

Z badań nad biologią grzybów *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. i *V. tremulae* Aderh.

Some biological study on *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. and *V. tremulae* Aderh.

JÓZEF KOWALSKI

WSTĘP

Brunatnienie pędów i liści topoli powodowane przez grzyby *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. i *V. tremulae* Aderh. jest chorobą powszechnie występującą na różnych gatunkach topoli. Szkodliwość tej choroby wzrasta w miarę wprowadzania do nasadzeń coraz to nowych gatunków i odmian rodzaju *Populus*, często mniej odpornych od miejscowych.

Choroba ta znana jest w wielu krajach Europy i Ameryki.

W Polsce brunatnienie liści i pędów topoli jest chorobą bardzo powszechną, występującą na całym obszarze kraju. Z obserwacji dokonanych przez autora wynika, że u nas porażane są trzy gatunki topoli: *Populus alba* L., *P. Bolleana* Lauche, i *P. tremula* L. Występujące na liściach i pędach tych topoli objawy chorobowe wskazują na obecność obydwu gatunków grzybów chorobotwórczych.

Celem przeprowadzonych badań było bliższe poznanie chorób topoli powodowanych przez grzyby *Venturia populina* i *V. tremulae*. W szczególności badania odnosiły się do następujących zagadnień:

1. morfologia stadium konidialnego i workowego,
2. kielkowanie zarodników workowych i konidialnych w zależności od temperatury i czasu,
3. hodowla obydwu grzybów na pożywkach,
4. rozwój stadium workowego w okresie zimowo-wiosennym w warunkach polowych,
5. wpływ temperatury na rozwój i dojrzewanie stadium workowego,
6. wyrzut zarodników workowych w zestawieniu z warunkami atmosferycznymi,
7. sztuczna infekcja kilku gatunków topoli i wyznaczenie tzw. „pragu infekcji”.

Omawiane doświadczenia wykonane zostały w Zakładzie Fitopatologii SGGW w latach 1958—1960, pod kierunkiem prof. dra J. Kochmana, któremu za wiele cennych wskazówek składałam serdeczne podziękowanie.

PRZEGLĄD BADAŃ NAD GRZYBAMI *VENTURIA POPULINA* (VUILL.)
FABR. I *VENTURIA TREMULAE* ADERH.

Po raz pierwszy stadium konidialne tych grzybów zostało zaobserwowane i opisane przez Liberta w 1834 roku (Lind 1905) jako *Oidium radiosum* Libert.

W roku 1852 francuski badacz Desmasieres (Lind 1905) zebrął grzyba z liści *Populus alba*, określonego później przez Roberge'a jako *Cladosporium ramulosum* Rob. (Lind 1905, Kochman 1929).

Fuckel w 1869 roku (Lind 1905) określił podobnego grzyba, lecz występującego na liściach *Populus tremula* jako *Cladosporium Asteroma* Fuck.

Kilkanaście lat później, bo w roku 1883, niemiecki badacz Frank (Lind 1905) opisał tego samego grzyba, występującego również na liściach *Populus tremula* pod nazwą *Fusicladium tremulae*.

W tym samym czasie Rostroup (Lind 1905, Kochman 1929, Arx 1957) podaje, że opisany przez niego grzyb *Fusicladium ramulosum* poraża oprócz topoli także liczne gatunki wierzby.

Aderhold w 1897 roku (Lind 1905, Kochman 1929) oddziela formę grzyba występującego na topoli od grzyba porażającego wierzby; tworząc w ten sposób dwa oddzielne gatunki. Nazwę *Fusicladium ramulosum* Rost. zostawia dla grzyba porażającego wierzby, natomiast dla grzyba występującego na topolach Lind w 1905 roku wprowadza nazwę *Fusicladium radiosum* (Lib.) Lind.

Decydujące znaczenie dla dalszego rozwoju badań nad grzybami porażającymi liście i pędy topoli miała praca Prillieux (1892). Badacz ten stwierdził związek pasożytniczego stadium konidialnego z saprofitycznym stadium workowym w rozwoju grzyba.

Stadium workowe wykrył na gałązkach topoli czarnej Vuillemin w 1889 roku (Goidanich et Vivani 1939) i opisał go jako *Didymosphaeria populina* Vuill.

Nieco później, bo w roku 1897, Aderhold (Lind 1905, Gremmen 1956) stwierdza występowanie podobnego grzyba na opadłych liściach osiki (*Populus tremula*), któremu daje nazwę *Venturia tremulae* Aderh.

Dokładne badania Fabriciusa wykazały, że opisany przez Vuillemin'a grzyb pod nazwą *Didymosphaeria populina* wykazuje cechy charakterystyczne dla rodzaju *Venturia*. Dlatego też w 1902 roku zmienia on nazwę tego grzyba na *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. (Gremmen 1956).

Dalsze prace dotyczące głównie morfologii stadium konidialnego prowadzili Baldacci i Cifferi (Baldacci 1937, Arx 1957). Autorzy ci wykazali, że grzyb *Fusicladium radiosum* różni się morfologicznie od innych gatunków należących do rodzaju *Fusicladium*. Wobec tego utworzyli oni nowy rodzaj *Pollacia*, do którego zaliczyli stadium konidialne grzybów *V. populina* i *V. tremulae*, dając mu nazwę gatunkową *Pollacia radiosia* Bald. et Ciff. W przeciwieństwie do gatunków z rodzaju *Fusicladium* grzybnia *Pollacia ra-*

diosa rozrasta się w komórkach skórki, a powstające z niej trzonki konidialne są krótkie, jednokomórkowe i ułożone dość ściśle obok siebie. Szczytowa część trzonków oddziela się błoną poprzeczną, dając w ten sposób początek zarodnikom konidialnym, podczas gdy u *Fusicladium* konidia powstają na niewielkich uwypukleniach komórek trzonka (Baldacci 1937, Arx 1957, Nüesch 1960).

Szczegółowe badania nad *Pollacia radiosia* przeprowadził również Servazzi (1938), przy czym doszedł on do wniosku, że brunatnienie pędów i liści topoli powodowane jest przez dwa gatunki grzybów: *Pollacia radiosia* Bald. et Ciff. i drugi ustalony przez niego *Pollacia elegans* Serv. Ustalił on również, że grzyb *Pollacia elegans* poraża głównie topolę czarną i jest stadium konidialnym workowca *Venturia populina*. Drugi gatunek *Pollacia radiosia* będący stadium konidialnym grzyba *Venturia tremulae* występuje najczęściej na topoli białej i osice.

Pogląd Servazziego podzielany jest również przez współczesnych badaczy i systematyków (Viennot-Bourgin 1949, Butin 1957, Arx 1957).

Zewnętrzne objawy porażenia

Venturia populina

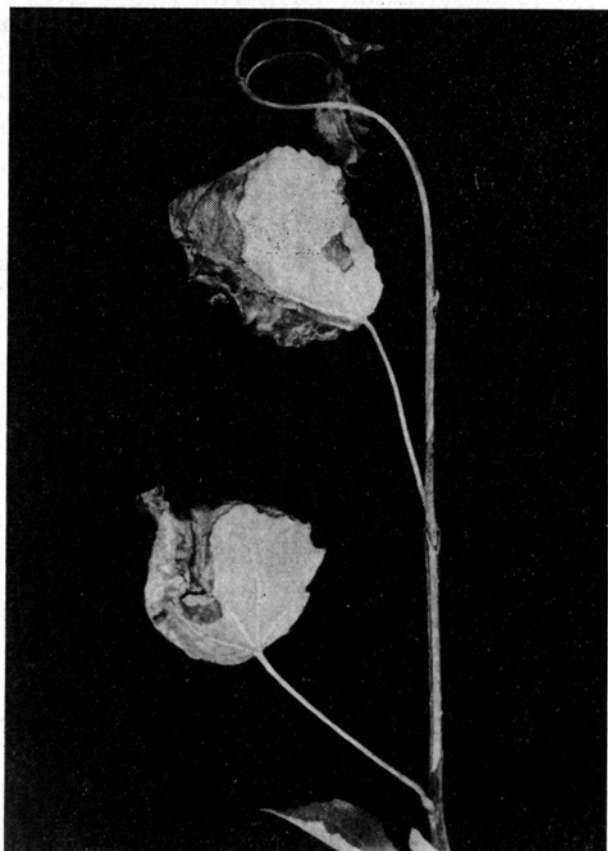
Na porażonych liściach grzyb ten wywołuje duże, o nieregularnych zarysach plamy, barwy ciemnobrunatnej lub prawie czarnej. Plamy te stopniowo powiększają się, obejmując znaczną część blaszki liściowej. Powierzchnia plam po pewnym czasie pokrywa się delikatnym, szarooliwkowym, niekiedy ciemnozielonym, zwłaszcza na brzegach plam, nalotem, utworzonym z trzonków konidialnych i zarodników grzyba. W późniejszym okresie porażona część blaszki liściowej najczęściej zasycha i wykrusza się, a liście takie przedwcześnie zamierają i opadają.

Jednocześnie z porażeniem liści następuje prawie zawsze porażenie pędów (Ryc. 1). Młode pędy poczynając od wierzchołka wraz z najmłodszymi liśćmi stopniowo ciemnieją i zamierają. Przy dalszym rozwoju choroby końce młodych pędów na długości około 5—10 cm zasychają i zginają się spiralnie lub hakowato. Często podczas wilgotnej pogody na porażonych pędach zjawia się ciemnooliwkowy lub prawie czarny nalot zarodników konidialnych grzyba.

W Polsce, głównie w okolicach Warszawy, zaobserwowano ten typ objawów chorobowych na osice — *Populus tremula* L.

Venturia tremulae

W przypadku porażenia topoli przez grzyb *V. tremulae* objawy chorobowe są nieco inne i występują przede wszystkim na liściach. Porażenie pędów, jak wynika z literatury (Butin 1957, Gremmen 1956, Viennot-Bourgin 1949) i własnych obserwacji, nie występuje lub bardzo rzadko. Charakterystyczną cechą objawów chorobowych na liściach są małe, prawie okrągłe plamki o regularnych brzegach (Ryc. 2). W warunkach sprzyjających



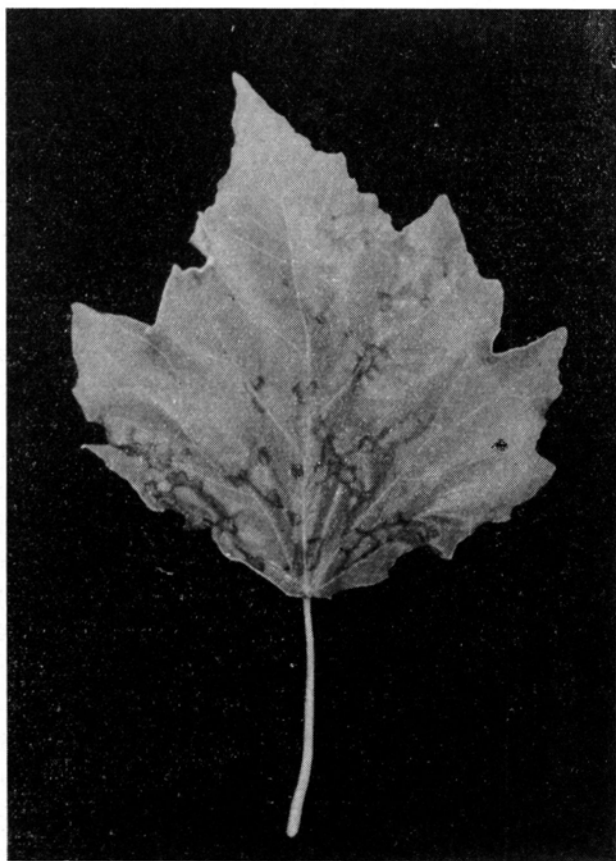
Ryc. 1. Pęd osiki (*Populus tremula*) porażony przez grzyb
Venturia populina

Twig of *Populus tremula* infected by *Venturia tremulae*

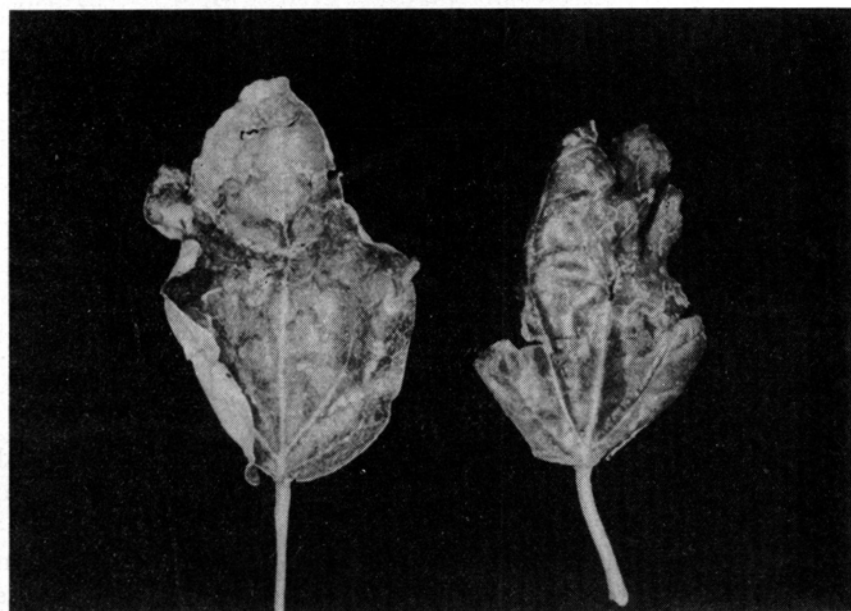
rozwojowi choroby średnica plam może dochodzić do 1 cm. Niekiedy drobne plamki łączą się w większe, niszcząc w ten sposób znaczną część blaszki liściowej. Środek plam jest najczęściej jasny, podczas gdy na brzegach występuje ciemniejsza obwódka. W czasie wilgotnej pogody powierzchnia plam pokryta jest delikatnym, brunatnym lub zielonożółtym nalotem utworzonym z trzonków i zarodników konidialnych. Porażone w ten sposób liście są bardzo często zniekształcone i pofałdowane (Ryc. 3), zaś tkanka liścia w miejscu plam zamiera, a następnie wykrusza się.

Morfologia grzybów

Venturia populina i *Venturia tremulae* posiadają dwa stadia rozwojowe: stadium workowe i stadium konidialne. Stadium workowe tych grzybów ma charakter saprofityczny i rozwija się na opadłych liściach w okresie jesienno-



Ryc. 2. Liść topoli białej (*Populus alba*) porażony przez grzyb *Venturia tremulae*
 Leaf of *Populus alba* infected by *Venturia tremulae*



Ryc. 3. Liście topoli białej (*Populus alba*) porażone przez grzyb *Venturia tremulae*
 Leafs of *Populus alba* infected by *Venturia tremulae*

zimowym i wczesną wiosną. Stadium konidialne zaliczone do rodzaju *Pollacia* rozwija się na liściach i młodych pędach topoli w okresie wegetacyjnym.

Dla wyjaśnienia, względnie potwierdzenia danych z literatury dotyczących morfologii *V. populina* i *V. tremulae*, przeprowadzono dość szczegółowe, badania morfologiczne tych grzybów, przede wszystkim dokonano licznych pomiarów poszczególnych elementów morfologicznych.

Venturia populina (Vuill.) Fabr.

Stadium konidialne (*Pollacia elegans* Serv.). Przekroje przez tkankę porażonego liścia wykazują, że grzyb *Pollacia elegans* wytwarza grzybnie barwy jasnooliwkowej, w postaci luźnych strzępek rozwijających się w komórkach skórki. Po zniszczeniu błon komórkowych skórki z grzybni formują się trzonki konidialne i zarodniki. Trzonki konidialne podobnie jak grzybnia są barwy jasnooliwkowej, proste i ustawione dość ściśle obok siebie. Zarodniki konidialne są przeważnie trzykomórkowe (Ryc. 4), rzadko dwu- lub jednokomórkowe, zabarwione na oliwkowo. Komórka środkowa jest większa od dwu skrajnych i nieco rozszerzona. Pod względem wymiarów charakteryzują się dużą różnorodnością.

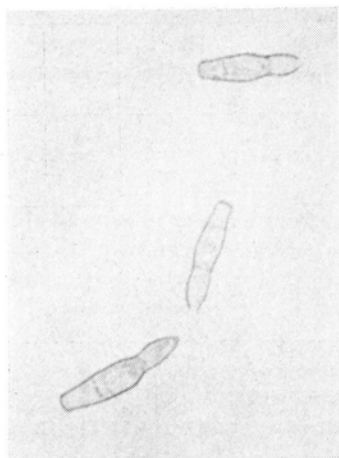
Długość zarodników w μ Length of conidia in μ	24—29	30—34	35—39	40—44	45—49
Liczba zarodników Number of conidia	5	64	27	3	1

Przeprowadzone pomiary 100 zarodników wykazały że długość ich waha się w granicach 24—47 μ , przeciętnie 35 μ , zaś szerokość 8—13 μ , średnio 11,5 μ .

Szerokość zarodników w μ Breadth of conidia in μ	8	9	10	11	12	13
Ilość zarodników Number of conidia	7	12	28	42	8	3

Stadium workowe. *Venturia populina* i *Venturia tremulae* w obrębie klasy workowców (*Ascomycetes*) zaliczane są do rodziny *Venturiaceae* w rzędzie *Pseudosphaeriales*.

Stadium workowe *Venturia populina* wytwarza się na opadłych liściach pod postacią ciemnych, dostrzegalnych gołym okiem punktów, na tej stronie liścia, która zwrócona jest do góry. Ciemne punkty to otocznie grzyba, które są różnie rozmieszczone na liściu. Najczęściej jednak grupują się na brzegu plam lub wzdłuż nerwu głównego i bocznych. Otocznie zagłębione są w tkance liścia, jednak otwór ich otoczony licznymi szczecinkami wystaje nad powierzchnię liścia.



Ryc. 4. Zarodniki konidialne grzyba
Pollacia elegans
Conidia of *Pollacia elegans* 200×



Ryc. 5. Zarodniki konidialne grzyba
Pollacia radiosa
Conidia of *Pollacia radiosa* 267×

Średnica otoczni waha się w dość dużych granicach. Najczęściej jednak, jak podaje G r e m m e n (1956), średnica otoczni wynosi 150 μ . Przeprowadzone przeze mnie pomiary 100 otoczni wykazały dość znaczną rozpiętość i nie odpowiadały wielkości podanej przez wymienionego badacza. Średnica otoczni tego grzyba waha się od 172 μ do 282 μ , przy czym najwięcej było otoczni o średnicy 220 μ .

Wielkość otoczni w μ Dimension of perithecia in μ	172—190	191—200	201—220	221—240	241—260	261—280	282
Liczba otoczni Number of perithecia	13	2	55	17	8	4	1

Worki powstające w otoczniah są przeważnie wydłużone, na szczycie zaokrąglone, a niekiedy na 1/3 swej długości nieco rozszerzone. Dolna część worka zwęża się charakterystycznie tworząc coś w rodzaju piętki. Ściany worków są dość delikatne o podwójnej błonie. W dojrzałych workach najpierw pęka błona zewnętrzna, a nieco później wewnętrzna. Przerwanie błony wewnętrznej umożliwia uwolnienie się zarodników. Przeciętne wymiary worka wynoszą 125 $\mu \times 12,5 \mu$.

Długość worków w μ Length of asci in μ	70—90	91—110	111—130	131—150	151—170	171
Ilość worków Number of asci	3	13	43	37	3	1

Szerokość worków w μ Breadth of asci in μ	9	10	11	12	13	14	15	16
Liczba worków Number of asci	2	6	20	27	13	7	5	3

Zarodniki workowe są dwukomórkowe, w zarysie eliptyczne, barwy oliwkowej, o wymiarach $18-21 \mu \times 10-13 \mu$, średnio $20 \mu \times 11,5 \mu$.

Długość zarodników workowych w μ Length of ascospores in μ	18	19	20	21	Szerokość zarodników workowych w μ Breadth of ascospores in μ	10	11	12	13
Liczba zarodników workowych Number of ascospores	6	30	51	13	Liczba zarodników workowych Number of ascospores	8	64	22	6

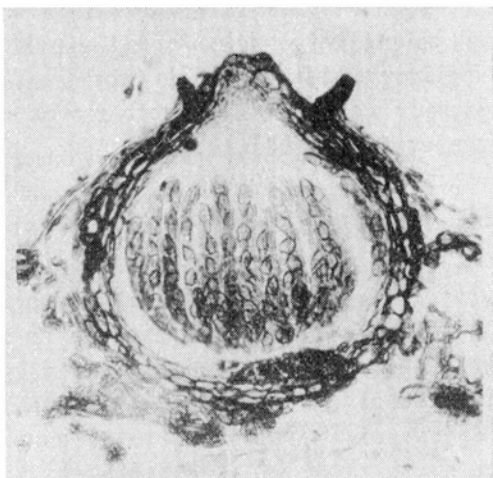
W każdym worku znajduje się 8 zarodników workowych ułożonych ukośnie jeden pod drugim z tym, że komórka większa zarodnika skierowana jest zawsze ku górze. Niekiedy zdarza się, że w dolnej części worka ułożone są w dwu rzędach, natomiast w wierzchołkowej części worka znajdują się pojedyncze zarodniki.

Venturia tremulae Aderh.

Stadium konidialne (*Pollacia radiosa* Bald. et Ciff.).

Stadium konidialne tego grzyba znane pod nazwą *Pollacia radiosa* rozwija się głównie na liściach topoli białej. W porażonych tkankach wytwarza on grzybnie barwy jasnooliwkowej, z której na powierzchni porażonych liści formują się trzonki konidialne i zarodniki. Morfologicznie grzyb ten zbliżony jest do gatunku *Pollacia elegans*, a różni się jedynie mniejszymi wymiarami zarodników. Zarodniki konidialne *Pollacia radiosa* są barwy jasnooliwkowej, przeważnie dwukomórkowe (Ryc. 5), chociaż i tu można niekiedy spotkać jedno, a nawet trzykomórkowe. U zarodników dwukomórkowych komórka szczytowa jest nieco zaokrąglona i znacznie większa od komórki dolnej. Z przeprowadzonych pomiarów wynika, że długość tych zarodników wynosi $19 \mu-35 \mu$, przeciętnie $26,5 \mu$, natomiast szerokość mieści się w granicach $7 \mu-12 \mu$, przeciętnie $9,5 \mu$. Dane pomiarów naszego materiału odpowiadają wielkościom podanym w literaturze (Servazzi 1938, 1939, Baldacci 1937, Viennot-Bourgin 1949).

Ryc. 6. Przekrój przez otocznę grzyba *Venturia tremulae*
 Cross section through perithecium of *Venturia tremulae* 147×



Długość zarodników konidialnych w μ Length of conidia in μ	19	20—25	26—30	31—35
Liczba zarodników Number of conidia	1	5	91	3

Szerokość zarodników konidialnych w μ Breadth of conidia in μ	7	8	9	10	11	12
Liczba zarodników Number of conidia	10	29	34	13	12	2

Stadium workowe. Stadium to pod postacią otoczni wytwarza się na opadłych liściach, w okresie zimy i wczesnej wiosny. Dojrzałe otocznie grzyba *V. tremulae* (Ryc. 6) są to utwory kuliste, niekiedy lekko spłaszczone barwy brunatnej, grupujące się przeważnie wzdłuż nerwu głównego. Otocznia zagłębiona jest w tkance liścia, jedynie otwór jej otoczony licznymi szczecinkami znajduje się nad powierzchnią liścia. Średnica otoczni mieści się w granicach 160—250 μ , najczęściej jednak otoczni spotyka się o średnicy 201 μ .

Wielkość otoczni w μ Dimension of perithecia μ	160—170	171—190	191—210	211—230	231—250
Liczba otoczni Number of perithecia	1	17	69	7	6

Worki powstające w otocznich są wydłużone, na szczycie przeważnie zaokrąglone, zaś w dolnej części charakterystycznie zwężone. Wyglądem morfologicznym zbliżone są do worków *V. populina*. Przeprowadzone pomiary wykazały jednak, że worki tego grzyba są nieco mniejsze: przeciętne wymiary wynoszą $111 \mu \times 11 \mu$.

Długość worków w μ Length of asci in μ	71—90	91—110	111—130	131—150
Liczba worków Number of asci	8	52	37	3

Szerokość worków w μ Breadth of asci in μ	7	8	9	10	11	12	13	14
Liczba worków Number of asci	3	7	10	14	27	16	19	4

W każdym worku znajduje się osiem zarodników ułożonych ukośnie jeden pod drugim. Zarodniki te są dwukomórkowe, w zarysie eliptyczne, barwy oliwkowej o wymiarach $15—19 \mu \times 5—11 \mu$, przeciętnie $17 \times 9 \mu$.

Długość zarodników workowych w μ Length of ascospores in μ	15	16	17	18	19	Szerokość zarodników workowych w μ Breadth of ascospores in μ	5	8	9	10	11
Liczba zarodników Number of ascospores	9	16	64	10	1	Liczba zarodników Number of ascospores	2	7	52	38	1

Kielkowanie zarodników

Kielkowaniem zarodników konidialnych zajmowali się dotychczas Serwazzi (1935, 1938), Hafield (1946) i częściowo Goidanich (1936). Badacze ci nie podają dokładnie, na jakim podłożu i w jakich warunkach przeprowadzali kielkowanie zarodników. Zaznaczają jedynie, że optymalną temperaturą dla kielkowania zarodników *P. elegans* i *P. radiosa* jest temperatura, $15—20^{\circ}\text{C}$, a dla wzrostu grzybnii temperatura około 25°C . Brak jest natomiast w literaturze prac dotyczących kielkowania zarodników workowych. Dlatego

też wiosną 1958 roku przeprowadzono doświadczenie nad kiełkowaniem zarodników workowych i konidialnych. W doświadczeniu tym chodziło przede wszystkim o zbadanie sposobu kiełkowania oraz wpływu temperatury i czasu na kiełkowanie zarodników.

Kiełkowanie zarodników zarówno workowych, jak i konidialnych przeprowadzono w kropli zwykłej wody w następujących temperaturach 6°, 15°, 20°, 25° i 30 °C. Proces kiełkowania obserwowano po 2, 4, 8, 12, 24, 48 godzinach.

Zarodniki workowe przed kiełkowaniem nieco pęcznieją. Kielkując wytwarzają przeważnie dwie strzępki rostkowe na przeciwległych biegunach zarodnika, z których jedna wyrastająca z większej komórki rośnie znacznie szybciej od strzępki wyrastającej z mniejszej komórki. Niekiedy zdarza się, że obydwie strzępki wyrastają tylko z większej komórki zarodnika, przy czym strzępka wyrastająca z bieguna komórki rośnie zazwyczaj szybciej niż wyrastająca z jej boku. Często zarodniki przy kiełkowaniu wytwarzają trzy strzępki. W tym przypadku dwie strzępki wyrastają po bokach komórki większej, jedna zaś na przeciwnym biegunie zarodnika z komórki mniejszej. Bardzo często z zarodnika wyrasta tylko jedna strzępka z większej bądź mniejszej jego komórki.

Kiełkowanie zarodników konidialnych przebiegało podobnie jak kiełkowanie zarodników workowych.

Załączona tabela 1 ilustruje procentowy przebieg procesu kiełkowania zarodników workowych i konidialnych w zależności od czasu i temperatury.

Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników workowych *V. populina* jest temperatura 15 °C, a dla zarodników *V. tremulae* 25 °C. W tych właśnie temperaturach zarodniki workowe omawianych grzybów zaczynają kiełkować najwcześniej i w największej ilości. Już po 4 godzinach ilość kiełkujących zarodników przekracza 50 %, a po 8 godzinach ilość kiełkujących zarodników dochodzi do 90 %. Nieco słabsze kiełkowanie zarodników workowych dało się zaobserwować w temperaturze 20 °C. W temperaturze tej ilość kiełkujących zarodników obliczona po 48 godzinach wynosi: dla *V. populina* 71 %, dla *V. tremulae* 89 %. Natomiast temperatury zarówno wyższe, jak i niższe od wyżej podanych są daleko mniej sprzyjające dla kiełkowania zarodników workowych.

Jeżeli chodzi o kiełkowanie zarodników konidialnych, to najlepsza okazała się dla obydwu grzybów temperatura 20 °C. Zarodniki konidialne w stosunku do workowych kiełkują znacznie wolniej. Proces kiełkowania w optymalnej temperaturze zaczyna się dopiero po 4 godzinach, przy czym ilość kiełkujących zarodników dopiero po 48 godzinach wynosi 90 %. Daleko słabsze jest kiełkowanie zarodników konidialnych w temperaturze 6 °C. W tej temperaturze obserwuje się tylko sporadyczne przypadki kiełkowania zarodników konidialnych i to dopiero po 24 godzinach. W temperaturze 30° nie zaobserwowano w ogóle kiełkowania tych zarodników.

HODOWLA NA POŻYWKACH

Czyste kultury z zarodników workowych *V. populina* i *V. tremulae* otrzymano w następujący sposób. Kilkanaście razy wymyte wodą wycinki liści z dojrzałymi otoczniami przytwierdzono do korka z waty, którym zatkano 100 ml kolbki. Uwalniające się z otoczni zarodniki workowe padając na powierzchnię pożywki agarowo-brzeczkowej, kiełkowały dając początek kulturze grzyba, którą przenoszono do szalek Petriego na świeżą pożywkę.

Kultury omawianych grzybów otrzymano również z zarodników konidialnych. Wyizolowane z porażonych liści zarodniki przeniesiono do próbki z wyjałowioną wodą. 1 ml tej zawiesiny wylano do szalki Petriego na pożywkę agarowo-brzeczkową. Po wyparowaniu wody z powierzchni pożywki odwrócono szalkę do góry dnem i obserwowano pod małym powiększeniem mikroskopu, zaznaczając miejsca z pojedynczymi zarodnikami. Następnie w szafce do szczepień wycinano wyjałowionym skalpelem kawałki pożywki z zarodnikiem w miejscach uprzednio zaznaczonych i przenoszono do innych szalek ze świeżą pożywką. Po 6—8 dniach w miejscu zaszczepienia rozwinęła się delikatna grzybnia, którą przeszczepiano kilka razy w odstępach dwutygodniowych.

Po otrzymaniu czystych kultur grzyby te hodowano na następujących pożywkach:

- 1) agarowo-brzeczkowa (250 ml brzeczki, 17 g agaru, 750 ml wody),
 - 2) agarowo-brzeczkowa z dodatkiem wyciągu z liści topoli (M e n o n 1956)
- 30 g suchych i skruszonych liści zalano na 12 godz 500 ml ciepłej wody. Po przefiltrowaniu do 250 ml tego wyciągu dodano 250 ml brzeczki, 17 g agaru i dopełniono wodą do 1000 ml, a następnie sterylizowano w 120 °C.

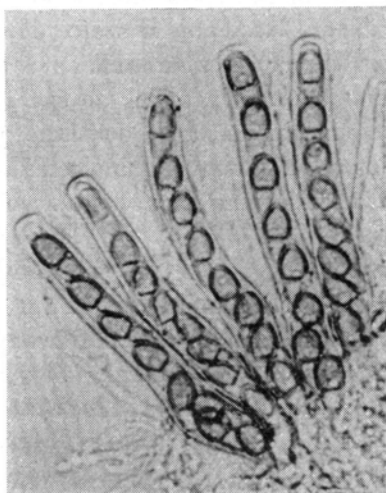
Kultury trzymano w temperaturze 25 °C, która jest optymalną temperaturą dla wzrostu tych grzybów. Wzrost badanych grzybów jest bardzo powolny. Po 4 tygodniach od chwili zaszczepienia średnica kultur wynosiła średnio około 3—4 cm. Zarys kolonii badanych grzybów bywa różny i nigdy nie ma jakiegos regularnego kształtu. Pierwsze zarodniki konidialne we wszystkich kulturach wytworzyły się po 3 tygodniach do chwili zaszczepienia na pożywkę agarowo-brzeczkowej z dodatkiem wyciągu. Kultury hodowane na pożywkę agarowo-brzeczkowej zarodnikowały znacznie później, bo dopiero po 5 tygodniach. Kształt, barwa i wielkość zarodników wytworzonych na pożywkach odpowiadały zarodnikom powstającym w warunkach naturalnych.

Celem otrzymania otoczni i zarodników workowych wyhodowane kultury przeniesiono 7.I.1959 r. do chłodni o temperaturze 2 °C (G r e m m e n 1956). Co 10 dni przeglądano szalki i oglądano pod mikroskopem stan rozwojowy tworzących się otoczni.

Już po 3 tygodniach od daty przeniesienia kultur do chłodni zaobserwowano powstawanie utworów zbliżonych wyglądem do otoczni. Pierwsze otocznie z wykształconymi szczecinkami stwierdzono 2.III.59 r. Otocznie te tworzyły się w kulturach grzyba *Venturia populina* otrzymanych z zarodników worko-

wych i konidialnych hodowanych na pożywce agarowo-brzeczkowej z dodatkiem wyciągu. Pożywka agarowo-brzeczkowa okazała się w tym przypadku gorsza. Proces formowania otoczni przebiegał tu znacznie wolniej i jak się później okazało, nie wszystkie otocznie osiągały całkowitą dojrzałość. Makroskopowo były one widoczne w postaci drobnych, czarnych punkcików występujących przeważnie na powierzchni pożywki, niekiedy przykryte jeszcze grzybnią powietrzną. 10 kwietnia wykryto kilka otoczni tego grzyba z wykształconymi już workami. Proces formowania worków był bardzo przewlekły i trwał mniej więcej do połowy maja.

Pierwsze worki z wykształconymi i dojrzałymi zarodnikami workowymi zauważono 20 maja 1959 (Ryc. 7). Pod względem morfologicznym worki te i zarodniki nie różniły się w niczym od wytwarzanych w warunkach naturalnych.



Ryc. 7. Worki i zarodniki workowe grzyba *Venturia populina* otrzymane w sztucznych kulturach

Asci and ascospores of *Venturia populina* from artificial culture 400×

Grzyb *Venturia tremulae* w tych warunkach stadium workowego nie tworzył. Powstawały wprawdzie na powierzchni pożywki utwory podobne z wyglądu do otoczni, jednak nie doszło w nich do wytworzenia worków i zarodników workowych.

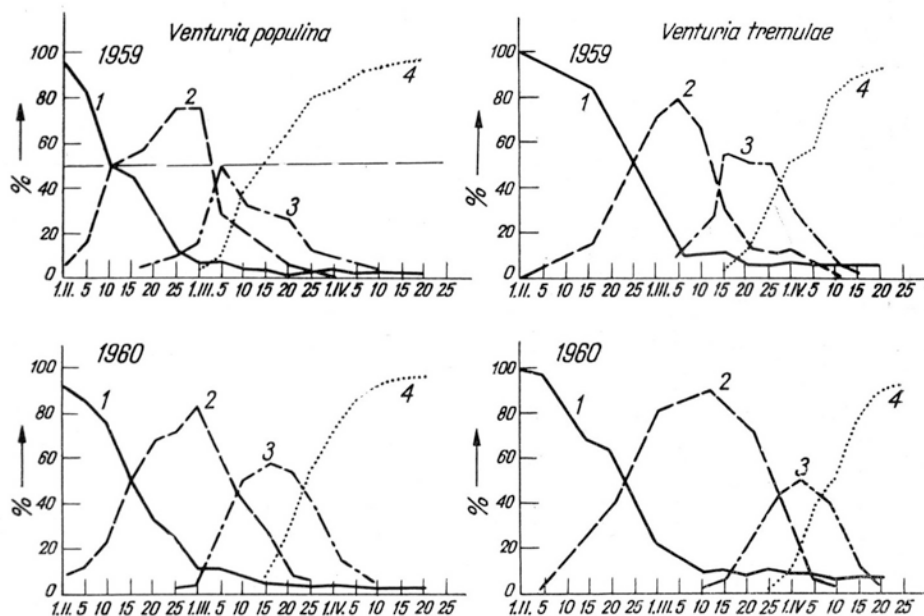
Doświadczenie to potwierdziło wyniki badań G r e m m e n a (1956), któremu również nie udało się na sztucznym podłożu otrzymać stadium workowego grzyba *Venturia tremulae*. Jednocześnie z doświadczenia wynika, że decydującym czynnikiem dla tworzenia się otoczni *Venturia populina* jest odpowiednia temperatura, przeważnie w granicach od 0 do +5 °C.

BADANIA NAD ROZWOJEM STADIUM WORKOWEGO W WARUNKACH POŁOWYCH

Badania te miały na celu poznanie rozwoju stadium workowego grzybów *Venturia populina* i *Venturia tremulae* w warunkach naturalnych okolic Warszawy. W szczególności chodziło o określenie takich momentów rozwojowych jak: początek powstawania owocników, formowanie się w nich worków i za-

rodników oraz dojrzewania zarodników workowych. Poza tym w badaniach tych starano się uchwycić i wykazać pewne różnice rozwojowe istniejące prawdopodobnie między omawianymi gatunkami. Należy jednocześnie zaznaczyć, że są to pierwsze badania tego typu prowadzone nad grzybami *Venturia populina* i *Venturia tremulae*. Doświadczenia te prowadzono w latach 1959 i 1960.

Metoda badań. Jako materiał do badań posłużyły mi nagromadzone późną jesienią liście topoli białej i osiki, w parku SGGW, które zabezpieczono przez przykrycie siatką. Metoda badań (Borecki 1957) polegała na systematycznym oznaczaniu stanu rozwojowego otoczni co 5 dni (1, 5, 10, 15, 20, 25 każdego miesiąca). Obserwacje rozpoczęto 10 listopada z tym, że



Ryc. 8. Rozwój stadium workowego w okresie od 1. II. do 20. IV. w latach 1959 i 1960
Perithecial stage development from 1. II. — 20. IV. in years 1959 and 1960

Oś rzędnych: ilość otoczni; oś odciętych: terminy obserwacji. 1 — ilość otoczni bezworkowych; 2 — ilość otoczni z workami; 3 — ilość otoczni z zarodnikami workowymi; 4 — ilość otoczni z dojrzałymi zarodnikami workowymi

Ordinate: percentage number of perithecia; abscissa: date of observations 1 — number of perithecia without asci; 2 — number of perithecia with asci; 3 — number of perithecia with ascospores; 4 — number of perithecia with mature ascospores

szczegółowym badaniem objęty był okres od 1 lutego do 20 kwietnia, tj. do momentu wyrzutu zarodników workowych. Materiał do obserwacji pobierano w formie próbki z całej głębokości warstwy liści. Następnie losowo wybierano 10 liści, z których preparowano otocznie i oznaczano ich stan rozwojowy.

Z każdego liścia preparowano 10 otoczni. Początkowo badania polegały na tym, że robiono skrawki z zimujących liści, na których obserwowano zaczątki otoczni. Od czasu gdy otocznie były już widoczne na powierzchni liści, wydo-

Tabela — Table 2

Rozwój stadium workowego w okresie od 1 lutego do 20 kwietnia w latach 1959 i 1960
 Perithelial stage development from 1 February — 20 April in years 1959 and 1960

Luty — February

Stadium	1.II.				5.II.				10.II.				15.II.				20.II.				25.II.			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>Venturia populina</i> 1959	95	5	—	—	83	17	—	—	52	48	—	—	46	54	—	—	30	63	7	—	14	76	10	—
<i>Venturia tremulae</i>	99	1	—	—	96	4	—	—	91	9	—	—	86	14	—	—	71	29	—	—	48	52	—	—
<i>Venturia populina</i> 1960	92	8	—	—	87	13	—	—	76	24	—	—	51	49	—	—	33	67	—	—	25	72	3	—
<i>Venturia tremulae</i>	100	—	—	—	97	3	—	—	84	16	—	—	69	31	—	—	63	37	—	—	40	60	—	—

Marzec — March

Stadium	1.III.				5.III.				10.III.				15.III.				20.III.				25.III.			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>Venturia populina</i> 1959	7	76	17	—	8	32	50	10	5	22	34	39	4	13	30	53	2	7	26	65	3	4	13	80
<i>Venturia tremulae</i>	30	70	—	—	12	79	9	—	11	69	20	—	12	31	54	3	7	15	66	12	6	12	50	32
<i>Venturia populina</i>	12	83	5	—	12	61	27	—	9	41	50	—	5	30	57	8	4	12	55	29	4	7	34	55
<i>Venturia tremulae</i> 1960	22	78	—	—	17	83	—	—	10	87	3	—	11	82	7	—	9	72	19	—	11	50	37	2

Kwiecień — April

Stadium	1.IV.				5.IV.				10.IV.				15.IV.				20.IV.				25.IV.			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1959																								
<i>Venturia populina</i>	4	2	10	84	3	—	7	90	3	—	3	94	3	—	—	97	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>Venturia tremulae</i>	7	12	30	51	6	6	19	69	7	2	9	82	7	—	3	90	5	—	3	92	—	—	—	—
1960																								
<i>Venturia populina</i>	5	—	22	73	3	—	11	86	3	—	4	93	4	—	—	96	4	—	—	96	—	—	—	—
<i>Venturia tremulae</i>	9	31	48	12	9	8	46	37	6	3	38	53	8	—	14	78	7	—	2	91	8	—	—	92

bywano je igłą z liścia i rozgniatało na szkiełku przedmiotowym. Preparowanie otoczni przeprowadzano bezpośrednio po pobraniu próbki z ogrodu. Stan rozwojowy 100 przeglądanych otoczni oznaczano według czterostopniowej skali, stosowanej przez B o r e c k i e g o (1957), w której wyróżnia następujące stadia rozwojowe:

- 1) otocznie bezworkowe,
- 2) otocznie z pierwszymi workami,
- 3) otocznie z workami i formującymi się zarodnikami workowymi,
- 4) otocznie z workami i pierwszymi dojrzałymi zarodnikami.

Do stadium formującego się worka zalicza on utwory o kształcie i wymiarach zbliżonych już do wyrosniętych worków. Momentem formowania się zarodników workowych jest proces różnicowania się treści worka na 8 oddzielnych skupień, a utwory te nie wykazują jeszcze podziału na dwie komórki. Za zarodniki dojrzałe uważa zarodniki o budowie dwukomórkowej, zarówno bezbarwne, jak i zabarwione na oliwkowo.

W y n i k i. Szczegółowe wyniki obserwacji nad stanem rozwojowym otoczni grzybów *V. populina* i *V. tremulae* przedstawione są w tabeli 2 i na wykresie (Ryc. 8). Rozwój stadium workowego tych grzybów w latach 1959 i 1960 przebiegał następująco:

Rok 1959

Venturia populina.

Pierwsze wykształcone i widoczne na powierzchni liści otocznie zaobserwowano w drugiej połowie grudnia 1958 r. Od tego czasu ilość ich stale wzrastała, a pojedyncze otocznie z formującymi się workami wykryto już 20 stycznia 1959 r. 1 lutego stwierdzono również obecność tylko nielicznych otoczni, w których rozpoczęty był proces formowania worków. W ostatnich dniach lutego na skutek ocieplenia rozwój stadium workowego *V. populina* staje się bardzo intensywny. 20 lutego pojawiają się w otocznich worki z formującymi się zarodnikami. Pierwsze dojrzałe zarodniki znaleziono już 1 marca, a około 15 marca ilość otoczni z dojrzałymi zarodnikami przekracza 50%. Po 4 tygodniach, tj. około 20 kwietnia grzyb *V. populina* dojrzał całkowicie.

Venturia tremulae.

Pierwsze otocznie wykryto w drugiej połowie grudnia 1958 r., a więc w tym samym czasie co u *V. populina*. Jednakże proces formowania się worków i zarodników workowych przebiegał u tego grzyba nieco wolniej. Dopiero 5 marca 1959 r. zaobserwowano tu pierwsze worki, w których zaczęły formować się zarodniki workowe. 15 marca, a więc w dwa tygodnie później niż u grzyba *V. populina*, wykryto dojrzałe zarodniki workowe. Od tej chwili dojrzewanie zarodników workowych przebiega bardzo szybko, tak że około 20 kwietnia grzyb ten osiąga całkowitą dojrzałość.

Rok 1960

Venturia populina.

Pierwsze otocznie widoczne na powierzchni liści zaobserwowano podobnie jak w roku poprzednim w trzeciej dekadzie grudnia 1959 r. (28.XII.1959 r.). Nieliczne otocznie z wykształconymi workami wykryto 25 stycznia 1960 r. Na początku lutego stan rozwojowy tego grzyba jest podobny jak w roku poprzednim, a ilość otoczni z workami na dzień 1.II. wynosi 8 %. Mimo że luty w tym roku był znacznie chłodniejszy (średnia temp. miesiąca $-3,1^{\circ}\text{C}$), proces formowania worków przebiega dość intensywnie. Pierwsze worki z formującymi się zarodnikami wykryto już 25 lutego. Jednak największe nasilenie procesu powstawania zarodników workowych przypada w tym roku na połowę marca. W tym bowiem czasie nastąpiło znaczne ocieplenie. Dnia 15 marca, a więc znacznie później niż w roku poprzednim, rozpoczął się proces dojrzewania zarodników workowych, który dalej przebiega bardzo szybko i już po 10 dniach, tj. 25.III ilość otoczni z dojrzałymi zarodnikami wynosi 55 %. Podobnie jak w roku poprzednim grzyb ten osiąga całkowitą dojrzałość między 15—20 kwietnia.

Venturia tremulae.

Pierwsze bezworkowe otocznie wykryto w tym samym czasie co u *V. populina*. Proces formowania worków przebiegał w tym roku znacznie wolniej. Dopiero pod koniec pierwszej dekady marca 90 % otoczni posiada wykształcone worki. Znaczne ocieplenie, które nastąpiło po 10 marca, spowodowało masowe formowanie się w workach zarodników workowych. Zarodniki te dojrzewały dopiero po 25 marca, a więc 10 dni później niż w roku 1959. Całkowitą dojrzałość grzyb ten osiągnął pod koniec kwietnia.

Z przeprowadzonych badań i obserwacji wynika, że zarówno u *V. populina*, jak i u *V. tremulae* stadium otoczni bezworkowych kończy się na przedwiośniu.

Formowanie worków w otocznich, mimo niskiej temperatury, przebiega dość szybko. Występowanie otoczni bezworkowych w późniejszym okresie nie ma związku z procesem dojrzewania. Są to otocznie jałowe, a ilość ich u *V. populina* wynosi około 5 %, zaś u *V. tremulae* 7—8 %.

Proces formowania zarodników workowych u *V. populina* rozpoczyna się przeważnie już w końcu lutego, jest nieco przewlekły i kończy się dopiero na początku kwietnia. Nieco później, bo około połowy marca, formują się pierwsze zarodniki workowe grzyba *V. tremulae*. Proces ten, podobnie jak u *V. populina*, trwa kilka tygodni.

Dojrzewanie zarodników workowych przebiega dość szybko. Różnice w terminie rozpoczęcia się tego procesu u badanych gatunków są dość wyraźne. W przypadku grzyba *V. populina* dojrzewanie zarodników workowych zaczyna się zwykle między 1 a 15 marca, przy czym w latach o łagodnej zimie już w połowie marca ilość otoczni z dojrzałymi zarodnikami może przekroczyć 50 %.

Proces dojrzewania zarodników workowych *V. tremulae* rozpoczyna się przeważnie w drugiej połowie marca. Przy sprzyjających warunkach termicznych dopiero w pierwszych dniach kwietnia ok. 50 % otoczni posiada dojrzałe zarodniki workowe.

Wpływ temperatury na dojrzewanie stadium workowego

Punktem wyjścia do tych badań były prace Holza (1938) nad parchem jabłoniowym (*Venturia inaequalis*) i Boreckiego (1957) nad parchem gruszkowym (*Venturia pirina*). Opracowana przez Holza metoda przewidywania rozwoju grzyba opiera się na związku między rozwojem stadium workowego a sumą średnich temperatur dobowych. W wyniku kilkuletnich badań stwierdził on, że zarodniki workowe parcha jabłoniowego dojrzewają w chwili, gdy suma średnich temperatur dobowych od dnia 1 marca wynosi 105°.

W badaniach nad *V. populina* i *V. tremulae* postanowiono sprawdzić, przy jakiej sumie średnich temperatur dobowych grzyby te uzyskują dojrzałość.

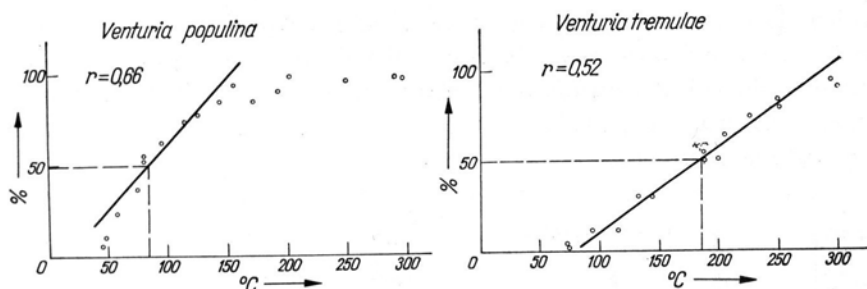
Tabela — Table 3

Zależność między sumą średnich temperatur a ilością otoczni z dojrzałymi zarodnikami
Interdependence between the sum of mean temperatures and numbers of perithecia with mature ascospores

Rok Year	1959			1960		
Data obser- wacji Date of ob- servation	Suma śred- nich tempe- ratur dobo- wych od 1 lutego Sum of ave- rage day tem- peratures from 1 Febru- ary	% otoczni w IV stadium Percentage of perithecia in IV stage		Suma śred- nich tempe- ratur dobo- wych od 1 lu- tego Sum of ave- rage day tem- peratures from 1 Febru- ary	% otoczni w IV stadium Percentage of perithecia in IV stage	
		<i>V. populina</i>	<i>V. tremulae</i>		<i>V. populina</i>	<i>V. tremulae</i>
1. III.	32,4	0	0	18,3	0	0
5. III.	49,2	10	0	18,8	0	0
10. III.	70,6	39	0	19,6	0	0
15. III.	72,7	53	3	41,3	8	0
20. III.	92,7	65	12	58,7	29	0
25. III.	132,6	80	32	74,4	55	2
1. IV.	180,3	84	51	111,4	73	12
5. IV.	206,1	90	69	142,3	86	37
10. IV.	249,1	94	82	178,0	93	53
15. IV.	294,7	97	90	235,5	96	78
20. IV.	342,2	98	92	297,4	96	91
25. IV.	—	—	—	338,2	—	92

Metoda badań. W badaniach tych zestawiono przebieg rozwoju grzybów (omówiony w poprzedniej części) z sumami średnich temperatur dobowych (Borecki 1957). W obliczeniach tych uwzględniono wszystkie temperatury powyżej 0, ponieważ jak podaje Borecki (1957) formowanie worków w otocznich zachodzi już przy średniej temperaturze dobowej przekraczającej 0 °C. Obliczanie sumy średnich temperatur dobowych rozpoczęto 1 lutego; w tym bowiem czasie, jak wynika z literatury (Borecki 1957) i własnych obserwacji, rozpoczyna się w otocznich formowanie worków.

Badania te prowadzono przez dwa sezony w latach 1959 i 1960.



Ryc. 9. Zależność między sumą średnich temperatur dobowych i ilością otoczn z dojrzałymi zarodnikami

Dependence between sum of average temperatures of days and number of perithecia with mature ascospores

Wyniki. Z danych przedstawionych w tabeli 3 i na rycinie 9 wynika dość duża zależność między sumą średnich temperatur a ilością otoczn z dojrzałymi zarodnikami, co potwierdzają również obliczone współczynniki korelacji dla *V. populina* $r = 0,66$, dla *V. tremulae* $r = 0,52$.

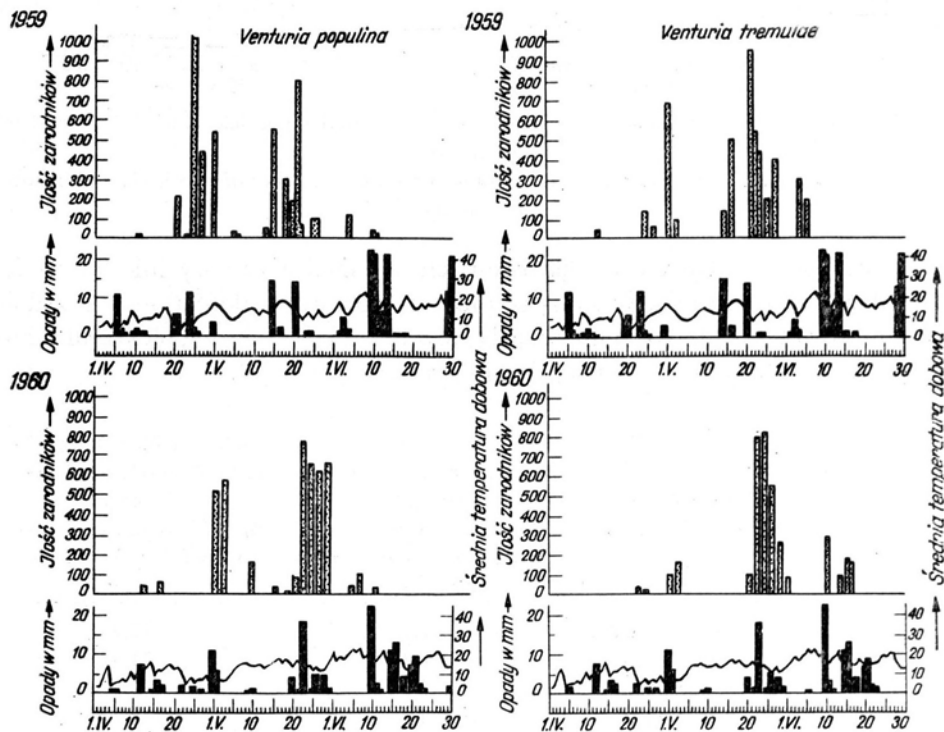
Rok Year	Gatunek grzyba Species of fungus	Data, w której 50% otoczn posiada dojrzałe zarodniki Date in which 50% of perithecial come to maturity of spores	Suma średnich temperatur dobowych od 1 lutego Sum of average temperatures of days from 1 February
1959	<i>Venturia populina</i>	15. III.	72,7
1960	„ „	25. III.	74,4
1959	<i>Venturia tremulae</i>	1. IV.	180,3
1960	„ „	10. IV.	178,0

Poza tym z obliczeń tych wynika, że grzyb *V. populina* wykształca 50% otoczn z dojrzałymi zarodnikami z chwilą gdy suma średnich temperatur dobowych od dnia 1 lutego wynosi 72–74 °C. Dla *V. tremulae* granica ta jest znacznie wyższa, gdyż dopiero przy sumie średnich temperatur dobowych około 180 °C 50% otoczn tego grzyba uzyskuje całkowitą dojrzałość.

Obliczenia te wykazują również, że dojrzewanie zarodników workowych grzyba *V. populina* rozpoczyna się już przy sumie średnich temperatur dobowych przekraczających 40 °C. U *V. tremulae* proces ten zostaje zapoczątkowany z chwilą, gdy suma średnich temperatur dobowych osiągnie 72–74 °C.

Wyrzut zarodników workowych w zestawieniu z warunkami atmosferycznymi

Najwięcej prac omawiających to zagadnienie odnosi się do grzybów *Venturia inaequalis* i *Venturia pirina* (Borecki 1957, Holz 1939, Savulescu 1956, Turner and Dowson 1931, Zaleski i Koncettówna 1939). W przypadku grzybów *Venturia populina* i *Venturia tremulae* proces ten nie był dotychczas badany. Dlatego też celem przeprowadzonych badań było dokładne poznanie przebiegu wyrzutu zarodników workowych tych grzybów oraz ustalenie, kiedy i w jakich warunkach atmosferycznych proces ten przebiega masowo.



Ryc. 10. Przebieg wyrzutu zarodników workowych w latach 1959 i 1960

The course of ascospores discharge in years 1959 and 1960

Metoda badań. W badaniach nad wyrzutem zarodników workowych *V. populina* i *V. tremulae* prowadzonych w parku SGGW zastosowano metodę chwytania zarodników na szkiełka przedmiotowe. Metoda ta jak wynika z lite-

ratury (Turner and Dowson 1931, Borecki 1957) znajduje najszersze zastosowanie, ze względu na łatwość jej stosowania.

Nad warstwą opadłych liści umieszczono ramę z siatką, na którą układano 10 szkiełek przedmiotowych, po 5 dla każdego grzyba. Szkiełka znajdowały się w odległości około 5 cm od warstwy liści. W celu lepszej przyczepności wyrzucanych zarodników szkiełka smarowano cienką warstwą wazeliny. Ilość chwytanych zarodników oznaczano na podstawie dokładnej obserwacji szkiełek, które zmieniano co drugi dzień. Przy ilościowym oznaczaniu wyrzutu zarodników posługiwano się powiększeniem mikroskopu $192\times$. Powierzchnia pola widzenia mikroskopu przy tym powiększeniu wynosiła $1,013 \text{ mm}^2$.

Na każdym szkiełku oglądano 500 pól widzenia, czyli powierzchnię około $5,06 \text{ cm}^2$. Przy przeglądzie określano więc ilość zarodników każdego grzyba, jaka padła na powierzchnię około $25,30 \text{ cm}^2$.

Badania nad wyrzutem zarodników workowych grzybów *V. populina* i *V. tremulae* prowadzono w okresie od 1 kwietnia do 30 czerwca, w latach 1959 i 1960. Wyniki są przedstawione na wykresie (Ryc. 10).

Rok 1959

Venturia populina.

Pierwsze zarodniki znaleziono na szkiełkach między 10 a 13 kwietnia. Obfite deszcze, padające w okresie od 20 kwietnia do 1 maja, spowodowały w tym czasie masowy wyrzut zarodników workowych. Drugi masowy wyrzut zarodników nastąpił między 10 a 20 maja. W okresie tym padały również dość obfite deszcze, przy stosunkowo wysokiej temperaturze powietrza (średnia dobową 19°C). Późniejsze opady nie wywołały już tak masowego wyrzutu zarodników, a od połowy czerwca w ogóle nie obserwowano zarodników workowych na szkiełkach.

Venturia tremulae.

Duży, lecz krótkotrwały wyrzut zarodników nastąpił w pierwszych dniach maja. Jednak największe nasilenie wyrzutu zarodników workowych wystąpiło w drugiej połowie maja, głównie między 20–25. W pierwszych dniach czerwca stwierdzono znaczny spadek w nasileniu tego procesu, a w drugiej połowie czerwca, mimo dużych opadów, nie obserwowano zarodników na szkiełkach.

Rok 1960

Venturia populina.

Pierwsze i nieliczne zarodniki znaleziono w połowie kwietnia. W tym roku podobnie jak w poprzednim zaznaczyły się również dwa okresy masowego wyrzutu zarodników workowych. Pierwszy masowy wyrzut nastąpił na początku maja po obfitym, lecz krótkotrwałym deszczu. Drugi okres masowego wyrzutu zarodników przypadł na ostatnią dekadę maja. Na początku czerwca chwymano na szkiełka ostatnie zarodniki tego grzyba.

Venturia tremulae.

Nieliczne zarodniki znaleziono na szkiełkach po 20 kwietnia. Masowy wyrzut przypada na okres między 20 maja a 1 czerwca, z tym że najwięcej zarodników obserwowano na szkiełkach około 25 maja. Ostatnie zarodniki znaleziono 16 czerwca.

Otrzymane wyniki i obserwacje wykazują, że wyrzut zarodników workowych miał różny przebieg w poszczególnych latach, lecz zawsze zależny był od opadów deszczowych.

Proces ten rozpoczynał się zawsze od wyrzutu pojedynczych zarodników w pierwszej połowie kwietnia i trwał do połowy czerwca.

Maksymalne nasilenie wyrzutu zarodników workowych *V. populina* przebiegało zazwyczaj w dwu okresach. Pierwszy masowy wyrzut przypadał najczęściej na koniec kwietnia lub początek maja, drugi przeważnie po 15 maja.

U *V. tremulae* masowy wyrzut zarodników workowych występuje najczęściej w ostatniej dekadzie maja.

Wpływ temperatury na wyrzut zarodników workowych obydwu grzybów jest mniej wyraźny.

DOŚWIADCZENIA INFEKCYJNE

Celem sprawdzenia, czy badane grzyby mogą porażać różne gatunki topoli, czy też porażenie przez nie ogranicza się tylko do ściśle określonych gatunków lub odmian, założono w szklarni Zakładu Fitopatologii SGGW dnia 8 czerwca 1959 roku doświadczenie infekcyjne.

Metoda badań. Do doświadczenia wzięto jednoroczne, wysadzone do wazonów drzewka następujących gatunków topoli: *Populus alba*, *P. Bolleana*, *P. tremula*, *P. nigra* i *P. berolinensis*. Infekcji dokonano zarodnikami workowymi i konidialnymi grzybów *V. populina* i *V. tremulae*, zebranych z porażonych liści *P. alba* i *P. tremula*, a w przypadku grzyba *V. populina* również zarodnikami workowymi otrzymanymi w sztucznych kulturach. Zarodnikami tymi infekowano po 5 drzewek każdego gatunku, opryskując je wodną zawiesiną zarodników. Zawiesina zawierała około 50 tysięcy zarodników w jednym mililitrze. Opryskane rośliny przykryto na 48 godzin szklanymi kloszami, których wewnętrzne ściany wysłane były wilgotną bibułą. W okresie pierwszych 14 dni temperatura w szklarni wahała się od 15 do 20 °C.

Wyniki. Po upływie jedenastu dni od założenia doświadczenia na liściach *Populus alba* i *Populus Bolleana* opryskanych zarodnikami workowymi ikonidialnymi grzyba *V. tremulae* oraz na liściach i pędach *Populus tremula* infekowanych zarodnikami *V. populina* pojawiły się pierwsze, charakterystyczne dla tej choroby plamy. Na pozostałych gatunkach topoli, tj. na *Populus nigra* i *Populus berolinensis* nie zaobserwowano objawów porażenia. Wyniki obserwacji przedstawia załączone zestawienie (tab. 4).

Doświadczenie nad sztuczną infekcją wykazało, że grzyb *V. populina* w naszych warunkach poraża tylko osikę (*Populus tremula*). Natomiast topola biała i jej odmiany (*Populus alba*, *P. Bolleana*) porażone są przez grzyba *V. tremulae*. Jednocześnie z doświadczenia wynika, że omawiane grzyby poza różnicami morfologicznymi wykazują także pewne różnice biologiczne, na podstawie których należy uznać je za dwa odrębne gatunki.

Tabela — Table 4

Sztuczna infekcja pięciu gatunków topoli grzybami *Venturia populina* i *Venturia tremulae*
Artificial infection of five poplar species by fungi *Venturia populina* and *Venturia tremulae*

Gatunek grzyba i rodzaj zarodników Species of fungus and kind of spores	Gatunek topoli Species of poplar				
	<i>Populus alba</i>	<i>Populus Bolleana</i>	<i>Populus tremula</i>	<i>Populus nigra</i>	<i>Populus beroli- nensis</i>
<i>Venturia populina</i> zarodniki workowe (ascospores)	—	—	+	—	—
zarodniki workowe z kultur (ascospores from culture)	—	—	+	—	—
zarodniki konidial- ne (conidia)	—	—	+	—	—
<i>Venturia tremulae</i> zarodniki workowe (ascospores)	+	+	—	—	—
zarodniki konidial- ne (conidia)	+	+	—	—	—

+ porażone rośliny — infected plants

— brak porażenia — no infection

Oprócz wyżej opisanego doświadczenia przeprowadzono jeszcze jedno, które miało na celu ściślejsze określenie, jaka najmniejsza ilość zarodników w jednym mililitrze zawiesiny może w określonych warunkach wywołać porażenie roślin (tzw. „próg infekcji”).

Opierając się na wynikach poprzedniego doświadczenia, do badań tych wzięto dwa gatunki topoli — *Populus alba* i *Populus tremula*, przy czym pierwszy gatunek infekowano zarodnikami *V. tremulae*, drugi zarodnikami *V. populina*. Zawiesiny o stężeniu 1,5, 10, 20, 30, 40 tysięcy zarodników w 1 ml sporządzono z zarodników workowych i konidialnych. Przygotowanymi zawiesinami opryskano po 3 drzewka, zużywając na jedną roślinę 5 ml zawiesiny. Opryskane rośliny przykryto kloszami wysłanymi wilgotną bibułą. Klosze te zdjęto po 48 godzinach. Temperatura pomieszczenia, w którym znajdowały się infekowane rośliny, wahała się w granicach 18—20 °C, a więc zbliżona była do optymalnej temperatury dla kiełkowania tych zarodników.

Po 14 dniach od chwili założenia doświadczenia na liściach infekowanych roślin wystąpiły charakterystyczne objawy chorobowe. Jedynie na roślinach opryskanych zawiesiną o stężeniu jednego tysiąca zarodników w mililitrze brak było jakichkolwiek zmian chorobowych. Wyniki tego doświadczenia wykazały, że tzw. „próg infekcji” dla tych grzybów znajduje się między 1 a 5 tysięcy zarodników w jednym mililitrze.

Tabela — Table 5

Wyznaczenie „progu infekcji” dla grzybów *V. populina* i *V. tremulae* w temperaturze 20°C i 100% wilgotności

Dilution end point of spores of *Venturia populina* and *Venturia tremulae* which cause infection in temperature 20°C and 100% humidity

Gatunek grzyba i rodzaj zarodników Species of fungus and kind of spores	Liczba zarodników w 1 ml Number of spores in 1 ml	Gatunek topoli Species of poplar	
		<i>Populus alba</i>	<i>Populus tremula</i>
<i>Venturia populina</i> zarodniki workowe (ascospores)	5 tys.	—	+
„	4 „	—	+
„	3 „	—	+
„	2 „	—	—
„	1 „	—	—
zarodniki konidialne (conidia)	5 „	—	+
„	4 „	—	—
„	3 „	—	—
„	2 „	—	—
„	1 „	—	—
<i>Venturia tremulae</i> zarodniki workowe (ascospores)	5 „	+	—
„	4 „	+	—
„	3 „	+	—
„	2 „	—	—
„	1 „	—	—
zarodniki konidialne (conidia)	5 „	+	—
„	4 „	+	—
„	3 „	—	—
„	2 „	—	—
„	1 „	—	—

+ porażone rośliny — infected plants

— brak porażenia — no infection

Celem więc ścisłego wyznaczenia „progu infekcji” powtórzono jeszcze raz to doświadczenie, zmieniając jedynie stężenie zawiesiny. W doświadczeniu tym użyto następujących stężeń zawiesiny: 1, 2, 3, 4 i 5 tysięcy zarodników w 1 ml. Wyniki przedstawia załączona tabela 5.

Z powyższego doświadczenia wynika, że w przypadku grzybów *V. populina* i *V. tremulae* porażenie roślin następuje już przy obecności 3 tysięcy zarodników workowych w 1 ml zawiesiny. Dla zarodników konidialnych granica ta jest nieco wyższa, gdyż wynosi ok. 5 tysięcy zarodników w 1 ml.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

1. Przeprowadzone obserwacje i doświadczenia infekcyjne wykazały, że brunatnienie pędów i liści topoli wywołane jest przez dwa gatunki grzybów: *Venturia populina* (V u i l l.) F a b r. (stadium konidialne *Pollacia elegans* S e r v.) i *Venturia tremulae* A d e r h. (stadium konidialne *Pollacia radiosa* B a l d. et C i f.). Pierwszy z badanych grzybów poraża u nas przede wszystkim pędy i liście osiki (*Populus tremula*), drugi natomiast występuje głównie na liściach topoli białej (*Populus alba*).

2. Stwierdzono różnice morfologiczne między tymi grzybami, odnoszące się głównie do wielkości otoczni oraz zarodników workowych i konidialnych. Przeciętna średnica otoczni *V. populina* wynosi 224 μ . Zarodniki workowe tego grzyba są dwukomórkowe, o wymiarach 20 \times 11,5 μ . Zarodniki konidialne, najczęściej trzykomórkowe, rzadziej dwu lub jedno, dość duże, przeciętnie 35 \times 11,5 μ . Grzyb *V. tremulae* tworzy otocznie nieco mniejsze, przeważnie o średnicy 201 μ . Zarodniki workowe również dwukomórkowe, o wymiarach 17 \times 9 μ . Zarodniki konidialne są na ogół dwukomórkowe, bardzo rzadko trój- lub jedno-komórkowe, przeciętnie 26,5 μ długie i 9,5 μ szerokie.

3. Optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników workowych *V. populina* okazała się temperatura 15 °C. Dla zarodników workowych *V. tremulae* temperatura ta jest znacznie wyższa i wynosi 25 °C. Zarodniki konidialne zarówno *Pollacia elegans*, jak i *Polacia radiosa* najlepiej kiełkują w temperaturze 20 °C.

4. Badane grzyby dają się względnie łatwo wyizolować i hodować na sztucznych podłożach. Wzrost kultur jest jednak bardzo powolny. Najlepszą dla wzrostu i zarodnikowania tych grzybów okazała się pożywka agarowo-brzeczkowa z dodatkiem wyciągu z liści topoli.

5. Otrzymano na sztucznym podłożu otocznie z wykształconymi workami i dojrzałymi zarodnikami workowymi. Otocznie te tworzyły się tylko w kulturach *V. populina* trzymanyh przez około 140 dni w pomieszczeniu o temperaturze 2 °C. Grzyb *V. tremulae* w tych warunkach nie wytworzył zarodników workowych.

6. Przebadano rozwój stadium workowego w warunkach polowych. W wyniku dwuletnich badań stwierdzono, że pierwsze otocznie *V. populina* występują już w grudniu. Przejście w stadium formowania worków następuje przeważnie w końcu stycznia lub na początku lutego. Powstawanie zarodników workowych rozpoczyna się najczęściej w końcu lutego i trwa do pierwszych dni kwietnia. Dojrzewanie zarodników następuje zwykle między 1 a 15 marca, przy czym

w latach o łagodnej zimie już w połowie marca ilość otoczni z dojrzałymi zarodnikami może przekroczyć 50 %.

U *V. tremulae* uformowane otocznie występują w końcu grudnia. Proces powstawania worków rozpoczyna się zwykle na początku lutego, a około 15 marca formują się w nich pierwsze zarodniki workowe. W drugiej połowie marca zarodniki workowe zaczynają dojrzewać i przy sprzyjających warunkach termicznych dopiero w pierwszych dniach kwietnia około 50 % otoczni tego grzyba ma dojrzałe zarodniki workowe.

7. Przeprowadzone w warunkach polowych badania nad wpływem temperatury na dojrzewanie otoczni wykazały związek między procesem dojrzewania otoczni a sumą średnich temperatur dobowych, liczonych od dnia 1 lutego. Stwierdzono, że grzyb *V. populina* wykształca 50 % dojrzałych otoczni w chwili, gdy suma średnich temperatur dobowych od 1 lutego wynosi ok. 70°C. Dla *V. tremulae* granica ta jest znacznie wyższa i wynosi 170—180°C.

8. Wyrzut zarodników workowych miał różny przebieg w poszczególnych latach, lecz zawsze zależny był od opadów deszczowych. Proces ten rozpoczął się najczęściej od wyrzutu pojedynczych zarodników w pierwszej połowie kwietnia i trwał do połowy czerwca. U *V. populina* masowy wyrzut zarodników workowych przebiega w dwóch okresach. Pierwszy okres przypada zwykle na koniec kwietnia lub początek maja, drugi po 15 maja.

W przypadku *V. tremulae* największe nasilenie wyrzutu zarodników workowych występuje w ostatniej dekadzie maja.

9. Doświadczalnie wyznaczona najmniejsza ilość zarodników, która wywołuje w optymalnych warunkach porażenie roślin (tzw. „próg infekcji”), wynosi: dla zarodników workowych *V. populina* i *V. tremulae* 3 tysiące, dla zarodników konidialnych 5 tysięcy zarodników w 1 ml zawiesiny.

10. Przeprowadzone badania i obserwacje wykazały, że badane grzyby, poza różnicami morfologicznymi, wykazują także pewne różnice biologiczne, na podstawie których należy uznać je za dwa odrębne gatunki *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. i *Venturia tremulae* Aderh.

(Wpłynęło dn. 13.I.1962 r.)

Zakład Fitopatologii SGGW

Warszawa, Rakowiecka 8

Kierownik: prof. dr J. Kochman

SUMMARY

1. Fungi causing brown pigmentation symptoms in Poplar shoots and leaves were studied. It was found that in Poland two species are responsible: a) *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. conidial stage — *Pollacia elegans* Sevr. usually attacks shoots and leaves of *Populus tremula*, b) *Venturia tremulae* Aderh. conidial stage — *Pollacia radiosa* Bald. et Cif. usually attacks leaves of *Populus alba*.

2. Morphological differences between these two species were established on the basis of differences in the size of perithecia ascospores and conidia.

Average dimension: a) *V. populina* — perithecia 224 μ , ascospores two-celled 20 \times 11,5 μ , conidia usually three-celled, two and one-celled are rare, 35 \times 11,5 μ , fairly large, b) *V. tremulae* — perithecia 201 μ , ascospores two-celled 17 \times 9 μ , conidia usually two-celled, three and one-celled are rare, 26,5 \times 9,5 μ .

3. In *V. populina* ascospores the best germination was obtained at 15°C. In *V. tremulae* ascospores the best germination was obtained at 25°C. The optimum temperature for the germination of conidia was 20°C in both species.

4. Isolation is relatively easy. Growth in artificial culture is very slow. The malt-agar medium with Poplar leaf extract gave the best results.

5. In sterile culture perithecia with fully developed and mature asci and ascospores were obtained.

In *V. populina* perithecia were produced after 140 days at 2°C; *V. tremulae* did not produce ascospores under these conditions.

6. The time sequence of ascospore development under field conditions was established. *V. populina*: perithecia — first noticeably in December, asci — first noticeable at the end of January or at the beginning of February, ascospores — develop from the end of February to beginning of April, mature ascospores — maturity is reached within a short period March 1st — 15th. After light winters up to 50% of the perithecia contain mature ascospores by the middle of March. *V. tremulae*: perithecia — fully developed at the end of December, asci — begin to develop at the beginning of February, ascospores — first noticeable around March 15th, mature ascospores — maturation begins in the second half of March and the stage at which 50% of the perithecia contain mature ascospores is reached by early April.

7. In *V. populina* the stage at which 50% of the perithecia are mature is reached when the total of average daily temperatures from February 1st onwards reaches 70°C. In *V. tremulae* this stage is not reached until the average daily temperature total reaches 170—180°C.

8. The process of ascospore release is dependant on atmospheric precipitation so that year to year differences arise. The process begins with the discharge of single ascospores in the first half of April and continues to the middle of June.

In *V. populina* there were two discharge phases: at the end of April or beginning of May and after May 15th. In *V. tremulae* most of the discharging takes place in the last decade of May.

9. The least number of spores effective in inducing infection under optimal conditions was determined for both species. The figures obtained were: ascospores — three thousand, conidia — five thousand per 1 ml. of suspension.

10. It is concluded that the fungal agents causing the disease in Poplar are symptomized by brown pigmentation, show some morphological and some biological differences and may be considered to be two distinct species, i.e. *Venturia populina* (Vuill.) Fabr. and *Venturia tremulae* Aderh.

LITERATURA

1. Arx J. A., 1952, Studies on *Venturia* and Related Genera, Tijdsch. over Plantenz., 58 : 260 — 266.
2. Arx J. A., 1957, Ueber *Fusicladium saliciperdu* (All. et Tub.) Lind. Tijdsch. over Plantenz., 63 : 232—236.
3. Baldacci E., 1937, Un nuovo genere di micete parassita del Pioppo, *Pollacia radiosa* (Lib.) Baldacci e Ciferri. Revisione dei G. Stigmella e Stigmia. Atti Ist. bot. Univ. Pavia (R.A.M. 17 : 137).
4. Borecki Z., 1957, Badania nad biologią patogena grusz, grzyba *Venturia pirina* Aderh. (*Fusicladium pirinum* Fuck.), Acta Agrobotanica 6 : 59—116.

5. Butin H., 1957, Die blatt und rindenbewohnenden Pilze der Pappel unter besonderer Berücksichtigung der Krankheitserreger. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, 91 : 21—23.
6. Ciferri R., 1951, Malattie crittogamiche del Pioppo in Italia. Atti Ist. bot. Univ. Pavia, (R.A.M. 30 : 636—637).
7. Gäuman E., 1949, Die Pilze, Basel, 142—148.
8. Goidánich G., 1936, Sulle cause della cosiddetta defogliazione primaverile del Pioppo in alta Italia, R. C. Accad. Lincei, (R.A.M. 16 : 71—72).
9. Goidánich G., 1936, Morfologia, biologia e sistematica di un fungo parassita delle foglie di Pioppo (*Stigmina radiosa* (Lib.) G. Goid.), Reprinted from Ann. Bot. Roma (R.A.M. 16 : 423).
10. Goidánich G., e Vivani W., 1939, Il ritrovamento dell'ascomicete „*Didymosphaeria populina*” Vuill. parassita del Pioppo, Boll. R. Staz. Pat. Veget. Roma, 17 : 87—101.
11. Gremmen J., 1956, Een blad-en twijgziekte van populieren veroorzaakt door *Venturia tremulae* en *Venturia populina*, T. Pl. ziekten, 62 : 234—242.
12. Hatfield W. C., 1946, Shoot blight of Aspen and Poplar caused by species of *Fusicladium*, Abs in Univ. Wyo. Publ. R.A.M. 26 : 571.
13. Holz W., 1939, Eine Methode zur Prognose des Askosporenfluges von *Fusicladium dendriticum* Nach. Bl. dtsh. Pfl. Sch. Dienst 19, R.A.M. 18 : 426.
14. Holz W., 1939, Der Einfluss der März-Temperaturen auf die Geschwindigkeit des Reifungsvorganges von *Venturia inaequalis* Perithezien, Angew. Bot. 31, R.A.M. 18 : 531.
15. Kochman J., 1929, Studia biologiczne nad pasożytem wierzby *Fusicladium saliciperdum* (All. et Tub.) Lind., Pamiętnik Państw. Inst. Nauk. Gospod. Wiejsk. Puławy, 2 : 555—573.
16. Lind J., 1905, Über einige neue und bekannte Pilze, Ann. Myc. 3 : 429—431.
17. Menon R., 1956, Studies on *Venturiaceae* on Rosaceous Plants, Phytopat. Zeitschr., 27 : 9—146.
18. Müller E. und Arx J. A., 1950, Einige Aspekte zur Systematik pseudosphärialer Ascomyceten, Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft, 60 : 329—397.
19. Nüesch J., 1960, Beitrag zur Kenntnis der weidenbewohnenden *Venturiaceae*, Phytopat. Zeitschr., 39 : 329—360.
20. Prillieux E., 1892, Observation sur le *Napicladium Tremulae* forme conidienne du *Didymosphaeria populina*, Bull. Soc. Myc. de France, 8 : 26—27.
21. Savulescu A., Bontea V., Hulea A., Becerescu D., Marin A., Suta V., Piersica E., 1956, Einfluss der klimatischen Bedingungen auf die Bildung, das Auftreten und die Reifung der Perithezien von *Endostigme inaequalis* (Cooke) Sydow und auf das Ausschleudern der Ascosporen, Phytopat. Zeitschr. 26 : 333—376.
22. Servazzi O., 1935, Contributi alla patologia dei Pioppi III. La defogliazione primaverile dei Pioppi — Difesa Piante (R.A.M. 15 : 328—329).
23. Servazzi O., 1939, Contributi alla patologia dei Pioppi VI. Ricerche sulla così detta defogliazione primaverile dei Pioppi, Boll. Lab. Sper. R. Oss. Fitopat. Torino (R.A.M. 18 : 639).
24. Servazzi O., 1939, Appunti di fitopatologia 1939. Boll. Lab. Sper. R. Oss. Fitopat. Torino (R.A.M. 19 : 387).
25. Turner H. A. and Dowson W. J., 1931, The date and duration of the winter spore discharge of black spot, Tasmanian Journ. of Agric. N.S.2 (R.A.M. 11 : 112).
26. Viennot-Bourgin G. 1949. Les Champignons Parasites des plantes cultives, Paris.
27. Zaleski K. i Koncentówna Z., 1939, Badania nad wiosennym okresem wyrzutu askospor struposza jabłoniowego (*Venturia inaequalis* (Cooke) Aderh.) w roku 1937 w okolicach Poznania, Rocznik Ochrony Roślin, Puławy 1939.