Badania nad biologią grzybów, powodujących choroby lucerny, ze szczególnym uwzględnieniem chorób uwiądu na terenie Dolnego Śląska

Untersuchungen an der Biologie der Luzernekrankheiten mit besonderer
Berücksichtigung der Luzernewelkekrankheit im Dolny Śląsk

ST. CZAPLIŃSKA

Lucerna jest jedną z najcenniejszych roślin pastewnych. Jej charakterystyczną cechą jest długotrwałość. W Polsce, przypadki długotrwałego użytkowania lucerny są sporadyczne (Pietruszczyński 1954), przeważnie lucerniki trwają u nas 4—7 lat. Prawdłowo i w odpowiednich warunkach założone lucerniki dają u nas najwyższe plony w 3, 4 i 5 roku po zasiewie, po czym plony zaczynają się zmniejszać, zwłaszcza przy zaniedbaniu pielęgnacji i nawożenia lub koszeniu w nieodpowiednim czasie. Dotyczy to głównie terminu i wysokości cięcia ostatniego pokosu przed zimą. W rozwoju lucerny jako rośliny wieloletniej zachodzi bowiem swoisty rytm rozwojowy, obejmujący procesy starzenia się i odmładzania. Prawdłowość rytmu tych procesów jest zależna w dużej mierze od należytego użytkowania lucerny, ponieważ przy nadmiernej ilości pokosów, np. 5, zwłaszcza gdy jest zbyt młoda, zaczyna się jej degeneracja i wymieranie (Pietruszczyński 1954).

Istnieją jednakże jeszcze inne przyczyny, powodujące zaburzenia w procesach fizjologicznych lucerny, doprowadzające do wymierania całych roślin, co prowadzi do przedwczesnej likwidacji nawet całych plantacji. Do nich należy jako jedna z ważniejszych, choroba uwiądu lucerny stanowiąca przedmiot badań niniejszej pracy.

Sprawcami choroby uwiądu lucerny i następnie jej zamierania mogą być bakterie powodujące tracheobakteriozy oraz grzyby wywołujące tracheomikozę. Stwierdzono, że tracheobakterioza lucerny, powodowana przez bakterie, należące do gatunku *Aplanobacter insidiosum* McCull, występuje dotychczas masowo tylko w USA (Jones, Smith 1953, Kiessig 1958), a ostatnio była również notowana w Europie, tj. we Włoszech (Ribaldi 1958).

Tracheomikozy lucerny mogą być wywoływane przez grzyby z rodzaju *Fusarium* oraz z rodzaju *Verticillium*. Raiłło (1950) oraz Wollenweber i Reinking (1935) podają, że fusarialne wędnięcia lucerny mają gospodarcze znaczenie głównie w USA.

Pierwszą wzmiankę w literaturze o wystąpieniu gatunku grzyba *Verticillium alboatrum* R. et B., jako sprawcy wędnięcia lucerny na terenie Niemiec, podali w 1938 r. Richter i Klinkowski (1938, 1941). Dopiero jednak od doniesienia Hansena i Webera w 1948 r. (wg Kiessig 1958) o dużych stratach w uprawach lucerny w Danii, powodowanych przez *Verticillium alboatrum* wzrosło zainteresowanie badaczy tym grzybem w Anglii (Isaac 1953, Noble, Robertson, Dawson 1953), Holandii, Danii (Staple 1956), Niemczech (Böning, Wagner 1957, Kiessig, Haller-Kiessig 1958, Wagner 1957, Weltzien 1957, Mihatsch 1959) oraz w ZSSR (Kuprewicz 1954, Sałuńska 1954). W wielu wypadkach stwierdzono jednoczesne z *Verticillium alboatrum* występowanie na chorych, wędnących roślinach grzyba *Ascochyta imperfecta*, który od zewnątrz porażał organy nadziemne roślin, powodując tworzenie się ciemnych smugowatych plam na łodygach oraz brunatnych plam na liściach, strąkach i nasionach (Wagner 1957).

Znaczenie gospodarcze choroby uwiądu lucerny jest duże, jakkolwiek dotychczas nie doceniane. Głównym bowiem efektem pasożytniczego działania grzybów wywołujących tracheomikozę na plantacjach lucerny, zwłaszcza grzyba *Verticillium alboatrum*, jest przedwczesne zamieranie dużych ilości roślin, uprzednio zawiędłych i pożółkłych i tworzenie się pustych placów, zarastanych następnie przez chwasty. Dotyczy to plantacji w 3, a zwłaszcza 4 roku użytkowania, gdy ilość roślin chorych, wykazujących objawy chorobowe wynosi 50—75 %. Następstwem takiego stanu zdrowotności na plantacjach lucerny jest ich duże zachwaszczenie, co w konsekwencji pociąga konieczność przedwczesnej likwidacji 3—4-letnich plantacji.

W Polsce dotychczas nie zajmowano się zagadnieniem uwiądu lucerny.

BADANIA TERENOWE

Przedmiotem badań były uprawy lucerny, na których stwierdzono wystąpienie objawów żółknienia, wędnięcia, zamierania i zasychania roślin. Obserwacjami objęto plantacje lucerny z terenu Dolnego Śląska, wybrane na podstawie podziału tego terenu na rejony klimatyczno-glebowe («Zalecenia Rolnicze» 1955 Wrocław). W rejonie północnym wybrano do badań plantacje lucerny w miejscowościach: Bolesławiec, Środa Śląska i Milicz, w rejonie środkowym: Swojec, Klecina, Marianów, Oporów, Muchobór, w rejonie południowym obserwacje nad zdrowotnością lucerny przeprowadzano na plantacji w podrejonie kotlin śródgórskich w miejscowości: Żelazno.

Tabela 1

Zestawienie plantacji lucerny, objętych badaniami nad występowaniem choroby uwiądu lucerny, powodowanej przez *Verticillium alboatrum* na terenie Dolnego Śląska w okresie 1955—1959 r.

Okres wegetacji	Miejscowość	Data zasiewu	Obszar w ha	Przedplon	Gleba		Objawy choroby uwiądu
					opis	pH	
	Bolesławiec	1949	0,25	ziemniaki	szczerk mocny, glin-pias.	5,3	x
1955	Bolesławiec	1950	0,50	„	„ „	5,3	x
	Środa Śląska	1953	2,00	„	„ „	5,3	o
	Muchobór	1950	3,00	cebula	czarne ziemie	6,3	x
	Muchobór	1952	3,00	mieszanka motylkow.	„ „	6,3	x
	Muchobór	1954	4,00	buraki	„ „	6,3	o
	Oporów	1952	4,00	pszenica	„ „	7,0	o
	Żelazno	1952	8,00	pszenica	żwirowo-kam. gliniasta	5,5	o
1956	Swojec	1954	0,50	buraki	mada średnia	7,3	o
	Swojec	1952	1,00	pszenica	„ „	7,3	x
	Muchobór	1950	3,00	cebula	czarne ziemie	6,3	x
	Muchobór	1954	4,00	buraki	„ „	6,3	o
1957	Swojec	1954	0,50	buraki	mada średnia	7,3	x
	Swojec	1956	2,00	„	„ „	7,3	o
	Klecina	1953	10,00	rzepak	czarne ziemie	6,3	x
1958	Swojec	1955	2,00	pszenica	mada średnia	7,3	x
	Swojec	1956	2,00	buraki	„ „	7,3	x
	Marianów	1954	1,00	pszenica	szczerk glin.	7,1	x
1959	Swojec	1956	2,00	buraki	mada średnia	7,3	x

Objaśnienia: x — masowe wystąpienie choroby uwiądu lucerny na polu
o — brak objawów choroby

W badaniach tych główny nacisk położono na: opracowanie grzybów, biorących udział w chorobie uwiądu lucerny, zbadanie ich biologii oraz chorobotwórczości w odniesieniu do lucerny szczepionej i nie szczepionej *Rhizobium meliloti*.

Dla określenia choroby lucerny, powodowanej przez pasożytnicze grzyby wywołujące jej tracheomikozę, przyjęto nazwę „uwiąd” (Z a l e s k i 1952), ponieważ w tym procesie chorobowym więdnienie jest jednym z pierwszych

jego objawów, ma z reguły charakter nieodwracalny i łączy się z obumarciem porażonych narządów lub całych roślin. W czasie pracy posługiwano się metodą: makroskopową, pożywkową i metodą mokrych kamer.

Podczas wykonywania systematycznych obserwacji symptomatologicznych posługiwano się 4-stopniową skalą porażenia lucerny, wykazującej objawy choroby uwiądu, powodowanej przez *Verticillium alboatrum*:

- 0 — Roślina zdrowa, jędrna, zielona.
- 1 — Początkowe więdnienie szczytowej części łodygi.
- 2 — Więdnięcie i żółknienie całej rośliny.
- 3 — Więdnięcie, żółknienie i zasychanie całej rośliny.
- 4 — Zupełnie zamarłe rośliny (zaliczone do tej skali dla celów praktycznych).

Stosując powyższy sposób prowadzenia obserwacji, przebadano w okresie 1955—1956 r. plantacje lucerny, wymienione w tabeli 1. Celem ustalenia ewentualnej lokalizacji choroby uwiądu lucerny, przeprowadzono na plantacjach dwukrotną lustrację zdrowotności roślin. Stwierdzono przy tym konieczność systematycznego śledzenia przebiegu choroby na obranych obiektach, dlatego w latach 1957, 1958 na plantacjach, gdzie rośliny wykazywały objawy tej choroby, zapalowano po 5 roślin o różnym stopniu nasilenia objawów chorobowych i 1—2 roślin zdrowych jako kontrolnych do porównania. Na tych roślinach prowadzono obserwacje symptomatologiczne przez cały okres wegetacji w odstępach około 14-dniowych. Niezależnie od badań i obserwacji na roślinach oznaczonych, prowadzono jeszcze jednocześnie lustracje ogólne, dotyczące całej plantacji. W przypadkach stwierdzenia objawów więdnięcia lucerny wykonywano izolację patogenów.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji opisano poniżej szczegółowo przebieg choroby uwiądu lucerny.

Pierwsze objawy uwiądu występowały jako częściowe więdnięcie szczególnie organów najmłodszych, szczytowych, z charakterystycznym podwijaniem się liści łyżkowato do góry w czasie ciepłych dni, w pierwszej połowie maja, na dobrze już rozwiniętych roślinach. Porażone łodygi wykazywały wyraźne zahamowanie wzrostu, po krótkim czasie liście zaczynały żółknąć od brzegów blaszki liściowej i zasychały. Wkrótce więdły również pozostałe pędy, na których liście również zwijały się charakterystycznie. Wyrastający w międzyczasie odrost już wykazywał objawy więdnięcia. Rośliny chore występowały w polu w zwartych placach lub w skupieniach, w rzędach (ryc. 1).

W czasie badań terenowych nie zauważono na 1-rocznych uprawach lucerny, bez względu na warunki klimatyczno glebowe, roślin z objawami więdnięcia systemicznego, natomiast stwierdzono występowanie przebarwień w różnym nasileniu w formie brunatnych plamek na liściach lucerny. Objawy więdnięcia zauważono na niemal wszystkich plantacjach 3-letnich i starszych. Tyl-

ko w jednym przypadku zauważono objawy uwiędnięcia na plantacji 2-letniej nasiennej w Swojcu, jednak na tej jej części, która była na wiosnę skoszona, podczas gdy na części nie koszonej objawy te nie wystąpiły. Wzrost ilości roślin chorych do 75 % zauważono już na całej plantacji w 1959 r., tj. w trzecim roku użytkowania.

Ryc. 1. Objawy choroby uwiędnięcia lucerny, powodowanej przez *Verticillium alboatrum*, występujące na roślinach sąsiednich w tym samym rzędzie

Na przekrojach korzenia i podstawy łodygi więdnących roślin widoczne było zbrunatnienie pierścienia wiązek przewodzących lub całego walca osiowego, sięgające od 3—4 cm w kierunku pionowym. Ponieważ to przebarwienie miejscami zanikało i znowu pojawiało się, można przypuszczać, że infekcja korzenia może zachodzić w różnych miejscach i w związku z tym pewne jego fragmenty wykazują zbrunatnienie.

Ponadto na powierzchni szypki korzeniowej chorych roślin obserwowano brunatne plamy, występujące zwykle nieregularnie, pod którymi tkanka burtwała i wykruszała się. W miarę postępu choroby wszystkie organy nadziemne zasychały, co było poprzedzone objawami więdnienia i charakterystycznymi zmianami na liściach, a korzeń podlegał procesom gnilnym.

Przy badaniu makroskopowym i mikroskopowym organów nadziemnych chorych roślin, nie stwierdzono wystąpienia żadnych oznak etiologicznych *Verticillium alboatrum*.

BADANIA LABORATORYJNE

a. BADANIA DIAGNOSTYCZNE

Do oznaczania patogenicznych grzybów używano kultur 3-tygodniowych, wyhodowanych na pożywce ziemniaczano-glukozowej, przygotowanej wg Mańki (1953), w temperaturze ca 23 °C, w rozproszonym świetle. Izolację wykonywano w specjalnym pokoju do szczepień w warunkach sterylnych. Na wstępie badano pH pożywki z jednej próbki, po czym rozlewano pożywkę do sterylnych płytek Petriego. Materiał do izolacji, przygotowany uprzednio, poddano dezynfekcji powierzchniowej przez zanurzenie w 50 % alkoholu etylo-

Tabela 2

Zestawienie ogólnej ilości wyosobnień, uzyskanych z lucerny, wykazującej objawy choroby uwiadu ze wszystkich wybranych plantacji w czasie badań od 1957—1959

Lp.	Nazwa gatunku grzyba (patogena)	Miejsce pobrania inokulum			Razem wyosob- nień
		korzeń	łodyga (część)		
			środkowa	szczytowa	
1	<i>Verticillium alboatrum</i> R. et B.	14*	335	363	712
2	<i>Ascochyta imperfecta</i> P e c k.	102	203	79	384
3	<i>Colletotrichum destructivum</i> O'Gara	8	40	11	59
4	<i>Macrosporium commune</i> R a b h.	13	67	66	146
5	<i>Fusarium avenaceum</i> F r. S a c c.	80	57	11	148
6	<i>Fusarium solani</i> (M a r t.) A p p. W r.	52	11	—	63
7	<i>Fusarium scirpi</i> Lambr. et Fautr. var. <i>acuminatum</i> (E l l. e t E v.) W r.	3	2	—	5
8	<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>medicaginis</i> W e i m.	8	—	—	8
9	Inne (<i>Penicillium</i> sp. <i>Mucor</i> sp. <i>Botrytis</i> sp.)	50	20	41	111
10	Bakterie	434	98	58	590
11	Czyste inokula-izolacja ne- gatywna	136	67	271	474
	Ogólna ilość wyosobnień	900	900	900	2700

* Poszczególne cyfry w zestawieniu oznaczają ilość wyosobnień danego patogena.

Uwaga: W tabeli tej uwzględniono wyniki badań 150 chorych roślin.

wym na 20 sekund, następnie w 0,1 % roztworze sublimatu na 30 sekund, po czym przepłukiwano w sterylnej wodzie destylowanej w 3 oddzielnych płytkach, ścinając sterylnymi nożyczkami końce materiału przy przenoszeniu z jednego naczynia do drugiego. Inokula układano na zestaloną pożywkę w ilości 6 dokoła płytki, w odległości 1 cm od brzegu. Zwykle po 3—5 dniach zaczęły pojawiać się na pożywce kolonie grzybów, które z najmłodszych części odczepiano do probówek ze skośnym agarem i umieszczano w termostacie w temp. 23 °C. Po wykonaniu analizy mikroskopowej eliminowano kultury powtarzające się, a pozostałe przeprowadzono w kultury czyste, jednozarodnikowe stosując metodę wielokrotnych rozcieńczeń. Przy oznaczaniu grzybów korzystano z szeregu opracowań monograficznych różnych autorów, czego wykaz umieszczono na końcu pracy w spisie cytowanej literatury.

Na podstawie przeprowadzonych badań laboratoryjnych, diagnostycznych stwierdzono, że wśród patogenów, wyisobnionych z chorych roślin, największy był udział *Verticillium alboatrum* (tabela 2). Grzyb ten występował często razem z *Ascochyta imperfecta*, z tym jednakże, że *Verticillium alboatrum* izolowano z wewnętrznych części roślin, przede wszystkim z wiązek przewodzących, natomiast *Ascochyta imperfecta* był izolowany z powierzchniowych warstw miękkiszu korowego. Stwierdzono proporcjonalnie znacznie mniejszy udział takich patogenów, jak gatunki z rodz.: *Fusarium*, *Macrosporium* i *Colletotrichum*.

Największe ilości kolonii *Verticillium alboatrum* wyisobniono z roślin w drugim stopniu skali porażenia, gdy około 50 % liści było podwiniętych, żółknących i zasychających, z jednoczesnym wędnięciem szczytów łodyg. Podobną ilość kolonii tego patogena wyisobniono z roślin w 3 stopniu porażenia, natomiast przy stopniu porażenia 4, odpowiadającemu obumarciu rośliny, już tego grzyba nie wyizolowano podobnie, jak z początkowej fazy choroby przy 1 stopniu porażenia.

Opracowane gatunki grzybów, wyizolowanych z wędnącej lucerny, opisano i przedstawiono w układzie systematycznym:

FUNGI IMPERFECTI SPHAEROPSIDALES

Ascochyta imperfecta Peck.

syn. *Phoma herbarum* West. f. *medicaginis* Fuckel., *Phoma medicaginis* Malb. et Roum., *Diplodina medicaginis* Oud., *Diplodina medicaginis* Oud. var. *phyllocladia* Bub.

Na powierzchni pożywki grzybnia początkowo różowa, niska, prószysta, z czasem szarzejąca. Piknidy drobne, kuliste wytworzone na powierzchni pożywki i zagłębione nieco w substracie, posiadały na szczycie ujście, przez które po ich dojrzeniu wydostawała się śluzowata jasnobrunatna wstęga zarodników. Spód pożywki nieprzebarwiony. Brzeg kultury równy.

Grzybnia substratowa jasnobrunatna i ciemnobrunatna, podzielona, zawierająca ziarnistą substancję. Grubość strzępek 2,2—8,8 μ . Grzybnia powie-

trzną bezbarwną, podzieloną z małą ilością ziarnistej zawartości, rozgałęziająca się. Grubość strzępek: 1,5—4,4 μ . Piknidy kuliste, początkowo jasnobrunatne, przeświecające, potem czarne o $\varnothing$ 76—300 μ z brodawkowatym wylotem. Wymiary piknid wg Kuprewicza (1954) 135—400 μ . Konidia różnej wielkości i kształtu, głównie cylindryczne, elipsoidalne, fasolkowate, zagięte lub proste, na obu końcach zaokrąglone, bez przegrody lub rzadko z jedną, bezbarwne, często z 2 kroplami tłuszczu. Konidia wydostają się z piknid w formie wstęgi, rozplywającej się w wodzie, 3—13 $\times$ 2—4 μ .

MELANCONIALES

Colletotrichum destructivum O'Gara

Na powierzchni pożywki wyrastała grzybnia początkowo rzadka, różowa, niska potem śluzowaciejąca i ciemniejąca z dużą ilością czarnych, drobnych, poduszczkowatych lub dyskowatych tworów, ułożonych koncentrycznie. Były to warstwiaki (Zaleski 1952) tego grzyba z ciemnymi szczecinami, widocznymi pod małym powiększeniem.

Grzybnia substratowa podzielona zawierała ziarnistą substancję, grubość strzępek 2,5—10 μ . Warstwiaki występujące grupami lub rozproszone, drobne $\varnothing$ 48—110 μ , z ciemnymi szczecinami w różnej ilości, wg Kuprewicza 25—70 μ . Szczeciny ciemnobrunatne, prawie proste lub zagięte, jednokomórkowe lub z 1 przegrodą, zwężające się ku szczytowi, gdzie były zaokrąglone lub zaostrome, 63—275 $\times$ 4,5—7 μ . Konidia bezbarwne, jednokomórkowe, cylindryczne, proste lub lekko zgięte, na obu końcach nieco zaokrąglone lub tępe, powstające na krótkich, bezbarwnych, cylindrycznych lub wrzecionowatych trzonkach konidialnych, 12—19 $\times$ 2—4 μ .

Colletotrichum trifolii Bain et Essary

Na powierzchni pożywki kolonia tego grzyba wyglądała tak samo jak *Colletotrichum destructivum* O'Gara. Grzybnia substratowa oliwkowa, podzielona. Grubość strzępek 3—12 μ . Grzybnia powietrzna bezbarwna, podzielona, rozgałęziona o grubości 2,5—5 μ . Owocniki zwane warstwiakami rozproszone lub grupami z licznymi szczecinami. Szczeciny brunatne, na szczycie jaśniejsze, proste lub skręcone, u nasady grubsze, na szczycie zwężone: 35—82 $\times$ 3—7 μ . Trzonki konidialne cylindryczne lub wrzecionowate, bezbarwne, proste. Konidia bezbarwne, jednokomórkowe, cylindryczne, proste, lekko zaokrąglone na obu końcach, 10—18 $\times$ 2—4 μ .

HYPHOMYCETES

Fusarium solani App. et Wr. (Seksja: *Martiella*)

Grzybnia na agarze ziemniaczanym zwykłym i zakwaszonym nikła, pajęczynowata, biaława. Na powierzchni pożywki kremowe, śluzowate skupienia, pionnoty. Brzeg kultury równy. Mikrokonidia w główkach, liczne, owalne i sier-

powato zgięte z 0—1 przegrodami. Wymiary mikrokonidiów bez przegród: $10,5-12 \times 3,5-4,2\mu$. Wymiary mikrokonidiów z 1 przegrodą: $16-22 \times 4-4,2\mu$. Chlamidospory liczne, śródstrzępkowe i końcowe, pojedyncze i podwójne, $\varnothing 5-9\mu$, błona gładka lub pokryta brodawkami. Makrokonidia w pionnotach nieliczne, sierpowato zgięte lub prawie proste, o jednakowej szerokości na znacznej części, przeważają o 3 przegrodach. Komórki szczytowe krótkie, zaokrąglone lub tępo zakończone, brak nóżki u podstawy. Makrokonidia z 2 przegrodami $21-25 \times 4-4,5\mu$, z 3 przegrodami $28,6-41,8 \times 4,4-6\mu$, z 4 przegrodami $29-44 \times 4,2-4,5\mu$. Pigment na ryżu szarofioletowy. Na ryżu widoczne różowe sporodochia.

Fusarium oxysporum Schlecht. var. *medicaginis* Weim. (Sekcja: *Elegans*)

Na agarze ziemniaczanym zwykłym skąpa grzybnia biała, niska. Na powierzchni pożywki śluzowate skupienia — pionnoty. Brzeg kultury równy. Mikrokonidia w główkach, liczne z 0—1 przegrodami, kształtu owalnego i sierpowato zgięte, bez przegród $2,1-6,3\mu$, z 1 przegrodą $12,6-21\mu$. Chlamidospory liczne, śródstrzępkowe, końcowe i śródzarodnikowe, pojedyncze lub w łańcuskach $\varnothing 6,5-11\mu$, błona ich pokryta tępyimi kolcami. Makrokonidia w grzybni powietrznej i pionnotach, wrzecionowate, sierpowato zgięte, ze stopniowo zwężającą się górną komórką, z nóżką u podstawy, eliptycznie wygięte lub proste. Przeważają makrokonidia z 3 przegrodami. Z 2 przegrodami: $21-31 \times 4,2\mu$, z 3 przegrodami: $23-42 \times 2-5\mu$, z 4 przegrodami: $37-42 \times 3,5-4,5\mu$. Pigment na ryżu purpurowy.

Fusarium scirpi Lamb. et Fautr. subsp. *acuminatum* f. 1 Raillo (1950) (Sekcja: *Gibbosum*)

Grzybnia na agarze ziemniaczanym zwykłym rzadka, białokremowa, puszysta, niska. Spód kultury żółtawy. Brzeg kultury równy. Mikrokonidia nieliczne, owalne, wrzecionowate, sierpowato zgięte, z 1 przegrodą $6,6-17,6 \times 1,8-2,64\mu$, z 2 przegrodami: $17-22 \times 2,2-2,5\mu$. Chlamidospory liczne, przeważają w łańcuskach i węzłach, śródstrzępkowe, okrągłe, końcowe, błona kolczasta, $\varnothing 6,3-9\mu$. Makrokonidia liczne, eliptyczne, zgięte grzbieto-brzuszenie, najbardziej w części środkowej, na obu końcach zwężone, z ostro zwężającą się górną komórką prawie nitkowatą, długości $14-18,8\mu$, z wyraźną nóżką u podstawy. Przeważają makrokonidia z 5 przegrodami, z 3 przegrodami $34-38 \times 3-4\mu$, z 4 przegrodami $31,5-39 \times 3-4\mu$, z 5 przegrodami $40-67 \times 3,5-4,4\mu$. Pigment na ryżu brązowy.

Fusarium avenaceum Fr. Sacc. var. *graminum* Cda. (Sekcja: *Roseum*)

Grzybnia na agarze ziemniaczanym zwykłym biała, puszysta, niska. Brzeg kultury równy. Makrokonidia liczne, wrzecionowate, sierpowate, zgięte eliptycznie, równowąskie na znacznej części długości konidiów, zwężające się na obu końcach, z mocno zwężoną górną komórką, długości $8,8-14,5\mu$, z nóżką u podstawy. Przeważały konidia z 3 przegrodami, $35-42 \times 3-4,4\mu$, z 4 przegrodami

Ryc. 2. Powiększony fragment ryc. 2. Na obu końcach inokulów widoczne charakterystyczne śluzowate zgrubienia

Ryc. 3. Wynik izolacji patogenów z środkowej i szczytowej części łodygi więdnącej lucerny. Z wszystkich inokulów wyrasta grzybnia *Verticillium alboatrum* R. et B. już ciemniejąca po 14 dniach

Ryc. 4. Trzonek konidialny i konidia *Verticillium albo-atrum* R. et B.

Ryc. 5. Przykład na zmienność morfologiczną *Verticillium albo-atrum* R. et B.

mi $33-35 \times 3-4\mu$, z 5 przegrodami $39-52 \times 4-5,5\mu$. Pigment na ryżu żółto-brązowy z purpurowym odcieniem.

Macrosporium commune Rabenh. syn. *Stemphylium botryosum* Wallr.

Na powierzchni pożywki grzybnia ciemnoszara, zielonkawa, puszysta. Spód pożywki nieprzebarwiony. Grzybnia substratowa brunatna, podzielona, rozgałęziona, zawierająca ziarnistą substancję. Grubość strzępek $3-4\mu$. Grzybnia powietrzna bezbarwna, podzielona, rozgałęziona $3-4\mu$. Trzonki konidialne występowały pęczkami, oliwkowobrunatne, podzielone, nierozgałęzione o wymiarach $40-60 \times 3-5\mu$. Konidia końcowe o różnym kształcie, jajowate, elipsoidalne, maczugowate z $3-5$ ściankami poprzecznymi i kilkoma podłużnymi, ukośnymi, brunatnooliwkowe, brodawczkowane, o wymiarach $10-53 \times 6-15\mu$.

Verticillium alboatrum Reinke et Berthold.

Młoda kultura tego grzyba tworzyła na pożywce glukozowo ziemniaczanej kolonię niską, płaską, śluzowatą, białokremową (ryc. 2). Kolonia po 8-10 dniach ciemniała, zaczynając zwykle od obwodu, a potem w części centralnej, tworząc charakterystyczne smugi w kolorze ciemnozielonym do czarnego (ryc. 3). Na powierzchni kolonii występował białawy nalot jak „szron”, w większej ilości bliżej centrum kolonii, aniżeli na brzegach. W centrum kolonii znajdowała się biała grzybnia, pokrywająca śluzowate, pofałdowane zgrubienia dookoła inokulum. Ciemnozielona kolonia o postrzępionym brzegu posiadała szarobiałą obwódkę, pokrytą prószywym nalotem. Spód kolonii był czarny z odcieniem zielonym. Strzępki grzybni substratowej brunatne, o powierzchni gładkiej, podzielone, były wypełnione ziarnistą zawartością, grubość strzępek $2-4,5\mu$. Trzonki konidialne proste, mało podzielone, u nasady nieco grubsze i ciemniejsze, na szczycie cieńsze i prawie bezbarwne, rozgałęziające się okółkowo, tworzące do 8 okółków na głównej osi, przeważały jednak w ilości od 3 do 5 (ryc. 4). Wymiary trzonków konidialnych: $55-460 \times 3-4\mu$, grubość u nasady $2,1-6,3\mu$, długość i grubość odgałęzień w okółkach $12-40 \times 2-3\mu$. Konidia podłużne, owalne, bez przegród, bezbarwne i nieco brunatniejące, zawierające ziarnistą zawartość, powstające na końcu odgałęzień w okółkach i na szczycie trzonka konidialnego pojedynczo lub też w formie małych główek, rozplywających się natychmiast w wodzie. Wymiary konidiów: $2,1-9 \times 2-4,5\mu$.

W czasie badań zauważono, że grzyb ten tracił zdolność wytwarzania ciemnej grzybni wskutek długiego przechowywania oraz częstego przeszczepiania i wykazał dużą zmienność morfologiczną. Przy przeszczepianiu bowiem czarnej grzybni uzyskiwano kultury z sektorami białymi i czarnymi lub czysto białe (ryc. 5), zaś poszczególne elementy morfologiczne nie wykazywały w wymiarach zasadniczych różnic.

Bezpośrednio z materiału roślinnego wędnącej lucerny oznaczono następujące gatunki grzybów: *Peronospora aestivalis* Sydow, *Pseudopeziza medicaginis* Saccardo, *Uromyces striatus* Schroett., *Phoma vulgaris* Sacc., *Colletotrichum trifolii* Bain et Essary, *Macrosporium medicaginis* Cugini.

b. BADANIA BIOLOGICZNE

W pracach tych opierając się na badaniach Buxtona (1955) uwzględniono wpływ następujących czynników: 1) rodzaj pożywki, 2) pH pożywki, 3) temperaturę otoczenia oraz 4) długość czasu działania światła i ciemności na szybkość wzrostu, rozwój i zarodnikowanie *Verticillium alboatrum* oraz *Ascochyta imperfecta*.

1. Wpływ rodzaju pożywek na wzrost i rozwój badanych grzybów

Badania przeprowadzono na 4 rodzajach pożywek agarowych: ziemniaczano-glukozowej, słodowej, Czapek-Doxa, przygotowanych wg przepisów z literatury (Zaleski, Błaszczak, Glaser 1959, Kiessig, Haller Kiessig 1958) oraz lucernowej, sporządzonej wg przepisu z Katedry Fizjologii Roślin WSR we Wrocławiu (30 g agaru i ekstrakt z lucerny, uzyskany przez podgrzewanie 100 g pokrojonych liści i łodyg w temp. 70 °C w wodzie destylowanej — 1000 cm³ przez 1 godz).

Pożywki zaszczipiono w warunkach sterylnych inokulami jednakowej wielkości, pochodzącymi z 24-dniowych kultur poszczególnych grzybów, wyhodowanych na pożywce ziemniaczano-glukozowej w temperaturze pokojowej w świetle rozproszonym. Szybkość wzrostu i rozwój badanych grzybów na wymienionych rodzajach pożywek badano w temperaturze 21—23 °C, w świetle rozproszonym. Dla każdego grzyba i dla każdej pożywki wykonano po 5 powtórzeń, tj. po 5 płytek Petriego. Przyrost grzybni mierzono co 3 dni przez okres 26 dni. Każdorazowo wykonywano 2 pomiary średnicy kolonii na krzyż i obliczano średnią arytmetyczną z 5 powtórzeń. Po zakończeniu doświadcze-

Ryc. 6. Wpływ rodzaju pożywek na szybkość i rozwój grzybów:

1 — *Verticillium alboatrum* R. et B. i 2 — *Ascochyta imperfecta* P e c k. Ocena kultur 28-dniowych; agar: gz — glukozowo-ziemniaczany, l — lucernowy, s — słodowy, Cz.D — Czapek-Doxa

Ryc. 7. Kolonia *Verticillium alboatrum* R. et B. na agarze Czapek-Doxa, widziana z powierzchni (28 dni)

nia, przeprowadzono makroskopowe i mikroskopowe badanie kultur badanych grzybów, uwzględniając takie elementy jak: wygląd kultury z powierzchni, od spodu oraz zarodnikowanie.

Otrzymane wyniki badań przedstawiono na wykresie (ryc. 6). Z analizy tych zestawień wynika, że zarówno *Verticillium alboatrum*, jak i *Ascochyta imperfecta* uzyskały największy przyrost w badanym okresie na agarze słodowym, najmniejszy zaś na agarze z ekstraktem lucerny. Wpływ rodzaju pożywek na rozwój badanych grzybów uwydatnił się szczególnie wyraźnie w kształtowaniu się ich cech makroskopowych, a częściowo także mikroskopowych.

Verticillium alboatrum tworzył bardzo niską grzybnę, prawie niewidoczną na agarze lucernowym (ryc. 7). Najobfitszą, puszystą, białą grzybnę na powierzchni, ciemniejącą od spodu tworzył ten grzyb na pożywce Czapek-Doxa. Na agarach słodowym i ziemniaczano-glukozowym *Verticillium alboatrum* wytwarzał grzybnę podobną: niską, białokremową, o wyglądzie promienistym, śluzowatą, prószystą, ciemniejącą od spodu, zwłaszcza na agarze ziemniaczano-glukozowym. Nie zauważono wpływu pożywek na zarodnikowanie tego grzyba, ponieważ na wszystkich pożywkach wytwarzał on trzonki konidialne o różnej ilości pięter okółków na głównej osi, zaś wymiary konidiów wahały się w tych samych granicach.

Analizując wpływ rodzaju pożywek na cechy makroskopowe i zarodnikowanie *Ascochyta imperfecta* zauważono, że na agarach ziemniaczano-glukozowym i słodowym tworzył on puszystą, rzadką, brunatnooliwkową grzybnę, głównie w centralnej części kolonii oraz jasnoróżową, niską grzybnę na obwodzie.

Na obu pożywkach grzyb ten wytwarzał dużą ilość piknid zarówno w substracie, jak i na jego powierzchni. Spód kultur był ciemny, prawie czarny od dużej ilości piknid. Dojrzałe piknidy, szczególnie na powierzchni agaru słodowego, wyrzucały wstęgi konidiów koloru brudnobrunatnego. Na pożywce Czapek-Doxa grzyb ten tworzył grzybnię różową, puszystą, rzadką, koncentrycznie strefowaną o ciemnym spodzie. Liczne piknidy tworzyły się w koncentrycznych kołach oraz na całej powierzchni podłoża. Na agarze z ekstraktem lucerny grzyb ten wytworzył bardzo rzadką jasnoróżową, słabo puszystą grzybnię, koncentrycznie strefowaną. Nieliczne piknidy, drobne, brunatne były zebrane głównie w części centralnej kolonii. Wymiary piknid na wszystkich pożywkach wahały się w granicach od 70—140 μ , podobnie wymiary konidiów nie wykazały zależności od rodzaju pożywki.

2. Wpływ pH agaru słodowego na wzrost i rozwój badanych grzybów

Obserwacje prowadzono na kulturach wyżej wymienionych grzybów, wyszczepionych jak w poprzednim doświadczeniu — na płytkach Petriego o $\varnothing$ 10 cm, na agarze słodowym, w termostacie bez dostępu światła, w temperaturze 23 °C, w 5-ciu powtórzeniach dla każdego grzyba i stopnia pH. Przyjęto następujące stopnie pH: 3,3 : 4,4 : 5,3 : 6,0 : 7,0 : 8,0 : 9,1 : Do zakwaszania pożywki używano 0,1 n HCl, zaś do alkalinizowania 0,1 n NaOH. Regulację pH pożywki przeprowadzono po jej sterylizacji, używając do pomiaru pH-metru elektrycznego „Radiometer” Kopenhaga. Pomiary szybkości wzrostu średnicy

Ryc. 8. Wpływ pH agaru słodowego na szybkość wzrostu i rozwój grzybów:

1 — *Verticillium alboatrum* R. et B. i 2 — *Ascochyta imperfecta* P e c k. Ocena kultur 28-dniowych.

kolonii grzybów oraz obserwacje mikroskopowe i makroskopowe wykonano jak w doświadczeniu nad wpływem rodzaju pożywek na rozwój badanych grzybów.

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, że oba badane grzyby mogą rozwijać się w dużym zakresie pH pożywki. Świadczą o tym stosunkowo nieduże wahania w wymiarach średnicy kolonii, jakie wykazały oba grzyby w zależności od pH pożywki. Wyniki tych badań przedstawiono na ryc. 8.

W czasie przeprowadzania badań nie stwierdzono wpływu pH pożywki na wygląd makroskopowy oraz zarodnikowanie obu grzybów. Kolonie bowiem poszczególnych grzybów, hodowane na pożywce o różnym pH, nie wykazały zróżnicowania z wyjątkiem szybszego wzrostu na pożywkach o pH wyższym od 3,3. Oba grzyby wytwarzały zarodnikowanie na wszystkich koloniach, bez względu na pH pożywki, wymiary zaś poszczególnych elementów morfologicznych tych grzybów wahały się w granicach, przyjętych w literaturze dla każdego z nich.

W kulturach *Verticillium alboatrum*, wyhodowanych na pożywce o pH wyższym od 3,3 — zauważono nierównomierne tworzenie się sektorów grzybni, wykazujących niejednolite jej ciemnienie, co było szczególnie zwracające uwagę w pierwszym okresie zmiany zabarwienia grzybni. Po kilku bowiem dniach, cała kolonia wykazywała już jednolite pociemnienie grzybni, zielonoczarne, z charakterystycznym prószystym jak „szron” nalotem na powierzchni.

Tabela 3

Porównanie pomiarów pH pożywki na początku doświadczenia i po jego zakończeniu w badaniu wpływu pH pożywki na szybkość wzrostu i rozwój badanych grzybów

Nazwa gatunku grzyba	pH pożywki na początku doświadczenia	pH pożywki po ukończonym doświadczeniu	Czas trwania doświadczenia liczba dni
<i>Verticillium alboatrum</i> R. et B.	3,3	5,0	33
	4,4	5,5	„
	5,3	6,0	„
	6,0	6,0	„
	7,0	6,5	„
	8,0	6,5	„
	9,1	6,5	„
<i>Ascochyta imperfecta</i> P e c k.	3,3	5,0	27
	4,4	6,0	„
	5,3	7,0	„
	6,0	7,0	„
	7,0	7,0	„
	8,0	8,0	„
	9,1	9,0	„

Po skończeniu doświadczenia przebadano powtórnie stopień pH pożywki i stwierdzono, że uległ on zmianie, zależnie od gatunku badanego grzyba (tabela 3).

Na podstawie wyników powtórnego badania pH pożywki po skończonym doświadczeniu stwierdzono, że *Verticillium alboatrum* prawdopodobnie samo-

istnie regulował pH podłoża z tendencją zbliżenia do zakresu pH, optymalnego dla swego gatunku. Natomiast u *Ascochyta imperfecta* przy pH kwaśnych następowało zmniejszenie kwasowości, a przy pH powyżej 7 nie następowały żadne zmiany. Tak więc, wnioskując ze stopnia pH pożywki po skończonym doświadczeniu, optymalny zakres pH dla *Verticillium alboatrum* wynosi 6—6,5, zaś dla *Ascochyta imperfecta* 7—9.

3. Wpływ temperatury na wzrost i rozwój badanych grzybów

Do badań użyto kultur grzybów *Verticillium alboatrum* i *Ascochyta imperfecta*, 24-dniowych, wyhodowanych na pożywce ziemniaczano-glukozowej w temperaturze 20—23 °C w świetle rozproszonym. Obserwacje zależności szybkości wzrostu i rozwoju badanych grzybów od temperatury przeprowadzono na koloniach tych grzybów na agarze słodowym. Przyjęto następującą skalę temperatur w °C: 8, 14, 20, 25, 30 i 35. Ze względu na brak odpowiednich urządzeń, nie można było w doświadczeniu obserwować wpływu temperatury niższej od 8 °C.

Doświadczenie wykonano na płytkach Petriego o średnicy 10 cm, przeznaczając po 5 płytek dla każdego grzyba i odpowiedniego zakresu temperatury. Przyrosty grzybni mierzono co 3 dni przez okres 18 dni. Badania makro- i mikroskopowe grzybów oraz pomiary przyrostu grzybni wykonano w analogiczny sposób jak w doświadczeniach poprzednich.

Ryc. 9. Wpływ temperatury na szybkość wzrostu i rozwój grzybów:

1 — *Verticillium alboatrum* R. et B. i 2 — *Ascochyta imperfecta* P e c k. Ocena kultur 28-dniowych

Wyniki obserwacji nad szybkością wzrostu średnicy kolonii obu grzybów w zależności od temperatury przedstawiono na ryc. 9. Z analizy tych zestawień wynika, że oba grzyby mogły rozwijać się w dużej skali temperatur od 8—30 °C. Wykazały one małą wrażliwość na działanie niskich temperatur, również jednakowo reagowały na działanie temperatur wysokich; w temperaturze 30 °C stwierdzono bowiem znikomy rozwój u obu badanych grzybów, zaś w temp. 35 °C zauważono zupełny brak objawów wzrostu oraz przyrostu.

4. Wpływ długości czasu działania światła i ciemności na wzrost i rozwój badanych grzybów

Obserwacje przeprowadzono na kulturach *Verticillium alboatrum* i *Ascochyta imperfecta*, wyhodowanych na agarze słodowym w ilości po 5 płytek Petriego dla każdego grzyba i dla każdej serii. W badaniu tym uwzględniono wpływ działania światła stałego oraz wpływ działania ciemności na szybkość wzrostu średnicy kolonii każdego grzyba oraz na ich cechy makro- i mikroskopowe. W tym celu umieszczono po 5 płytek Petriego dla każdego grzyba w odległości 50 cm od lampy jarzeniowej, świecącej się bez przerwy dzień i noc oraz po 5 płytek dla każdego grzyba, przeznaczonych do odwijania co 3 dni przez cały czas trwania doświadczenia, tj. przez 24 dni. Wszystkie te płytki owinięto jednocześnie po 5 w papiery czerwony i czarny. Pomiary przyrostu grzybni i obserwacje makroskopowe wykonywano co 3 dni dla serii doświadczenia wystawionej na działanie światła przez 24 dni oraz dla serii zaciemnionej, wyznaczonej w danym dniu od odwijnięcia, posługując się metodą, podaną w badaniu wpływu rodzaju pożywek na wzrost i rozwój badanych grzybów. Odwijnięte z papierów płytki z koloniami grzybów pozostawiono do końca trwania doświadczenia już na świetle, obserwując ich dalszy rozwój, nie wykonując jednak już ścisłych pomiarów. Obserwacje i badania mikroskopowe przeprowadzono w 24 dniu po zakończeniu doświadczenia.

Tabela 4

Wpływ światła i ciemności na szybkość wzrostu i rozwój grzybów *Verticillium alboatrum* i *Ascochyta imperfecta*

Obserwacje po liczbie dni	<i>Verticillium alboatrum</i>		<i>Ascochyta imperfecta</i>	
	średnica kolonii w mm		średnica kolonii w mm	
	na świetle	w ciemności	na świetle	w ciemności
3	13,0	10,8	16,2	20,8
6	19,6	20,2	21,2	32,2
9	24,6	27,2	25,0	32,4
12	28,4	35,6	37,6	54,8
15	32,0	45,0	45,0	59,2
18	36,8	54,0	60,8	66,6
21	43,6	70,2	77,0	85,6
24	43,6	75,0	86,4	96,6
Średni przyrost dobowy	1,6	2,9	3,4	3,8

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, że oba badane grzyby wykazały największy przyrost w warunkach hodowli w ciemności. Ana-

liza tabeli 4 i ryc. 10 daje potwierdzenie, że pod względem makroskopowym oba grzyby wykazały jednakową reakcję na warunki hodowli w ciemności i na świetle. Nie zauważono bowiem większych różnic morfologicznych z wyjątkiem szybszego i większego przyrostu w ciemności. Również w zarodnikowaniu obu grzybów nie zauważono działania wpływu któregoś z omawianych

Ryc. 10. Wpływ działania światła (1) i ciemności (2) na szybkość wzrostu i rozwój grzybów: *Verticillium alboatrum* R. et B. i *Ascochyta imperfecta* Peck.

czynników. *Verticillium alboatrum* wytworzył w obu badanych seriach doświadczenia po 24 dniach jednakowe trzonki konidialne jak i konidia, których wymiary wahały się w granicach, przyjętych w literaturze. Brak wpływu działania światła na rozwój piknid i zarodnikowanie grzyba *Ascochyta imperfecta* uwydatnił się w tym, że w obu seriach tego doświadczenia, tj. na świetle i w ciemności, piknidy pojawiły się jednocześnie w 9 dniu na powierzchni pożywki i w podłożu, jednakże w koloniach, hodowanych w ciemności było ich więcej.

c. BADANIA PATOGENICZNOŚCI *VERTICILLIUM ALBOATRUM* ORAZ *ASCOCHYTA IMPERFECTA*

W okresie wegetacyjnym 1958 r. przeprowadzono serię doświadczeń, celem zbadania chorobotwórczego działania grzybów *Verticillium alboatrum* i *Ascochyta imperfecta* na lucernę. W doświadczeniach tych dodatkowo uwzględniono wpływ nitraginowania gleby na rozwój i na ewentualne zwiększenie odporności lucerny na porażenie przez te patogeny. Badania nad ich patogenicznością przeprowadzono w okresie od maja do listopada 1958 r., używając do infekcji kultur tych grzybów, uzyskanych z izolacji w 1957 r., i stosując metody własne oraz podane w literaturze (Abderhalden 1924, Kiessig, Haller Kiessig 1958, Noble i wsp. 1953, Noll 1939, Rawlins 1933).

Działanie chorobotwórcze obu patogenów badano na lucernie mieszańcowej, u której uprzednio oznaczono energię i siłę kiełkowania oraz procent nasion, porażonych przez grzyby (Dorywański, Wojciechowicz 1953). Doświadczenia przeprowadzono w warunkach prymitywnych, w skrzyni inspektowej, umieszczonej w ogrodzie w miejscu słabo ocienionym, w wazonach glinianych o Ø 20 cm, używając dla obu patogenów następujących sposobów

infekcji: 1. przez zakażoną glebę, 2. przez zakażone nasiona, 3. przez oprysk zawiesiną zarodników, 4. przez iniekcję zawiesiny zarodników w górną część korzenia lucerny pod szyjką korzeniową.

1. Zakażanie roślin przez glebę

Celem osiągnięcia materiału infekcyjnego postępowano wg metod, podanych w literaturze (N o 11 1939, N o 1 e i wsp. 1953). Jednocześnie z przygotowaniem materiału infekcyjnego grzybowego w kolbach, przygotowano w probówkach kulturę *Rhizobium meliloti** do zakażenia gleby w tej serii doświadczenia, którą przeznaczono do nitraginowania. Na 2 tygodnie przed założeniem doświadczenia przygotowano glebę kompostową, zmieszaną z 50 % gruboziarnistym piaskiem, poddano ją dezynfekcji w aparacie Kocha przez 2 godz i następnie napełniono nią doniczki, uprzednio zdezynfekowane 2 % formaliną. Po napełnieniu ziemią, doniczki przykryto płatem waty i pozostawiono w laboratorium na okres 2 tygodni. Po upływie tego czasu wykonano zakażenie gleby w doniczkach przygotowanym materiałem infekcyjnym i wg ustalonego planu nitraginą (tabela 5), po czym wysadzono nasiona lucerny, wydezynfekowane w 0,1 % roztworze sublimatu. Obserwacje zdrowotności rosnących roślin prowadzono przez cały okres wegetacji, łącznie z badaniami laboratoryjnymi, celem sprawdzenia skuteczności danego sposobu infekcji.

2. Sztuczna infekcja lucerny badanymi grzybami przez zakażone nasiona

Nasiona lucerny wydezynfekowane w 0,1 % roztworze sublimatu, opłukane i przesuszone, zanurzano na 24 godz (wg metody N o 11 a 1939) w zawieszinie zarodnikowej jednego z badanych grzybów, zaś nasiona dla serii kontrolnej zanurzano na 24 godz w sterylnej wodzie destylowanej. W międzyczasie przygotowano zawiesinę bakteryjną do zakażenia gleby w doniczkach przeznaczonych do nitraginowania. Po wyrównaniu powierzchni ziemi zrobiono znacznikiem dolki i posadzono w nich nasiona lucerny, wyjęte z zawiesiny zarodnikowej odpowiedniego grzyba. Po przykryciu ich tą samą ziemią, podlano je wodą wodociągową. Doświadczenie trwało od 28.VI—15.XI.1958 r.

3, 4. Sztuczna infekcja lucerny przez oprysk zawiesiną zarodników i przez iniekcję zawiesiny zarodnikowej w korzeń lucerny

Na 2 tygodnie przed założeniem doświadczenia przygotowano doniczki z glebą wg planu (tabela 5) obowiązującego we wszystkich doświadczeniach, postępując jak w sposobie infekcji przez zakażoną glebę. Po upływie tego czasu doniczki, przeznaczone do nitraginowania, zaszczepiono zawiesiną bakterii *Rhizobium meliloti*, przygotowaną jak w poprzednich doświadczeniach, po czym

* Kulturę *Rhizobium meliloti* otrzymano z IUNG w Puławach.

posadzono nasiona lucerny w ilości 16 na 1 wazon. Nasiona uprzednio wydezynfekowano w 0,1 % roztworze sublimatu, przemyto trzykrotnie wodą destylowaną i przesuszono na sterylnym szkłe. Wszystkie doniczki umieszczono w skrzyni inspektowej aż do wyrośnięcia roślin, celem przeprowadzenia na nich infekcji. W tym czasie wykonywano wszystkie zabiegi pielęgnacyjne i jednocześnie obserwowano rozwój roślin, celem zauważenia różnic, jakie mogłyby zająć pod wpływem nitraginowania jednej serii roślin. Doświadczenie trwało od 15.V.—15.XI.1958.

Tabela 5

Plan doświadczenia dla stosowanych sposobów infekcji

Lp.	Sposób infekcji	<i>Verticillium alboatrum</i>		<i>Ascochyta imperfecta</i>		Kontrolne	
		Liczba powtórzeń					
		z nitraginą	bez nitra- giny	z nitraginą	bez nitra- giny	z nitraginą	bez nitra- giny
1	Zakażona gleba	4	4	4	4	4	4
2	Zakażone nasiona	4	4	4	4	4	4
3	Oprysk zawiesiną zarodni- ków	4	4	4	4	4	4
4	Iniekcja zawiesiny zarodni- ków	4	4	4	4	4	4

Zakażanie lucerny przez opryskanie jej organów nadziemnych zawiesiną zarodników poszczególnych badanych grzybów, a w serii kontrolnej doświadczenia wodą wodociągową, wykonano 9.X.1958 r., celowo na roślinach już starszych, mając na uwadze obiekty Richtera (Kiessig, Haller Kiessig 1958), ostrzegającego przed wykonywaniem infekcji lucerny *Verticillium alboatrum* na roślinach zbyt młodych. Zabieg ten wykonywano w warunkach trudnych, nie dysponując szklarnią, z konieczności w laboratorium w szklanych kamerach, gdzie dla zwiększenia wilgotności powietrza, niezbędnej dla pozytywnej infekcji, umieszczono po 6 dużych słoików 3 l z wodą. Po 3 dniach wszystkie wazony z roślinami umieszczono znowu w skrzyni inspektowej i przeprowadzano na nich obserwacje aż do nastania mrozów.

Celem przeprowadzenia sztucznej infekcji lucerny przez iniekcję zawiesiny zarodnikowej w korzeń, przygotowano na wstępie zawiesinę zarodników *Verticillium alboatrum* i *Ascochyta imperfecta* postępując jak w poprzednim doświadczeniu.

czeniu. Przyniesione ze skrzyni inspektowej rośliny w wazonach poddano dokładnemu przeglądowi, pozostawiając podobnie jak w poprzednim doświadczeniu tylko zupełnie zdrowe, bez jakichkolwiek zmian na liściach i łodygach. Zabiegu infekcji przez iniekcję dokonano w laboratorium dnia 10.X., w warunkach sterylnych. Po wykonaniu infekcji, wazon-y umieszczono znowu w skrzyni inspektowej i obserwacje prowadzono aż do pierwszych przymrozków.

We wszystkich doświadczeniach stwierdzono brak wpływu nitraginowania gleby na rozwój lucerny. Rozwój i wzrost roślin w wazonach, w których stosowano szczepienie gleby zawiesiną bakterii *Rhizobium meliloti*, nie różnił się bowiem od pozostałych, gdzie tego zabiegu nie stosowano. Szczególnie wyraźnie można to było zauważyć na roślinach przygotowanych do infekcji przez oprysk oraz przez iniekcję w korzeń, rośliny te bowiem jednakowo rosły i rozwijały się w obu kombinacjach doświadczalnych od maja do września 1958 r.

Najodpowiedniejszą ze wszystkich stosowanych metod infekcji dla obu badanych patogenów okazała się metoda sztucznej infekcji lucerny przez zakażoną glebę. Doświadczenie założono 15.V.58 r., zaś chorobotwórcze działanie *Verticillium alboatrum* ujawniło się na zainfekowanych roślinach dopiero we wrześniu, powodując charakterystyczne objawy zewnętrzne jak: więdnienie części szczytowych rośliny, liźkowate podwijanie się liści, żółknięcie oraz ich zasychanie i objawy wewnętrzne, widoczne na przekroju korzeni jako brunatne przebarwienie. To zbrunatnienie występowało głównie w formie punktów lub pierścienia, a czasem jako zbrunatnienie całego walca osiowego korzeni porażonych roślin, sięgające 3—5 cm w głąb korzenia. Objawy te wystąpiły w obu seriach doświadczenia: nitraginowanej i nie nitraginowanej. Z wybranych reprezentacyjnych roślin wyizolowano *Verticillium alboatrum* z serii nie szczepionej *Rhizobium meliloti* już 12.VII, przed wystąpieniem objawów chorobowych zewnętrznych, zaś w serii doświadczenia nitraginowanej dopiero 24.VII., również przed wystąpieniem zewnętrznych objawów chorobowych. Grzyba tego izolowano z roślin zainfekowanych przez cały okres trwania doświadczenia, a w największej ilości w czasie cieplej pogody w miesiącach letnich.

Chorobotwórcze działanie *Ascochyta imperfecta* ujawniło się już na siewkach lucerny, powodując tworzenie się charakterystycznych objawów zgorzeli siewek, tj. przewężenie oraz brunatnienie podstawy łodyg, czego następstwem było zamieranie całych roślin. Z roślin pozostałych przy życiu, ale rozwijających się słabo (2—3 rośliny z 16 posadzonych i skielkowanych nasion w 1 wazonie) oraz z pojedynczych egzemplarzy, wyglądających zdrowo, izolowano *Ascochyta imperfecta* przez cały czas trwania doświadczenia zarówno w serii nitraginowanej, jak i nie szczepionej *Rhizobium meliloti*. Oprócz wymienionych patogenów wyosobniano z roślin zainfekowanych szereg innych grzybów, którymi nie zajmowano się bliżej.

W wazonach kontrolnych dla całego doświadczenia z zakażaniem gleby, rośliny rosły zdrowo, były jędrne, zielone, nie wykazywały żadnych objawów chorobowych, a jednak izolowano z nich *Verticillium alboatrum* w serii nie

nitraginowanej, zaś *Ascochyta imperfecta* izolowano sporadycznie w obu seriach doświadczenia.

Metoda sztucznej infekcji lucerny przez nasiona, zakażone *Verticillium alboatrum* oraz *Ascochyta imperfecta*, dała również pozytywny wynik, z roślin bowiem wyrosniętych z nasion zakażonych wyizolowano oba gatunki patogenów.

W doświadczeniu przez oprysk zawiesiną zarodników, przeprowadzonym na wyrosniętych roślinach, nie stwierdzono pozytywnego rezultatu, ponieważ po przeprowadzeniu zabiegu opadły starsze liście opryskanych roślin po 2 dniach, przypuszczalnie wskutek mechanicznego działania samego zabiegu, wykonywanego już w końcowej fazie wegetacji roślin. Być może wkradły się tu jeszcze inne błędy techniczne z braku odpowiednich urządzeń, którymi nie dysponowano. Na pozostałych liściach odrostu nie zaobserwowano wystąpienia żadnych objawów chorobowych. Niestety nie było możliwości przechowania tych roślin do następnego roku, aby na nich prowadzić dalsze obserwacje.

Po zastosowaniu infekcji lucerny przez iniekcję zawiesiny zarodników badanych grzybów w górną część korzenia, nie stwierdzono w czasie trwania doświadczenia wystąpienia charakterystycznych objawów chorobowych. U wszystkich natomiast badanych roślin zauważono nekrotyczne zbrunatnienie lokalne korzeni w miejscu nakłucia, we wszystkich seriach doświadczenia.

DYSKUSJA WYNIKÓW

W przedstawionej pracy stwierdzono, że głównym sprawcą choroby uwiędnięcia lucerny na Dolnym Śląsku jest grzyb *Verticillium alboatrum*. Największe nasilenie objawów chorobowych występuje wczesnym latem w okresie ciepłej pogody, przed i w czasie kwitnienia lucerny. W tym bowiem okresie kwitnienia i wzmoczonego wzrostu rośliny zawierają mało składników pokarmowych, skutkiem czego wykazują większą wrażliwość na toksyny pasożytów, wytwarzane w większej ilości przy wyższej temperaturze powietrza (Kiessig, Haller Kiessig 1958). Ponieważ lucerna w czasie wegetacji przechodzi kilkakrotnie okresy wzmoczonego wzrostu i kwitnienia, przeto przy wysokiej temperaturze powietrza układają się warunki korzystne dla rozwoju pasożytów, powodujących jej wędnięcie. Wyosobnione z wędnącej lucerny grzyby z rodzaju *Fusarium* występowały w ilościach znacznie mniejszych od głównego sprawcy uwiędnięcia, tj. od *Verticillium alboatrum* (tabela 2). Analogiczne wyniki uzyskali Kiessig i Haller Kiessig (1958), którzy uznali, że *Fusaria* mogą być nieszkodliwymi grzybami korzeniowymi lucerny, a mogą być również jej pasożytami wtórnymi w następstwie infekcji lucerny przez *Verticillium alboatrum*, występującymi szczególnie tam, gdzie korzenie lucerny zaczynają już gnić. Istotnie grzyby z rodzaju *Fusarium* izolowano głównie z korzeni, natomiast w mniejszej ilości również z części nadziemnych roślin.

Potwierdzono tu również spostrzeżenie I s a a c a (1953, 1957), że choroba uwiadu lucerny, powodowana przez *Verticillium alboatrum* występuje głównie na plantacjach starszych, tj. 3—6-letnich, niezależnie od warunków klimatycznych i glebowych. Zjawisko to próbuję tłumaczyć i objaśnić długim okresem inkubacji *Verticillium alboatrum* jako grzyba glebowego. Grzyb ten infekuje rośliny przez korzenie, a zaczynające się zniszczenie w tkankach przewodzących i otaczających je uzewnętrznia się dopiero w okresie późniejszym (K i e s s i g, H a l l e r K i e s s i g 1958).

Podobnie jak I s a a c (1957) stwierdzono, że rośliny chore, więdnące występują na plantacjach lucerny placami, rozrzuconymi nierównomiernie po całej plantacji lub też w zwartych odcinkach w rzędach, (ryc. 1). Z tym łączy się nie spotykany w literaturze, a stwierdzony w niniejszej pracy fakt wyosobniania *Verticillium alboatrum* głównie z nadziemnych części chorych roślin w okresie największego nasilenia objawów chorobowych, odpowiadających 2 i 3 stopniowi porażenia środkowej i szczytowej części łodygi. W praktyce fakt ten można wykorzystać przy zbiorze lucerny zwłaszcza nasiennej, który należy przeprowadzać najpierw na zdrowych częściach plantacji, aby uniknąć dalszego zakażenia.

S z e m b e k (1956) omawiając korzyści płynące z uprawy lucerny mieszańcowej zaznacza, że udaje się ona i przynosi wysokie plony nawet na terenach podmokłych, ale z wodą przepływającą, a nie stagnującą w podłożu. W niniejszej pracy badane plantacje lucerny, zwłaszcza w Marianowie i Swojcu, położone były na terenie okresowo zalewanym i na tych terenach objawy uwiadu lucerny wystąpiły w największym nasileniu. Prawdopodobnie na gwałtowne rozprzestrzenienie się choroby uwiadu lucerny, powodowanej przez *Verticillium alboatrum* na plantacji nasiennej w Swojcu w latach 1958—1959, w dużej mierze wpłynęła powódź w 1958 r., gdy cała plantacja była przez kilka dni pokryta wodą. Potwierdził się w tym przypadku również pogląd W e l t z i e n a (1957) i innych autorów, że lucerna nie znosi wody w podłożu.

Pewną niezgodność z danymi w literaturze stanowi fakt niezalezienia zarodnikowania *Verticillium alboatrum* na organach nadziemnych chorych roślin, przebadanych w niniejszej pracy. Natomiast stwierdzono, że zahamowanie wzrostu u roślin, wykazujących więdnienie powodowane przez tego grzyba można uważać za cechę diagnostyczną w przeciwieństwie do stanowiska K i e s s i g i H a l l e r K i e s s i g (1958), którzy uznali ten objaw za niepewny.

W a g n e r (1957) badając florę grzybów korzeni lucerny, wykazującej objawy uwiadu, jednocześnie z *Verticillium alboatrum*, wyosobnił *Ascochyta imperfecta*. Fakt ten znalazł potwierdzenie w niniejszej pracy, gdyż wyizolowano grzyba z roślin kontrolnych pozornie zdrowych, bez żadnych objawów chorobowych, co było zgodne z poglądami J o n e s a i S m i t h a (1953) uważających, że grzyba tego można wyosobnić z roślin jeszcze przed wystąpieniem na nich objawów chorobowych.

Podczas wykonywania obserwacji nad biologią *Verticillium alboatrum* stwierdzono, zgodnie z badaniami Presleya (1941), że grzyb ten przechowywany dłużej i często przeszczepiany na sztucznych pożywkach traci zdolność wytwarzania ciemnej grzybni. Potwierdzono również fakt istnienia dużej zmienności morfologicznej tego grzyba w kulturach. Początkowo miały one charakter jednolity, grzybnia była ciemna, czarnozielona, niska, prószysta, a po roku przebywania na sztucznych pożywkach, wykazywały już zróżnicowanie na formę o ciemnej grzybni i formę o białej grzybni, z tym, że elementy morfologiczne miały takie same wymiary. Biorąc pod uwagę zmienność wyglądu kultur *Verticillium alboatrum*, Rudolph i Bewley doszli do przekonania, że większość różnych form, spotykanych u rodzaju *Verticillium* są to tylko pewne odchylenia, warianty hodowlane gatunku *alboatrum* i powinny być oznaczane jako ten sam gatunek (Presley 1941). Potwierdzeniem powyższych rozważań może być fakt, zaobserwowany po przeszczepieniu czystej kultury *Verticillium alboatrum* o ciemnej grzybni na pożywcę glukozowo-ziemniaczanej, czego efektem była kolonia w połowie czarna, a w połowie biała (ryc. 6).

W badaniach nad wpływem temperatury otoczenia oraz pH pożywek na wzrost i rozwój *Verticillium alboatrum* znalazły potwierdzenie wyniki prac Isaaca (1949). Uzyskane w niniejszej pracy wyniki badań nad wpływem długości czasu działania światła i ciemności na wzrost tego grzyba wskazują na jego wymagania życiowe. Podobne badania prowadził Buxton (1955) nad grzybami z rodzaju *Fusarium*, powodującymi objawy wędnięcia i zamierania mączników.

W doświadczeniu nad wpływem działania światła na rozwój *Ascochyta imperfecta* potwierdzono w niniejszej pracy wyniki badań Schenka i Gerde m a n n a (1956), którzy stwierdzili, że wzrost i zarodnikowanie tego grzyba przebiega jednakowo w warunkach światła i ciemności, nie wykazując różnic morfologicznych. Potwierdzono tu również wyniki prac tych autorów nad wpływem temperatury na wzrost i rozwój *Ascochyta imperfecta*.

W badaniach nad patogenicznością *Verticillium alboatrum* oraz *Ascochyta imperfecta* nie udało się stwierdzić na podstawie przeprowadzonych obserwacji korzystnego wpływu nitraginowania gleby na wzrost, rozwój i ewentualne zwiększenie odporności lucerny na infekcję przez te grzyby. We wszystkich bowiem doświadczeniach z lucerną, rośliny nitraginowane i nie nitraginowane rosły i rozwijały się jednakowo, nie wykazując żadnego zróżnicowania, zaś rośliny zakażone reagowały podobnie w obu seriach doświadczenia. Powyższe wyniki podaje się jednak z zastrzeżeniem, że w doświadczeniach tych używano materiału infekcyjnego, pochodzącego tylko z 1 kolonii *Rhizobium meliloti*, otrzymanej z IUNG w Puławach.

W doświadczeniach nad chorobotwórczością *Verticillium alboatrum* na lucernie, przeprowadzonych z zastosowaniem zakażonej gleby oraz nasion stwierdzono, że grzyb ten powodował wystąpienie zewnętrznych objawów choro-

bowych dopiero po 5 miesiącach od daty infekcji. Należy jednak zaznaczyć, że W o l l e n w e b e r (1932) obserwował wystąpienie charakterystycznych objawów chorobowych na roślinach zakażonych *Verticillium alboatrum* już po kilku tygodniach od daty infekcji. Efektem infekowania lucerny przez nasiona było wyizolowanie tego patogena z łodyg już po 3 miesiącach, mimo że na roślinach nie stwierdzono wystąpienia żadnych objawów chorobowych.

Wyniki doświadczeń, w których stosowano infekcję lucerny przez opryskanie jej zawiesiną zarodników *Verticillium alboatrum*, jak również przez iniekcję zawiesiny zarodnikowej w górną część korzenia lucerny, jakkolwiek nie dały pozytywnego rezultatu, nie mogą być uważane za miarodajne, z powodu zbyt krótkiego okresu obserwacji oraz niemożności kontynuowania ich w następnym roku, a być może wskutek pewnych błędów, wynikłych z braku odpowiednich urządzeń. K i e s s i g i H a l l e r K i e s s i g (1958) stwierdzili bowiem, że charakterystyczne objawy chorobowe na lucernie, opryskanej zawiesiną zarodników w jesieni, wystąpiły dopiero po 3 pokosie lucerny w październiku następnego roku. Autorzy ci izolowali *Verticillium alboatrum* z roślin porażonych jeszcze przed wystąpieniem na nich objawów chorobowych.

Badania nad chorobotwórczością *Ascochyta imperfecta*, przeprowadzone z zastosowaniem infekcji lucerny przez zakażoną glebę oraz przez zakażone nasiona, potwierdziły wyniki badań, podane w literaturze (J o n e s, S m i t h 1953, S c h e n k, G e r d e m a n n 1956). Grzyb ten bowiem we wszystkich doświadczeniach powodował wystąpienie objawów zgorzeli siewek i szybkie zamieranie. Fakt reizolowania tego patogena z lucerny w seriach kontrolnych był potwierdzeniem poglądu o powszechnym jego występowaniu na uprawach lucerny, nawet bez wywoływania objawów chorobowych, z czego wynikałoby, że grzyb ten może żyć saprofitycznie w glebie.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Głównym sprawcą choroby uwiędnięcia lucerny na Dolnym Śląsku był bez względu na warunki klimatyczno-glebowe rejonów plantacji, grzyb *Verticillium alboatrum* R. et B., powodujący tracheomikozę porażonych roślin. Rośliny te wykazywały charakterystyczne objawy chorobowe zewnętrzne i wewnętrzne.

2. *Verticillium alboatrum* powodował chorobę uwiędnięcia lucerny głównie na plantacjach starszych ponad 2-letnich, będąc przyczyną wymierania i wypadania większych ilości roślin w 3, 4, 5 i 6 roku uprawy. Na plantacjach 1- i 2-letnich występował on sporadycznie, w wypadku niewłaściwego użytkowania lucerny, szczególnie po zbyt częstym koszeniu roślin zbyt młodych. Chore rośliny występowały na plantacjach w skupionych odcinkach w rzędach lub placami.

3. *Ascochyta imperfecta* Peck., był patogenem lucerny, często wyosobnionym jednocześnie z *Verticillium alboatrum* z roślin wykazujących objawy uwięd-

du: izolowano go jednak wyłącznie z części zewnętrznych chorych roślin, tj. z tkanki korowej, zarówno korzeni jak i organów nadziemnych. Izolowano go również z roślin, nie wykazujących żadnych objawów chorobowych.

4. W wyniku badań nad biologią *Verticillium alboatrum* oraz *Ascochyta imperfecta* stwierdzono, że:

- a. Optymalny rozwój osiągnęły oba badane grzyby na agarze słodowym, zaś najslabszy na agarze z ekstraktem lucerny.
- b. Temperatura 20—25 °C była optymalną dla rozwoju obu grzybów. W temp. 30 °C oba grzyby wykazywały znikomy rozwój, zaś w 35 °C nie obserwowano już żadnego rozwoju.
- c. Oba grzyby rozwijały się w zakresie pH pożywki od 3—9, wykazując dużą tolerancję na zmianę pH, zaś optymalny ich rozwój stwierdzono na pożywce o pH = 5—8.
- d. *Verticillium alboatrum* wykazał większy i szybszy przyrost hodowany w warunkach ciemności, aniżeli w warunkach stałego światła, *Ascochyta imperfecta* natomiast rozwijał się prawie jednakowo w warunkach światła i ciemności.

5. W wyniku badań nad chorobotwórczością *Verticillium alboatrum* stwierdzono, że charakterystyczne objawy na lucernie zainfekowanej przez glebę oraz zakażane nasiona wystąpiły w warunkach tego doświadczenia dopiero przy końcu wegetacji, tj. po 5 miesiącach po inokulacji. Wyizolowano go jednak z roślin zakażanych już po 3 miesiącach.

6. *Ascochyta imperfecta* spowodował wystąpienie objawów zgorzeli siewek lucerny przy zastosowaniu infekcji przez zakażoną glebę, jak też przy użyciu zakażanych nasion.

7. Lucerna, rosnąca na glebie nitraginowanej, tj. zaszczepionej *Rhizobium meliloti* nie wykazała w rozwoju żadnych różnic w stosunku do lucerny, rosnącej na glebie nie szczepionej tym szczepem bakterii.

Składam serdeczne podziękowanie Prof. dr. Karolowi Zaleskiemu za kierownictwo naukowe tej pracy. Uprzejmie dziękuję również prof. dr Wandzie Truszkowskiej za pomoc i stworzenie warunków, sprzyjających wykonaniu przedstawionych badań, zaś Kolegom z Katedry Fitopatologii WSR we Wrocławiu wdzięczna jestem za wszelką pomoc w czasie ich opracowywania.

Z Katedry Fitopatologii WSR
we Wrocławiu

(Wpłynęło: dn. 23.6.1962 r.)

ZUSAMMENFASSUNG

In der Zeit von 1955—1959 wurden die laboratorischen- und Felduntersuchungen über Luzernekrankheitserreger mit besonderer Berücksichtigung der Welkekrankheit, ihrer Symptomatologie und Etiologie in Dolny Śląsk durchgeführt. Die Felduntersuchungen fanden an Luzernefeldern in den Ortschaften statt, die auf Grund der klimatisch-bodenartigen Verteilung von Dolny Śląsk ausgewählt wurden. Bei den Arbeiten sind die meteorologisch-bodenartigen Verhältnisse der einzelnen Luzernefeldern und die Symptomatologie der LuzerneWelkekrankheit und anderer Krankheiten berücksichtigt worden.

Die laboratorischen Arbeiten umfassten die diagnostischen und biologischen Untersuchungen. In diagnostischem Teile sind die aus kranker Luzerne isolierten Patogene bestimmt; die Arbeiten wurden mit mikroskopischer-Nährlösungs- und Feuchtkammermethode durchgeführt.

In biologischem Teil ist die Biologie der aus der die Welkekrankheit aufweisenden Luzerne reichlich und öfters isolierten Pilze untersucht worden (*Verticillium alboatrum* und *Ascochyta imperfecta*). Bei diesen Arbeiten ist der Einfluss von folgenden Faktoren berücksichtigt worden: Art der Nährlösung, pH der Malzagarlösung, Temperaturen und die Länge der Zeit der Lichtwirkung und der Verdunklung auf die Zuwachsschnelle, sowie auf die Konidienentwicklung der untersuchten Pilze.

Die letzte Phase der laboratorischen Arbeiten umfasst die Infektionsversuche der Luzerne mit untersuchten Pilzen bei Anwendung von 4 Infektionsmethoden: 1) durch infizierten Boden, 2) durch infizierte Samen, 3) durch Bespritzung mit Sporensuspension, 4) durch Injektion mit Sporensuspension in den oberen Teil der Wurzel. Alle Infektionsuntersuchungen wurden in zwei Serien durchgeführt: mit Anwendung der Nitragin (*Rhizobium meliloti*) und ohne Anwendung der Nitragin.

Auf Grund der durchgeführten Untersuchungen lassen sich folgende Folgerungen feststellen:

1. Als Haupterreger der Welkekrankheit der Luzerne in Dolny Śląsk ist ohne Unterschied auf die klimatischen- und Bodenbedingungen der Luzernefeldern, *Verticillium alboatrum* erkannt worden: es verursachte die Tracheomikose der entseuchten Pflanzen. Aus diesem Grunde wurde es aus den inneren Teilen der kranken Pflanzen aus Gefässen ausgesondert.

2. *Verticillium alboatrum* verursachte hauptsächlich auf älteren (über 2 Jahre) Luzernefeldern und zwar auf 3, 4, 5, 6 jährigen das Aussterben und den Ausfall den grosseren Zahl von Luzernepflanzen. Auf 1, und 2 jährigen Luzernefeldern trat es dagegen im Falle der schlechten Benuetzung der Luzerne besonders bei ihrer zu öfteren Ernte vereinzelt auf.

3. Die durch *Verticillium alboatrum* verseuchten Pflanzen wiesen charakteristische innere und äussere Krankheitssymptome auf: auf Luzernefeldern traten sie zusammengehäuft in Reihen und auf geschlossenen Plätzen auf.

4. *Ascochyta imperfecta* war ein Pathogen der Luzerne, welches oft gleichzeitig mit *Verticillium alboatrum* aus welkenden Pflanzen isoliert war: es wurde jedoch ausschliesslich aus äusseren Teilen der kranken Pflanzen d. h. aus Rindgewebe isoliert. Dieses Pathogen wurde auch aus Pflanzen, die keine Krankheitssymptome aufgewiesen haben, isoliert.

5. Im Ergebniss der Untersuchungen an d. Biologie von *Verticillium alboatrum* und *Ascochyta imperfecta* hat man festgestellt, dass:

- a) die untersuchten beiden Pilze ihre optimale Entwicklung auf Malzagar erreichten, ihre minimale Entwicklung auf Luzerneextractnährlösung aufwiesen.
- b) Die optimale Temperatur für die Entwicklung der beiden untersuchten Pilze war 20—25 °C. Bei 30 °C wiesen die beiden Pilze ganz geringe Entwicklung auf, bei 35 °C ist dagegen keine Entwicklung eingetreten.
- c) Die beiden untersuchten Pilze haben sich im Bereich von 3—9 pH Werte der Nährlösungen entwickelt: sie wiesen grosse Toleranz im Verhältnis zum pH Werte auf. Ihre optimale Entwicklung hat man auf der Nährlösung von pH Wert 5—8 festgestellt.

d) *Verticillium alboatrum* wies grösseren und besseren Zuwachs bei Dunkelheit als bei Beleuchtung auf. *Ascochyta imperfecta* entwickelte sich dagegen fast gleich bei Beleuchtung wie bei Dunkelheit.

6. Im Ergebniss der Infektionsversuche der Luzerne mit *Verticillium alboatrum* ist festgestellt worden, dass die charakteristischen Krankheitssymptome auf der infizierten Luzerne erst in der Schlussphase der Vegetation, d. h. nach 5 Monaten nach der Inokulation aufgetreten sind: es ist aber aus infizierten Pflanzen schon nach 3 Monaten isoliert worden.

7. *Ascochyta imperfecta* hat die Schwarzbeinigkeit der Luzernensämlinge bei Verwendung d. Infektion durch verseuchten Boden sowie bei Verwendung der mit ihm infizierten Luzernesamen verursacht.

8. Luzerne, die auf, mit *Rhizobium meliloti* verseuchten Boden wuchs, hat in ihrer Entwicklung keine Unterschiede zu derjenigen Luzerne aufgewiesen, die auf mit diesen Bakterien nicht geimpften Boden wuchs.

LITERATURA

1. Abderhalden E., 1924, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Hamburg.
2. Böning K., Wagner F., 1957, Die Luzernewelkekrankheit eine Gefässbakteriose, Dtsch. landw. Pres. Jhrg. 80, 13.
3. Buxton E. W., 1955, The taxonomy and variation in culture of *Fusarium oxysporum* from *Gladiolus*, Brit. Myc. Soc. 38 (3) : 202—212.
4. Chwiłowicz W., 1958, Uprawa roślin motylkowych na nasiona, PWRiL, Warszawa.
5. Dorywalski J. Wojciechowiec M., 1953, Metodyka oceny nasion, Warszawa.
6. Edmunds L. K., Hanson E. W., 1960, Host range, pathogenicity and taxonomy of *Ascochyta imperfecta*, Phytopathology 50 : 105—108.
7. Gäumann E., 1959, Nauka o infekcyjnych chorobach roślin, PWRiL, Warszawa.
8. Isaac I., 1949, A comparative study of pathogenic isolates of *Verticillium*, Trans. Brit. Mycol. Soc. 32 : 137—157.
9. Isaac I., 1953, The spread of diseases caused by species of *Verticillium*, Ann. appl. Biol. 40 : 630—638.
10. Isaac I., 1957, Wilt of lucerne caused by species of *Verticillium*, Ann. appl. Biol. 550—558.
11. Jones T., Smith O., 1953, Choroby lucerny w USA, Praca zbiorowa: Choroby roślin, PWRiL, Warszawa.
12. Kiessig R., Haller Kiessig R., 1958, Infektiöse Welkekrankheit der Luzerne, Phytopat. Zeitsch. 31 : 185—222.
13. Klínkowski M., Lehmann H., 1937, Kranke Luzerne, Neudamm.
14. Kuprewicz W. F., 1954, Bolezni kiewiera i lucerny, Moskwa-Leningrad.
15. Mańka K., 1953, Badania terenowe i laboratoryjne nad opieńką miodową *Armillaria mellea* (Vahl.) Quel, PWRiL, Warszawa.
16. Mihatsch H., 1959, Beitrag zur Kenntniss einer Welkekrankheit der Luzerne unter besonderer Berücksichtigung der Sortenanfälligkeit, Nachrbl. d. Dtsch. Pflanzenschd. 13 (1—2) : 22.
17. Noble M., Robertson N. F., Dawson W. J., 1953, *Verticillium* wilt of Lucerne in Britain, Plant Pathology 2 : 31—33.
18. Noll W., 1939, Untersuchungen über Fuss und Welkekrankheit bei Leguminosen, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. u. Pflanzsch. 49 (6).
19. Pietruszczyński Z., 1954, Uprawa lucerny, PWRiL, Warszawa.
20. Presley I. T., 1941, Saltans from a monospore culture of *Verticillium alboatrum*, Phytopathology 31 : 1135—1139.

21. Rabenhorst L., 1901, Kryptogamen Flora, Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs und der Schweiz, Leipzig.
22. Raiĭlo A. I., 1950, Griby roda *Fusarium*, Moskwa.
23. Rawlins T. E., 1933, Phytopathological and botanical research methods, London.
24. Ribaldi M., 1958, Ricerche sur diradamento dei medicaĭ italiani, Phytopat. Zeitschr. 31: 337—366.
25. Richter H., Klinkowski M., 1938, Wirtelpilz, Welkekrankheit an Luzerne und Esparsette, Nachrbl. d. Dtsch. Pflanzenschd. 18: 57—58.
26. Richter H., Klinkowski M., 1941, Welkekrankheit der Luzerne, Landw. Jhrg. 90: 208.
27. Robinson D. B., Larson R. H., Walker J. C., 1957, *Verticillium* wilt of potato, Research Bulletin 202, Illinois.
28. Sałuńska N. J., 1954, Osnownije zawdannia wywczenia gribnych chorob lucerny w USSR, Mikrobiol. Żurn. 16: 76—83.
29. Sorauer P., 1932, Handbuch der Pflanzenkrankheiten Bd. III, T. II, Berlin.
30. Szembek J., 1956, Zwiększajmy powierzchnię upraw lucerny mieszańcowej, Nowe Rolnictwo 4: 291.
31. Schenk N. C., Gerdemann J. W., 1956, Taxonomy, pathogenicity and host-parasite relations of *Phoma trifolii* and *Phoma herbarum* var. *medicaginis*, Phytopathology 46: 194—200.
32. Staple C., 1956, Nogle Lucernesygdomme (R.A.M. 36, 1957; 408).
33. Wagner F., 1957, Zum Problem der Luzernewelke auf Grund mykologischer Untersuchung der Wurzeln, Pflanzenschutz Jhrg. 9 (8).
34. Weltzien H. C., 1957, Untersuchungen über das Vorkommen der Luzerneverticillioze und weiterer Luzerneerkrankungen in Süddeutschland, Nachrbl. d. Dtsch. Pflanzenschd. 9: 42—45.
35. Wilhelm S., 1950, Vertical distribution of *Verticillium alboatrum* in soils, Phytopathology 40: 368—376.
36. Wilhelm S., 1951, Is *Verticillium alboatrum* a soil invader or a soil inhabitant?, Phytopathology 41: 949.
37. Wollenweber H. W., Reinking O. A., 1935, Die Fusarien, Berlin.
38. Zaleski A., 1957, Reactions of Lucerne strains to *Verticillium* wilt (R.A.M. 37, 1958; 297).
39. Zaleski K., Błaszczak W., Glaser T., 1959, Badania nad biologią i chorobotwórczością 4 gatunków *Fusarium* z łubinów i 4 szczepów *Rhizoctonia solani* oraz próby ich zwalczania w warunkach szklarnianych, Poznańskie Towarzystwo Przyjaciół Nauk, t. V, z. 7.
40. Zaleski K., 1952, Choroby roślin (Fitopatologia) cz. I, Poznań.