i otrzymano liczbę zarodników zawartych w 1 ml zawiesiny. Następnie drogą stopniowych rozcieńczeń przygotowano zawiesiny o zawartości około 250 000, 100 000, 10 000, 1000, 500, 100 i 50 zarodników w 1 ml wody destylowanej. Każdym z siedmiu przygotowanych stężeń zawiesiny zarażono po 10 pędów. Ogółem więc zainokulowano 70 pędów. Pozostałe 10 pędów kontrolnych opryskano czystą wodą destylo-

waną. Wszystkie płytki umieszczono w temp. 25° C. Po 3 dniach od momentu inokulacji doświadczenie zlikwidowano i obliczono wyniki.

Po 2 tygodniach doświadczenie powyższe zostało powtórzone z zachowaniem tych samych warunków. Do zestawienia wyników doświadczenia obliczono ogólną liczbę liści oraz ilość liści chorych na 10 pędach przy poszczególnych stężeniach zawiesiny. Następnie wyliczono procent porażonych liści dla każdego stężenia i otrzymane średnie wartości z 2 powtórzeń przedstawiono w tabeli 8.

TABELA 8 — TABLE 8

Wpływ stężenia zawiesiny zarodników na procent porażenia
liści na pędach *Salix viminalis*

Influence of spore density suspension on percentage of infected
leaves on stems of *Salix viminalis*

Przybliżona liczba zar. w 1 ml wody de- stylowanej Approached number of spo- res in 1 cc dis- tilled water	250 000	100 000	10 000	1 000	500	100	50
Procent pora- żonych liści Percentage of infected leaves	81,7	70,7	53,6	20,7	14,2	3,8	0,0

Z załączonej tabeli widać, że do wywołania choroby na wierzbie zarodnikami grzyba *Glomerella cingulata* wystarczyła bardzo mała ilość zarodników, bo ok. 100 w 1 ml wody. Oczywiście infekcja ta zachodziła tylko w optymalnych warunkach wilgoci i temperatury. Stężenie zawiesiny zarodników wywierało wpływ na intensywność występowania choroby. Procent porażonych liści był największy przy stężeniu ok. 250 000 zarodników w 1 ml wody. Przy stężeniu ok. 10 000 zarodników w 1 ml wody stopień porażenia liści był jeszcze wysoki, bo dochodził do 54%. Przy dalszym 10-krotnym rozcieńczeniu zawiesiny procent porażonych liści gwałtownie zmniejszał się. Dalsze stopniowe rozcieńczanie zawiesiny powodowało bardziej powolny spadek procentu porażonych liści. Przy 50 zarodnikach w 1 ml wody już nie zauważono objawów porażenia. Na roślinach kontrolnych nie pojawiały się w tym czasie żadne zmiany chorobowe.

Doświadczenie VI.

Badania Arxa i Müllera (1954) i Arxa (1957) oraz moje wykazały, że zamieranie pędów wierzby, antraknozę fasoli, gorzką zgniliznę jabłek i gnicie owoców pomidorów powodują grzyby, nie różniące się między sobą morfologicznie.

Niniejsze doświadczenia infekcyjne miały dać odpowiedź na pytanie, czy pomiędzy nie różniącymi się między sobą grzybami pod względem morfologicznym istnieją jakieś różnice biologiczne, szczególnie co do wyboru rośliny gospodarza. W tym celu przeprowadzono szereg doświadczeń infekcyjnych krzyżowych.

Doświadczenia prowadzono w warunkach laboratoryjnych i szklarniowych. Przy doświadczeniach w laboratorium inokulowane rośliny umieszczano w stałej temp. 25° C w warunkach wysokiej wilgotności względnej powietrza, natomiast przy doświadczeniach w szklarni temperatura wahała się od 18° C do 27° C, a wilgotność powietrza odbiegała znacznie od optymalnej. Rośliny przeznaczone do infekcji krzyżowych przygotowywano w następujący sposób: Rośliny fasoli otrzymano w próbkach na bibule filtracyjnej zanurzonej w wodzie oraz w wazonach z ziemią. Wierzbę otrzymano ze sztobrów wsadzonych do wazonów z ziemią oraz z odcinków pędów ukorzenionych w kolbach Erlenmayera wypełnionych wodą. Do doświadczeń używano też pędów wierzchołkowych wierzb i topól, które wycinano z pola. Inokulacji poddano również dojrzałe owoce jabłoni i pomidorów, które umieszczano w zamkniętych słojach wyłożonych wilgotną bibułą.

Przeprowadzone doświadczenia krzyżowe, do których używano grzyba *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*) pochodzącego z naturalnej infekcji wierzb, fasoli, owoców jabłoni i pomidorów zestawiono w tabeli 9.

W pierwszym etapie pracy infekowano pędy wierzb, liście topól, lipy i klonu oraz młode rośliny fasoli. Jak wykazuje tabela 9 grzyb z wierzby porażał wszystkie wzięte do doświadczeń rośliny z wyjątkiem liści lipy i klonu, na których nie wystąpiły żadne zmiany chorobowe. Na liściach topoli, które po infekcji przechowywano w wilgotnych płytkach Petriego już po 2 dniach pojawiły się ciemne plamy (ryc. 8). Nieco później na tych plamach wytworzyło się zarodnikowanie konidialne w formie różowych kropel. Zarodniki z liści topoli przeniesione z powrotem na pędy wierzb wywoływały na nich takie same objawy choroby, jakie powstają przy infekcji naturalnej wierzb. Na tych pędach wierzb tworzyły się otocznie.

Doświadczenia wykazały również, że grzyb z wierzby poraża fasolę, w szczególności w warunkach wysokiej wilgotności powietrza. Taka

TABELA 9 — TABLE 9

Zestawienie wyników inokulacji przeprowadzonych w latach 1958—60
Inoculations done in 1958—1960

Data inokulacji Date of inoculation	Inokulum Inoculum	Gatunek inokulowanej rośliny Species of inoculated plant	Miejsce inokulacji Place of inoculation	Liczba inokulowanych roślin Number of inoculated plants	Czas inokulacji w dniach Time of inoculation in days	Liczba roślin Number of plants		Uwagi Remarks
						chorych infected	zdrowych non infected	
a. 1958								
2. VI	Zar. konid. z naturalnej infekcji wierzby Conidia from naturally infected willow	<i>Salix americana</i>	Wierzchołek pędu Shoot apex	10	4	10	—	Po 21 dniach wytworzyły się otocznie After 21 days perithecia were formed
2. VI	" "	<i>Salix viminalis</i> L.	Liście — leaves	5	3	5	—	
2. VI	" "	<i>Populus alba</i> L.	liście — leaves	5	2	5	—	
2. VI	" "	<i>Populus tremula</i> L.	liście — leaves	5	2	5	—	
2. VI	" "	<i>Tilia parvifolia</i> Ehrh.	liście — leaves	5	—	—	5	
2. VI	" "	<i>Acer platanoides</i> L.	liście — leaves	5	—	—	5	
2. VI	" "	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	6-dniowe rośliny w probówkach 6-days old plants in test-tubes	10	5	10	—	
2. VI	" "	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	rośliny o 2 liściach w doniczkach 2-leaved plants in pots	30	7	2	28	
2. VI	" "	<i>Salix americana</i>	pędy ukorzenione w wodzie shoots rooted in water	10	4	3	7	Doświadczenie prowadzone w szklarni Experiment done in glasshouse

	Zar. workowe z naturalnej infekcji wierzby Ascospores from naturally infected willow	<i>Salix viminalis</i> L.	liście - leaves	10	3	10	—
19. VI	" " "	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	rośliny o 3 liściach w probówkach plants with 3 leaves in test-tubes	10	3	10	—

b. 1959							
25. VI	Zar. konid. z kultur <i>G. cingulata</i> zebr. z pomidorów Conidia from the culture of <i>G. cingulata</i> collected from tomatoes	<i>Salix viminalis</i>	1-miesięczne pędy 1-month old shoots	5	5	4	1
25. VI	Zar. workowe z naturalnej infekcji wierzby Ascospores from naturally infected willow	<i>Salix viminalis</i>	1-miesięczne pędy 1-month old shoots	5	3	5	—
25. IV	" " "	<i>Malus domestica</i> Borb.	nakłute owoce picked fruits	5	8	5	—
25. IV	" " "	<i>Malus domestica</i>	nie nakłute owoce unpicked fruits	5	—	—	5
25. IV	" " "	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	dojrzałe owoce ripe fruits	5	4	4	1
25. IV	" " "	<i>Salix americana</i>	pędy ukorzenione w wodzie shoots rooted in water	10	4	4	6
25. IV	" " "	<i>Phaseolus vulgaris</i>	rośliny o 3 liściach w doniczkach 3-leaved plants in pots	30	—	1	29
25. IV	" " "	<i>Populus berolinensis</i> Wild.	liście leaves	5	3	5	—

Po 24 dniach wytworzyły się otocznie
After 24 days perithecia were formed

Doświadczenie prowadzono w szklarni
Experiment done in glasshouse

Data inokulacji Date of inoculation	Inokulum Inoculum	Gatunek inokulowanej rośliny Species of inoculated plant	Miejsce inokulacji Place of inoculation	Liczba inokulowanych roślin Number of inoculated plants	Czas inokulacji w dniach Time of inoculation in days	Liczba roślin Number of plants		Uwagi Remarks
						chorych infected	zdrowych non infected	
b. 1959								
4. V	Zar. konid. z naturalnej infekcji owoców jabłoni Conidia from naturally infected apple fruits	<i>Salix acutifolia</i>	liście na pędach leaves on shoots	42	2	42	—	
4. V	„ „ „	<i>Populus alba</i>	liście leaves	5	8	2	3	
4. V	„ „ „	<i>Salix americana</i>	pędy shoots	40	5	40	—	Po 9 dniach wytworzyło się zarodnikowanie konidialne After 9 days conidia were formed
10. VI	Zar. konid. z pędów <i>S. americana</i> sztucznie zainfekowanych zarodn. z owoców jabłoni Conidia from artificially infected shoots of <i>S. americana</i> with spores from apple fruits	<i>Salix americana</i>	pędy shoots	10	10	5	—	Po 8 dniach wytworzyło się zarodnikowanie konidialne; otocznie się nie wykształciły After 8 days conidia were formed; perithecia were not formed
c. 1960								
20. VIII	Zar. konid. ze strąków fasoli z infekcji naturalnej Conidia from naturally infected bean pods	<i>Salix americana</i>	wierzchołki pędów shoot apices	10	7	10	—	

20. VIII	„ „ „ „	<i>Salix americana</i>	liście leaves	10	8	6	4	Na dolnej str. liści wytworzyły się sku- pienia zarodników konidialnych Conidia were formed on the lower side of the leaves
20. VIII	„ „ „ „	<i>Phaseolus vulgaris</i>	rośliny o 2 liściach w próbkach plants with 2 leaves in test-tubes	6	5	5	1	Plamy wytworzyły się na nerwach i ogon- kach liściowych oraz pędach Spots were formed on nerves and petioles of the leaves and on shoots
20. VIII	Kawałeczki tkanki strą- ków fasoli zniszczonej przez grzybnie <i>Colletotrichum lin-</i> <i>demuthianum</i> Bits of bean pods tissue destroyed by <i>Colletotrichum</i> <i>lindemuthianum</i> mycelium	<i>Salix americana</i>	wierzchołki pędów shoot apices	10	5	10	—	
22. VIII	Zar. workowe z kultur wy- hodowanych z zar. pocho- dzących z naturalnej infek- cji wierzb Ascospores from cultures obtained from spores of na- turally infected willow	<i>Phaseolus vulga-</i> <i>ris</i>	rośliny o 2 liściach w próbkach plants with 2 leaves in test-tubes	6	4	5	1	
22. VIII	„ „ „ „	<i>Salix americana</i>	wierzchołki pędów shoot apices	5	3	5	—

Ryc. 8. Plamy na liściach *Populus alba* spowodowane przez *Glomerella cingulata* pochodzący z wierzby

Discoloration of leaves of *Populus alba* caused by *Glomerella cingulata* isolated from *Salix*

wysoka wilgotność powietrza była zachowana w probówkach, w których wyrosła fasola na bibule filtracyjnej zanurzonej w wodzie. Już po 4 dniach od czasu inokulacji na większości spośród inokulowanych roślin, na nerwach dolnej strony liści widoczne były jasnobrunatne plamki. Nieco później plamki te stawały się ciemniejsze i pojawiały się również na pędach. Po 6 dniach od inokulacji na zbrunatniałych nerwach liści fasoli wytworzyły się liczne różowe skupienia zarodników konidialnych.

Nieco inaczej przebiegał rozwój grzyba na fasoli wyhodowanej w doniczkach w szklarni. W doświadczeniu przeprowadzonym w 1958 roku spośród 30 inokulowanych roślin objawy choroby wystąpiły na dwóch, a w 1959 roku na taką samą ilość inokulowanych roślin porażeniu uległa tylko jedna roślina (tab. 9 a i b). Objawy choroby wystąpiły tutaj również w postaci bardzo drobnych plamek na unerwieniu liści. Po kilku dniach od czasu pojawienia się choroby połowę liści chorych umieszczono w tejże samej kabinie w szklarni w płytce Petriego wyłożonej wilgotną bibułą, a drugą połowę liści chorych pozostawiono na roślinie. Na liściach przechowywanych w płytce już po 1 dniu pojawiły się skupienia zarodników konidialnych, na liściach zaś pozostających na roślinach zarodnikowanie nie wytworzyło się.

Jednocześnie z fasolą przeprowadzono inokulację 10 ukorzenionych pędów *S. americana*. Pędy wierzby umieszczono w tej samej kabinie w szklarni, w której znajdowała się fasola. Na 10 inokulowanych wierzby

w 1959 roku porażonych zostało 3, a w 1959 roku 4 wierzby. Pędy *Salix viminalis* i *Salix americana*, inokulowane w tym samym czasie w płyt-kach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą, zostały porażone w 100%.

W sierpniu 1960 r. infekowano wierzchołki pędów i młode liście *S. americana* zarodnikami pochodzącymi z infekcji naturalnej fasoli. Grzyb ten znany jest na fasoli pod nazwą *Colletotrichum lindemuthianum* (Succ. et Magn.) Bri. et Cav. Młode wierzchołki wierzb, żywe, ale pozbawione stałego dopływu soków, opryskiwano zawiesiną zarodni-ków przy pomocy inhalatora albo też nakładano na nie kawałeczki tkan-ki pochodzącej ze strąków fasoli zniszczonej przez grzyb *Colletotrichum lindemuthianum*. Przy inokulowaniu zarodnikami objawy choroby poja-wiły się po 7 dniach na wierzchołkach pędów i po 8 dniach na liściach, natomiast przy inokulowaniu grzybnia objawy porażenia wystąpiły już po 5 dniach. Poza tym w wynikach infekcji nie było innych różnic. Na pędach i liściach wierzb symptomy choroby wystąpiły w postaci ciemnych plam, na których gdzieś tam tworzyło się zarodnikowanie konidialne.

Tak więc stwierdzono, że zarówno grzyb pochodzący z wierzby po-woduje zarażenie fasoli, jak i grzyb z fasoli wywołuje chorobę pędów wierzb. Objawów chorobowych na wierzbie wywoływanych przez grzy-ba z wierzby i fasoli nie można odróżnić aż do czasu, gdy na porażo-nych pędach wierzb zarodnikami grzyba pochodzącego z wierzby wy-twarzają się otocznie, które nie powstają na pędach wierzb zakażonych zarodnikami pochodzącymi z fasoli.

W 1959 roku do infekcji użyto też owoców jabłoni. Okazało się, że owoce jabłoni nie zranione nie zostały zainfekowane zarodnikami z wierz-by, natomiast owoce jabłoni, które w miejscach kropli z zawiesiną zarodników zraniono, wykazywały objawy porażenia. Były to ciemno-brunatne plamy z mniej lub bardziej koncentrycznie ułożonymi, różo-wymi skupieniami zarodników. Zarodnikami tymi inokulowano z kolei pędy wierzb, na których powstawały typowe objawy choroby i tworzyło się stadium workowe.

W dalszym ciągu doświadczeń zarażono pędy wierzb zarodnikami konidialnymi grzyba *Glomerella cingulata* pochodzącymi z owoców jabło-ni. Na inokulowanych pędach wierzb zarodnikami z owoców jabłoni już po 5 dniach pojawiły się ciemne plamy, a na nich skupienia zarodników konidialnych. Zarodnikami tymi inokulowano z kolei zdrowe pędy wierzb. Podobnie jak poprzednio na pędach wierzby pojawiły się plamy ze skupieniami zarodników konidialnych. Stadium workowe nie wytwo-rzyło się. Objawy porażenia wywoływane na pędach wierzb przez zarod-niki grzyba z owoców jabłoni były takie same, jak wywoływane przez zarodniki grzyba z wierzby. Z kolei również owoce jabłoni zainfekowane

zarodnikami grzyba z wierzb wykazywały taki sam obraz choroby, jak owoce jabłoni wzięte z przechwalni owoców, a więc pochodzące z naturalnej infekcji.

Wreszcie zarodnikami grzyba pochodzącego z wierzb infekowano też owoce pomidorów. Na pomidorach inokulowanych w czerwcu 1959 roku już po 4 dniach wystąpiły brunatne plamy, które stopniowo poszerzały się i stawały się bardziej wgłębione. Na plamach tych wytworzyły się bardzo liczne różowo zabarwione skupienia zarodników konidialnych.

W kwietniu 1959 roku infekowano też pędy wierzb zarodnikami konidialnymi z kultur, które pochodziły z owoców pomidorów. Również i w tym przypadku przebieg choroby na wierzbie nie różnił się niczym od wyżej opisywanych, typowych objawów porażenia.

Przeprowadzone infekcje krzyżowe wykazały, że nie różniące się pod względem morfologicznym grzyby występujące na wierzbie, fasoli, owocach jabłoni i pomidorów, nie różnią się również pod względem patogeniczności. Grzyb *Glomerella cingulata*, pochodzący z którejkolwiek z tych roślin, wywołuje na wierzbie zawsze tę samą chorobę z tymi samymi objawami.

ZIMOWANIE *GLOMERELLA CINGULATA* NA WIERZBIE

Doświadczenie I.

W dotychczasowej literaturze fitopatologicznej istnieje bardzo niewiele danych co do sposobu przenoszenia się tej choroby wierzb na rok następny. O zimowaniu grzyba *Glomerella cingulata* na wierzbie wspominają Nattrass i Hutchinson (1929). Autorzy ci podają, że *Glomerella cingulata* może zimować zarówno w postaci grzybni, jak i w postaci otoczni.

Celem potwierdzenia danych z literatury odnośnie zimowania tego grzyba założono następujące doświadczenie:

W drugiej połowie września 1958 roku zebrano w Brzegu n. Odry na plantacji *Salix americana* obumarłe wierzchołki pędów. Pędy te poddano szczegółowej analizie mikroskopowej, w wyniku której oddzielono pędy z otoczniami od pędów bez otoczni. Wybrano 70 pędów bez otoczni i 10 pędów z otoczniami. Wszystkie te pędy celem przezimowania wyłożono na pole, na którym rosła wierzba. W połowie kwietnia 1959 roku spośród 70 wyłożonych jesienią pędów pobrano z pola 7. Na pędach tych nie było jeszcze otoczni. Pędy te po wydezynfekowaniu przez obmycie 50% alkoholem umieszczono w wilgotnej płytce Petriego w temp. 25°C. Po tygodniu na 5 gałązkach zauważono liczne otocznie. Po 2 tygodniach

tj. 30 kwietnia zebrano z pola dalszych 7 pędów, na których również nie było jeszcze otoczni. Pędy te również umieszczono w płytkach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą i przechowywano w temp. 25° C. Już po 3 dniach na 3 pędach pojawiły się otocznie zawierające worki wypełnione plazmą. Tylko w nielicznych workach były już dobrze wykształcone zarodniki workowe. Między workami widać było gdzieś indziej nitkowate parafyzy, na końcach nieco rozszerzone. Dnia 14 maja zebrano z pola resztę, tj. 56 wyłożonych na zimowanie pędów *Salix americana* i poddano je analizie mikroskopowej. Na 26 spośród tych pędów znaleziono wytworzone otocznie. Worki w otocznich wypełnione były ziarnistą plazmą. Zarodnikowanie konidialne na tych pędach nie wytworzyło się. Na gałązkach z otoczniami wyłożonych na pole celem przezimowania wiosną znaleziono otocznie na wszystkich 10. Zarodniki workowe z otoczni, które zimowały na gałązkach wierzb, wykazywały duży procent kiełkowania.

Doświadczenie II.

W doświadczeniu tym starano się stwierdzić, czy zimująca grzybnia może wytworzyć wczesną wiosną poza stadium workowym również stadium konidialne.

W tym celu w połowie kwietnia i na początku maja 1958 r. wycięto z karpowin *Salix americana* po 10 odziomków pędów tzw. kikutów, na których występowały brunatne przebarwienia oraz zebrano po 10 gałązek *S. americana*, które zimowały wśród gnijących liści. Zbrunatniałe kikuty wierzb oraz obumarłe gałązki po wydezynfekowaniu rozmieszczono w płytkach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą. Płytki te pozostawiono w temp. pokojowej. Po 10—12 dniach na przebarwionych kikutach, szczególnie na brzegach przebarwień tworzyły się różowe brodaweczki zarodnikowania konidialnego. Spośród 20 kikutów pędów wyciętych z karpowin w kwietniu i maju na 12 wykształciły się brodaweczki. Na obumarłych pędach zaś zarodnikowanie konidialne nie wytworzyło się. Na 11 spośród 20 obumarłych pędów wytworzyły się jedynie otocznie *Glomerella cingulata*.

Z opisanych doświadczeń wynika, że *Glomerella cingulata* może zimować na plantacjach wierzbowych na kikutach pędów, jak też na pędach wierzb leżących na ziemi. Na pędach odciętych lub odłamanych od pnia grzyb zimuje w postaci otoczni lub grzybni, która wytwarza otocznie wczesną wiosną. Natomiast na plamach żyjących pędów wczesną wiosną wytwarza się zarodnikowanie konidialne. Dlatego też wydaje się celowe staranne usuwanie z pola porażonych pędów pozostałych po zbiorze. Również godnym zalecenia może być wycinanie pędów wiklinowych jak najniżej przy ziemi.

DYSKUSJA

Jak już zaznaczono, grzyb *Glomerella cingulata* na wierzbie notowany był przez kilku autorów pod nazwą *Physalospora miyabeana* Fuk. Po między opisami grzyba u Fukushiego i Nattrassa (cyt. wg Dennisa 1931), poza wieloma cechami wspólnymi, istnieją pewne różnice. W związku z tym Dennis (1931) wyraża wątpliwość, czy grzyb opisany przez tych autorów jest jednym i tym samym gatunkiem. Fukushi bowiem podaje, że w Japonii zarodniki konidialne tworzą się na liściach *Salix purpurea*; podobnie Dennis notuje tworzenie się zarodników konidialnych na liściach wierzb. Tymczasem Nattrass (1928) w Anglii i Diercks (1957) w Niemczech nie znaleźli zarodnikowania na liściach. Przeprowadzone przeze mnie obserwacje w Polsce są zgodne z wynikami pracy Dennisa.

W Bogdańcu w 1957 r. niejednokrotnie zauważono wykształcone brodaweczki zarodników na blaszkach i ogonkach liściowych *Salix viminalis*. W warunkach laboratoryjnych, w płytkach Petriego wyscielonych wilgotną bibułą zarodnikowanie na liściach tworzyło się prawie zawsze. Prawdopodobnie do tworzenia się brodaweczek zarodników konidialnych na liściach muszą być zachowane bardzo korzystne warunki wilgoci. W Bogdańcu w 1957 r. na polu doświadczalnym *S. viminalis* panowały korzystne warunki wilgoci. Plantacja była bardzo zwarta, ocieniona gleba była przez znaczną część lata b. mokra. Poza tym badana plantacja graniczyła z dość głębokim rowem, w którym przez cały rok znajdowała się woda.

Fukushi podaje, że trzonki konidialne są grube i nie skręcone (wg Dennisa 1931), Nattrass zaś opisuje trzonki konidialne jako spiralnie skręcone. W badanym przeze mnie materiale pochodzącym z *Salix americana* i *S. viminalis* trzonki konidialne były zawsze mniej lub bardziej skręcone.

Wg Nattrassa otocznie zjawiają się w drugiej połowie lata. Natomiast moje obserwacje dowodzą, że otocznie tworzą się również wiosną na obumarłych pędach.

Źródłem infekcji wiosennej wg Nattrassa są tylko zarodniki workowe. Obserwacje przeprowadzone w Polsce wykazują, że wcześniej na wiosnę na płamach żyjących pędów może tworzyć się zarodnikowanie konidialne, które staje się źródłem infekcji wiosennej.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji i doświadczeń oraz danych z literatury, można przyjąć, że pomimo pewnych wymienionych wyżej różnic, badany grzyb jest tym samym gatunkiem, który opisali Fukushi i Nattrass pod nazwą *Physalospora miyabeana*.

W ostatnich latach Arx i Müller (1954) i Arx (1957) w swych

pracach mikologicznych poddali szczegółowej analizie systematykę wielu rodzajów i rodzin grzybów. Wiele spośród gatunków zaliczanych dawniej do różnych rodzajów, a nawet rodzin zostało obecnie włączonych do gatunku *Glomerella cingulata*. Arx (1957) podaje ok. 600 synonimów dla tego grzyba. Jednym z tych synonimów jest *Physalospora miyabeana* Fuk. Arx i Müller (1954) stwierdzili, na podstawie budowy worków i owocników, że stadium workowe tego grzyba to typowa *Glomerella cingulata*. Stadium konidialne natomiast zaliczone zostało do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Cechą charakterystyczną grzyba *Colletotrichum gloeosporioides* jest jego duża zmienność objawiająca się wytwarzaniem przez ten gatunek wielu form (Arx 1957). Arx więc wyróżnia w obrębie gatunku *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*) 9 form. Jedną z tych form jest grzyb *Glomerella miyabeana* (Fukushi) v. Arx (comb. nov.) występujący na rodzaju *Salix*. Różnice między formami grzyba *Colletotrichum gloeosporioides* polegają na pewnych odrębnych właściwościach wzrostu w kulturach. Poszczególne formy różnią się też brakiem, względnie wytwarzaniem stadium workowego. Nie ma natomiast między nimi różnic morfologicznych. Formy te nie są również ściśle wyspecjalizowane pod względem fizjologicznym. Przeprowadzone doświadczenia infekcyjne dowiodły, że grzyb z wierzby porażał z łatwością liście topoli, fasolę, nakłuwane owoce jabłoni i pomidorów. Z kolei grzyby pochodzące z fasoli, owoców jabłoni i pomidorów powodowały na wierzbie typowe zmiany chorobowe.

Badany w niniejszej pracy grzyb, a występujący na plantacjach wiklinowych w Polsce, to typowa *Glomerella cingulata*. Grzyb ten na wierzbie zawsze z łatwością wytwarza stadium workowe.

WNIOSKI

1. Znaczenie gospodarcze *Glomerella cingulata* na plantacjach wiklinowych w Polsce jest bardzo duże. Najwięcej cierpią z powodu tego grzyba *Salix americana* i *Salix viminalis*, a więc najcenniejsze i najczęściej uprawiane wierzby koszykarskie. W roku 1957 na niektórych polach plantacji w Bogdańcu porażenie tych gatunków dochodziło do 80% i więcej.

2. Obserwacje wykazały, że grzyb *Glomerella cingulata* występuje co roku na plantacjach wiklinowych. Jednak największe nasilenie choroby pojawia się w miejscach o dużej wilgotności powietrza i dość wysokiej temperaturze. Potwierdziły to jednocześnie przeprowadzone doświadczenia w szklarni i na polu.

3. Pierwsze objawy choroby w postaci plam na liściach i pędach zjawiają się w plantacjach wiklinowych w Bogdańcu zwykle pod koniec

czerwca. W tym samym mniej więcej czasie, na plantacjach *Salix americana*, występują również objawy porażenia grzybem *Fusicladium saliciperdum*.

4. Obserwacje polowe dowiodły, że źródłem pierwszej infekcji są zarodniki konidialne wytwarzające się na chorych pędach, w których zimuje grzybnia oraz zarodniki workowe zimujące w otoczniah na porażonych pędach lub resztkach pędów.

5. Kielkujące zarodniki konidialne i workowe tego grzyba tworzą apresoria.

6. Optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników *Glomerella cingulata* jest temp. 26° C. Przy tej temperaturze kiełkowanie rozpoczyna się już po 3 godzinach.

7. *Glomerella cingulata* daje się łatwo wyizolować i hodować na sztucznych podłożach. Temperatura 25° C jest optymalna dla rozwoju grzyba.

8. Otocznie tworzą się w kulturach na sztucznych pożywkach w temp. 25° C, po upływie 4—5 tygodni.

9. Doświadczenia ze sztuczną infekcją wykazały, że infekcja najlepiej zachodzi przy wysokiej wilgotności względnej powietrza i temp. 25° C.

10. Przy sztucznej infekcji w optymalnych warunkach wilgoci i temperatury objawy choroby na pędach wierzb występują już po 2 dniach.

11. Skupienia zarodników konidialnych w formie brodaweczek pozbawionych szczecinek tworzą się na plantacjach *Salix americana* na pędach, zaś na plantacjach *Salix viminalis* również i na liściach. W warunkach infekcji sztucznej brodaweczki tworzą się na liściach wszystkich badanych gatunków wierzb. Otocznie zaś tworzą się tylko na pędach.

12. W kulturach prowadzonych na sterylizowanych pędach *Salix americana* stwierdzono występowanie zarodnikowania konidialnego typu *Graphium*. Dotychczas żaden z badaczy nie zauważył tego rodzaju zarodnikowania grzyba *Glomerella cingulata* na wierzbie.

13. W warunkach laboratoryjnych na liściach *Salix viminalis* infekcja wystąpiła przy opryskaniu zawiesiną o bardzo małej ilości, bo ok. 100 zarodników w 1 ml wody.

14. W ciągu czerwca i lipca cała długość pędu wierzy narażona jest na porażenie tym grzybem. Pod koniec lata infekcja może zachodzić już tylko na najmłodszych, wierzchołkowych odcinkach pędów.

15. W wyniku doświadczeń prowadzonych nad patogenicznością grzyba *Glomerella cingulata* w stosunku do *Salix alba*, *S. acutifolia*, *S. americana* i *S. viminalis* stwierdzono, że grzyb ten poraża wszystkie wymienione gatunki wierzb, na których tworzy zarodnikowanie konidialne i workowe.

16. Przeprowadzone doświadczenia infekcyjne dowiodły, że występujący na wierzbie grzyb *Glomerella cingulata* oprócz wierzby poraża jeszcze liście topoli, młode rośliny fasoli, dojrzałe owoce jabłoni i pomidorów. Objawy choroby na fasoli, owocach jabłoni i pomidorów nie różnią się od objawów porażenia tychże roślin w warunkach naturalnych. Jednocześnie grzyby pochodzące z pierwotnej infekcji fasoli, owoców jabłoni i pomidorów powodują na wierzbie typowe dla grzyba *Glomerella cingulata* objawy choroby.

17. Na podstawie danych z literatury i obserwacji mikroskopowych stwierdzono, że między grzybami pochodzącymi z wierzby, fasoli, owoców jabłoni i pomidorów nie ma różnic morfologicznych. Grzyby występujące na tych roślinach należą do jednego gatunku *Colletotrichum gloeosporioides*, którego stadium workowe nosi nazwę *Glomerella cingulata*.

Panu prof. dr J. Kochmanowi uprzejmie dziękuję za cenne rady i wskazówki, udzielane podczas wykonywania niniejszej pracy.

Zakład Fitopatologii SGGW
w Warszawie

(Wpłynęło dn. 14.12.1960 r.)

SUMMARY

The present work deals with the results of research conducted in the years 1957—1959 on some biological properties of fungus *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et v. Schrenk (*Physalospora miyabeana* Fuk.) incident on willow. The following species were investigated: *Salix acutifolia*, *Salix alba*, *Salix americana* and *Salix viminalis*.

Glomerella cingulata infects willow leaves and shoots (Photo 1, 2, 3). *Colletotrichum* fructification is formed by the fungus on infected shoots, and occasionally on leaves, during the summer. Beginning in mid-summer until autumn, perithecia also develop on shoots.

Judging by the experiments, *Glomerella cingulata* hibernates in the form of mycelium and perithecia which has developed in autumn. The mycelium hibernating in shoot stumps produces warts of conidial fructification in early spring. On the other hand, mycelium hibernating on dead twigs laying among decaying leaves produces perithecia in spring.

On artificial substrata at 25° C the fungus develops the conidial stage after no more than 3—5 days and ascospores, after four weeks from the inoculation of the fungus. The most frequent in cultures was the *Ovulariopsis* fructification. *Colletotrichum* fructification occurred rarely and only when the fungus was isolated from naturally infected material.

Moreover, *Graphium* fructification was ascertained for the first time on sterilized willow shoots in cultures.

The best temperature for the germination of conidia and the growth of mycelium, as in N a t t r a s s investigations, proved to be 26° C. At that temperature, the conidia and ascospores germinated rapidly, after no more than three hours; also the highest germination percentage and the most rapid growth of hyphae was observed at that temperature (Table 1, 2, Fig. 1, 2).

The experiments proved, that the temperature of 25° C and high relative air humidity are most favorable for the progress of infection. Under these conditions warts of conidial fructification developed on willow shoots and leaves after four days from the time of inoculation. Experiments with infections at various concentrations of conidial suspension showed, that the infection in *Salix viminalis* appeared after three days but only a very small number of conidia, about 100 in 1 ml water were observed. With that number of conidia, 3.8 percent of inoculated leaves were infected (Table 8). Furthermore, it was found that the intensity of infection in annual willow shoots depends on the season of the year and its actual location in the shoot.

In the first half of summer, the infection may occur along the entire length of the shoot. By the end of summer, at the same temperature and humidity, the infection attacks only the tops of shoots (Table 6).

Experiments with cross infections showed that fungus *Glomerella cingulata* apart from attacking the willow can also infect poplar leaves, bean, ripe apples and tomatoes. The symptoms of the infection on beans, apples and tomatoes did not differ from symptoms in natural conditions. At the same time the fungus derived from natural infection of beans, apples and tomatoes produced symptoms on willow typical for *Glomerella cingulata*.

The experiments confirmed the results of research of A r x and M ü l l e r (1954) and A r x (1957) according to which the fungi incident on these plants belong to a single species namely *Colletotrichum gloeosporioides* P e n z. whose ascospore stage is termed *Glomerella cingulata*.

LITERATURA

1. A l c o c k N. L., 1926, Successional disease in plants as shown in Willow Rods, Trans. Brit. Myc. Soc. 11: 161.
2. A n d e r s o n H. W., 1956, Diseases of fruit crops, New York, Toronto, London.
3. A r x J. A. (von), 1957, Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopath. Z. 29: 413.

4. Arx J. A. (von), 1957, Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze, s. 8, Amsterdam.
5. Arx J. A. (von) und Müller E., 1954, Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz, s. 194. Bern.
6. Brooks F. F. and Walker M. M., 1935, Observations on *Fusicladium saliciperdu*m, The New Phytol. 34: 64.
7. Buttler E. J., Jones S. G., 1949, Plant Pathology, s. 890, London.
8. Clinton G. P., 1929, Willow scab blight, Proc. Ann. Meeting Fifth Nat. Shade Tree Conf. s. 61. (R.A.M. IX: 500).
9. Connors I. L., McCallum A. W., Brier J. E., 1941, Willow blight in British Columbia, Phytopath. 31: 1056.
10. Dennis R. W. G., 1931, The black canker of Willows, Trans. Brit. Mycol. Soc. 16: 76.
11. Diercks R., 1957, Über den Rutenbrenner (*Physalospora miyabeana*) an Korbweiden unter besonderer Berücksichtigung zweijähriger Bekämpfungsversuche, Pflanzenschutz 9: 37.
12. Discoveries and current events. Italy, Plant pathology notes, Int. Bull. Pl. Prot. XVIII, 1, s. 1M-1M, 1943 (R.A.M. XXIII: 128).
13. Einige ziekten en plagen in culturgewassen in 1950 en hun bestijding, 1951, Versl. Pl. Ziekt. Dienst Wageningen, 118, s. 120 (R.A.M. XXXI: 476).
14. Harrisson K. A., 1929, Willow blight, Rept. Dominion Botanist for the year 1928, Div. of Botany, Canada Dept. of Agric. s. 34 (R.A.M., IX: 500).
15. Jeżewski Z. i Chodorowski P., 1956, Uprawa wikliny, Warszawa.
16. Kochman J., 1929, Studia biologiczne nad pasożytem wierzby *Fusicladium saliciperdu*m (All. et Tub.) Lind., Pam. Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejsk. w Puławach 10: 555, Puławy.
17. Leach J. G. and Rupert J. A., 1941, Black canker of Willow in West Virginia, Plant. Dis. Repr. 25: 23 (R.A.M., XXI: 355).
18. Luttrell E. S., 1951, Taxonomy of the Pyrenomycetes, Univ. Missouri Studies 24 (3).
19. Nattrass R. M., 1928, The *Physalospora* disease of the basket Willow, Trans. Brit. Soc., 13: 286.
20. Nattrass R. M. and Hutchinson H. P., 1929, „Black canker” of the basket willow J. Minis. Agric. 36: 363.
21. Peace T. R., 1939, Forest Pathology in North America, Forestry 13: 38.
22. Rupert J. A. and Leach J. G., 1942, Willow blight in West Virginia, Phytopath. 32: 1095.
23. Van Poeteren, 1935, Report on the work of the Phytopathological Service in the year 1934, Versl. Pl. Ziekt. Dienst Wageningen, 80 (R.A.M., XV: 74).