

## Badania nad zakażaniem jabłek po zbiorze przez grzyb *Botrytis cinerea* Pers.

HANNA BRYK

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice.

H. Bryk (Institute of Pomology and Floriculture, Pomologiczna 18 Str. 96-100 Skierniewice, Poland).

The study on the infection of apple fruits by *Botrytis cinerea* Pers. after harvest

(Otrzymano: dn. 24.11.1999)

### Summary

The aim of this study was to determine the possibility to infection of apples after harvest by conidia and/or mycelium of *Botrytis cinerea* Pers. Conidia were unable to infect uninjured apple skin regardless of inoculum density and presence of nutrients. The infection of apples by conidia occurred after the surface wax had been removed by washing of apples with chloroform. Injuries of skin appeared to be a favourable entry point for conidia and mycelium of *B. cinerea*. Only the mycelium of *B. cinerea* developed on the apple but not that grown on the artificial medium (PDA) was able to directly penetration uninjured apple skin. It was observed that sometimes rotted spots developed around the lenticels.

Key words: apple, postharvest diseases, *Botrytis cinerea*, mode of infection

### WSTĘP

Grzyb *Botrytis cinerea* Pers. (stadium doskonale *Botryotinia fuckeliana* /DeBary/ Whetzel) jest sprawcą szarej pleśni jabłek. Zakażenie kwiatów jabłoni przez zarodniki konidialne *B. cinerea* może spowodować rozwój suchej zgnilizny przykielichowej na jabłkach w sadzie (Tronsmo i Raa, 1977) lub doprowadzić do gnicia owoców wokół resztek kwiatowych, w czasie przechowywania (Bryk, 1986; Harris i in. 1997).

Na powierzchni skórki jabłek znajdują się zarodniki wielu gatunków grzybów, w tym także *B. cinerea* (Bryk i Wojtas-Kozieł, 1988). Grzyby zakażają owoce

w różny sposób. *Penicillium expansum* wnika do jabłek przez uszkodzenia skórki (Borecka, 1962), natomiast *Trichothecium roseum* i *Cryptosporiopsis malicorticis* przez przetchlinki (Borecki i Profic, 1962). Najczęstszą drogą infekcji owoców przez *Monilinia fructigena* są uszkodzenia skórki (Byrde i Willetts, 1977) chociaż Moore (1951) opisał penetrację przetchlinek jabłek przez strzępki tego patogena. Z kolei *Glomerella cingulata* posiada zdolność wnikania do jabłek przez nieuszkodzoną skórę (Noe, Starkey, 1982).

Sposób zakażenia owoców przez *B.cinerea* nie jest dokładnie wyjaśniony. Bon-doux (1969) zalicza tego patogena do grupy grzybów wnikających do jabłka tylko w miejscu uszkodzenia skórki. Natomiast Horne (1932, 1933) cytowany przez Jarvisa (1977) oraz Colhoun (1962) uważają, że *B.cinerea* infekuje jabłka przez przetchlinki. Brak informacji na temat bezpośredniego wnikania strzępek grzyba do jabłka przez nieuszkodzoną skórę.

Celem pracy było zbadanie możliwości infekcji jabłek grzybnia i zarodnikami konidialnymi *B.cinerea*. Określono także wpływ różnych czynników, takich jak gęstość i rodzaj inokulum, temperatura, rodzaj uszkodzenia skórki, obecność wosku na jabłku, na proces infekcji jabłek.

## MATERIAŁY I METODY

We wszystkich doświadczeniach inokulowano jabłka, bezpośrednio po zbiorze, zawieszając zarodników konidialnych lub grzybnia *Botrytis cinerea*. Jabłka przed inokulacją płukano pod bieżącą wodą, przecierano tamponem nasyonym alkoholem etylowym, a następnie wodą sterylną. Do inokulacji użyto izolat grzyba (nr 46) z własnej kolekcji, charakteryzujący się wysoką patogenicznością w stosunku do jabłek. We wszystkich doświadczeniach powtórzenie stanowiło 1 jabłko inokulowane w dwóch punktach. W każdej kombinacji inokulowano 20 jabłek (40 punktów). Po odpowiednim okresie inkubacji mierzono dwie prostopadłe średnice powstałych plam gnilnych. Wszystkie doświadczenia powtarzano dwukrotnie.

Wyniki analizowano statystycznie metodą analizy wariancji, istotność średnich porównywano przy pomocy testu Duncana przy prawdopodobieństwie 5%.

### 1. Możliwość zakażenia jabłek zarodnikami konidialnymi *B.cinerea*.

#### 1.1. Wpływ gęstości inokulum

Zawiesinę zarodników konidialnych *B.cinerea* przygotowano przez splukanie zarodników wodą sterylną z 10-dniowych kultur grzyba rosnących na pożywce PDA. Przez odpowiednie rozcieńczenie wodą sterylną przygotowano zawiesiny zawierające odpowiednio  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  i  $10^7$  zarodników/ml. Jabłka odmiany Cortland inokulowano przez naniesienie kropli inokulum (0,05 ml) na powierzchnię nieuszkodzonej skórki jabłka o średnicy 1 cm zaznaczonej wodoodpornym markerem. Kombinację kontrolną stanowiły jabłka o uszkodzonej skórce inokulowane tymi samymi zawiesinami. Uszkodzenia polegały na wycięciu korkoborem otworów o średnicy 5 mm w skórce. Wszystkie jabłka umieszczono w warunkach optymalnych dla rozwoju grzyba, tzn. w temperaturze 20°C i wilgotności względnej powietrza 95%. Po 3 i 6 dniach inkubacji oceniono wielkość powstałych plam gnilnych.

## 1.2. Wpływ sposobu inokulacji jabłek

Jabłka 9 odmian (McIntosh, Spartan, Cortland, Jonatan, Bankroft, Koksa Pomarańczowa, Starking, Golden Delicious, Idared) opryskano wodną zawiesiną zarodników konidialnych o gęstości  $2 \times 10^6$  zarodników/ml. do całkowitego pokrycia. Kombinację kontrolną stanowiły jabłka inokulowane taką samą zawiesiną zarodników konidialnych umieszczoną w otworze, o średnicy 5 mm, w skórce jabłka. Po 4 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej mierzono średnice powstałych plam gnilnych.

## 1.3. Wpływ dodatku substancji odżywczych do zawiesiny zarodników konidialnych

W sposób opisany w punkcie 1.1. przygotowano zawiesinę zarodników konidialnych *B.cinerea* o gęstości  $7 \times 10^6$  zarodników/ml w 3% roztworze glukozy, w soku jabłkowym i w płynnej pożywce Czapka. Sok jabłkowy przygotowano bezpośrednio przed doświadczeniem z jabłek odmiany Cortland. Inokulowano jabłka odmiany Cortland w sposób opisany w punkcie 1.1. Kombinację kontrolną stanowiły jabłka inokulowane zawiesiną zarodników konidialnych o takiej samej gęstości, w wodzie sterylnej. Wszystkie jabłka miały nieuszkodzoną skórkę. Owoce umieszczono w temperaturze 20°C i wilgotności względnej powietrza 95%.

## 1.4. Zakażanie jabłek po usunięciu wosku

Z jabłek odmiany Cortland usuwano chemicznie wosk przez zanurzenie owoców na 20 sekund w zimnym chloroformie (Fernandes i in., 1964). Następnie jabłka te inokulowano punktowo, metodą opisaną w punkcie 1.1, zawiesiną zarodników konidialnych o gęstości  $7 \times 10^6$ /ml w wodzie sterylnej. Kombinację kontrolną stanowiły jabłka w ten sam sposób inokulowane, z których nie usuwano wosku. Jabłka inkubowano w temperaturze 20°C.

# 2. Możliwość zakażenia jabłek grzybnią *B.cinerea*

## 2.1. Wpływ temperatury

Jabłka odmiany Cortland inokulowano przez nałożenie na nieuszkodzoną skórkę krążka grzybni, o średnicy 5 mm, wyciętego z 4-dniowej kultury *B.cinerea* rosnącej na PDA. Kombinację kontrolną stanowiły jabłka inokulowane grzybnią w miejscu przecięcia skórki sterylnym skalpelem, na długość 5 mm. Zainokulowane owoce inkubowano w czterech temperaturach 0°, 2°, 6° i 20°C. Po 3, 5 i 8 dniach inkubacji oceniano wielkość powstałych plam gnilnych.

## 2.2. Wpływ rodzaju uszkodzenia skórki

Skórkę jabłek 10 odmian (McIntosh, Spartan, Empire, Cortland, Jonatan, Jonagold, Starking, Gloster, Melrose, Idared) uszkodzano przez punktowe nakłucie igłą preparacyjną na głębokość 3 mm lub przecięcie skórki sterylnym skalpelem na długość 5 mm. Na uszkodzoną skórkę nakładano krążek grzybni o średnicy 5 mm wycięty z 4 dniowej kultury *B.cinerea* rosnącej na pożywce PDA. Jabłka inkubowano w temperaturze 20°C. Po 3, 5 i 8 dniach oceniano wielkość powstałych plam gnilnych.

## 2.3. Inokulacja jabłek o nieuszkodzonej skórce grzybnią rozwijającą się na jabłku

Badania prowadzono na jabłkach 6 odmian: McIntosh, Spartan, Cortland, Bankroft, Starking i Idared. Po 20 sztuk jabłek każdej odmiany inokulowano grzybnią

*B.cinerea* po uprzednim uszkodzeniu skórki. Następnie jabłka te inkubowano w temperaturze pokojowej. Kiedy plamy gnilne osiągnęły średnice około 2 cm, każde gnijące jabłko zetknięto w miejscu plamy z jabłkiem tej samej odmiany o nieuszkodzonej skórce. Jabłka umieszczono w temperaturze 6°C i wilgotności względnej powietrza 95%. Po 20 i 37 dniach inkubacji liczono jabłka zakażone „przez kontakt” oraz mierzono średnice powstałych plam gnilnych.

## WYNIKI

### 1. Możliwość zakażenia jablek zarodnikami konidialnymi *B.cinerea*

#### 1.1. Wpływ gęstości inokulum

W kropli inokulum użytego do inokulacji jablek znajdowało się, w zależności od gęstości, odpowiednio 50, 500, 5000, 50000 lub 500000 zarodników. Kielkowanie zarodników po 24 godzinach inkubacji w temperaturze pokojowej wynosiło odpowiednio dla gęstości  $10^3$  zar./ml - 100%,  $10^4$  - 100%,  $10^5$  - 98%,  $10^6$  - 96% i  $10^7$  - 47%. Inokulacja jablek o nieuszkodzonej skórce nie doprowadziła do ich zakażenia, bez względu na ilość zarodników jaka znajdowała się w kropli inokulum, nawet po 2 miesiącach inkubacji. Natomiast w przypadku jablek z uszkodzoną skórą szybkość pojawienia się objawów gnicia zależała od ilości zarodników w inokulum (tab.1). Po 3 dniach inkubacji stwierdzono 100% zakażenie jablek inokulowanych zawiesinami o gęstości  $10^5$ ,  $10^6$  i  $10^7$  zar./ml. Gdy inokulum zawierało mniej zarodników ( $10^3$  i  $10^4$ ) zakażeniu uległo odpowiednio 20% i 30% inokulowanych otworów. Po 6 dniach inkubacji zwiększył się procent plam powstałych po inokulacji zawiesinami o gęstości  $10^3$  i  $10^4$  zar./ml jednak nadal nie wszystkie inokulowane otwory zostały zakażone. Wielkość plam gnilnych zależała od gęstości inokulum. Im więcej zarodników znajdowało się w kropli inokulum tym plamy były większe (tab.1).

Tabela 1.

Wpływ gęstości zawiesiny zarodników konidialnych *B. cinerea* w wodzie na zakażenie jablek odmiany Cortland o uszkodzonej skórce

Table 1.

Effect of inoculum concentration in water on the infection of injured apple fruits cv. Cortland by *B. cinerea*

| Liczba zarodników<br>w 1 ml inokulum<br>Numbers of conidia<br>in 1 ml of inoculum | Po 3 dniach inkubacji<br>After 3 days of incubation |                                                                | Po 6 dniach inkubacji<br>After 6 days of incubation |                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
|                                                                                   | % powstałych<br>plam<br>% of lesions                | Średnica plam<br>gnilnych w mm<br>Diameter of<br>lesions in mm | % powstałych<br>plam<br>% of lesions                | Średnica plam<br>gnilnych w mm<br>Diameter of<br>lesions in mm |
| $10^3$                                                                            | 20                                                  | 7,3                                                            | 70                                                  | 13,4                                                           |
| $10^4$                                                                            | 30                                                  | 8,3                                                            | 80                                                  | 19,8                                                           |
| $10^5$                                                                            | 100                                                 | 12,7                                                           | 100                                                 | 35,9                                                           |
| $10^6$                                                                            | 100                                                 | 15,6                                                           | 100                                                 | 37,1                                                           |
| $10^7$                                                                            | 100                                                 | 21,1                                                           | 100                                                 | 47,6                                                           |

### 1.2. Wpływ sposobu inokulacji

Na jabłkach 9 odmian o nieuszkodzonej skórce, opryskanych zawiesiną zarodników konidialnych grzyba, nie zauważono objawów gnicia po 4 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej. Po tym czasie owoce przeniesiono do chłodni o temperaturze 2°C w celu dalszej obserwacji. Nie stwierdzono objawów gnicia na żadnej z badanych odmian jabłek po upływie 4 miesięcy przechowywania w chłodni. Natomiast na owocach uszkodzonych, już po 4 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej powstały plamy gnilne (tab.2). Najmniejsze plamy powstały na jabłkach odmiany Idared i Starking, a największe na jabłkach odmian Koksa Pomarańczowa, Cortland i Bankroft.

Tabela 2.

Średnica plam gnilnych ( w mm ) na jabłkach różnych odmian inokulowanych wodną zawiesiną zarodników konidialnych *B. cinerae* po 4 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej

Table 2.

The diameter of lesions ( in mm ) on the some cultivars of apples after inoculation with water conidial suspension of *B. cinerea* after 4 days of incubation at room temperature

| Odmiana<br>Cultivar | Skórka uszkodzona<br>Injured skin | Skórka nieuszkodzona<br>Uninjured skin |
|---------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|
| Idared              | 9,0 a                             | 0                                      |
| Starking            | 15,5 b                            | 0                                      |
| McIntosh            | 21,8 c                            | 0                                      |
| Spartan             | 22,9 c                            | 0                                      |
| Golden Delicious    | 26,7 d                            | 0                                      |
| Jonatan             | 28,3 d                            | 0                                      |
| Bankroft            | 31,3 e                            | 0                                      |
| Cortland            | 33,6 e                            | 0                                      |
| Koksa Pomarańczowa  | 38,4 f                            | 0                                      |

### 1.3. Wpływ dodatku substancji odżywczych

Po 24 godzinach kiełkowanie zarodników *B.cinerea* w zawiesinach użytych do inokulacji wynosiło: w soku jabłkowym, w płynnej pożywce Czapka i w 3% roztworze glukozy – 99%, a w wodzie sterylnej - 91%. Po 4 dniach inkubacji jabłek zaobserwowano rozwój grzybni na kroplach zawiesiny zarodników konidialnych w soku jabłkowym i w płynnej pożywce Czapka, umieszczonych na nieuszkodzonych jabłkach, jednak plamy gnilne nie powstały. Również po 1 miesiącu inkubacji owoców w temperaturze pokojowej nie rozwinęły się plamy gnilne na jabłkach inokulowanych zawiesiną zarodników w soku jabłkowym, w 3% roztworze glukozy, w płynnej pożywce Czapka i w wodzie sterylnej. Po usunięciu rozwijającej się na powierzchni jabłka grzybni skórka pozostawała nadal zdrowa.

## 1.4. Wpływ wosku

Po 4 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej na wszystkich jabłkach, z których usunięto wosk i inokulowano zawiesinę zarodników konidialnych powstały plamy gnilne o średniej średnicy 25,0 mm. Z plam tych reizolowano grzyby *B.cinerea*. Na jabłkach kontrolnych, z których nie usunięto wosku nie doszło do zakażenia nawet po 2 miesiącach inkubacji.

## 2. Możliwość zakażenia jablek grzybnią *B.cinerea*

### 2.1. Wpływ temperatury

Na jabłkach z przeciętą skórą (kontrolnych), inokulowanych krążkami grzybni *B.cinerea*, już po 3 dniach inkubacji w temperaturze 20°C stwierdzono rozwój plam gnilnych (tab. 3). W temperaturach 0°C, 2°C i 6°C, w tym czasie, nie było jeszcze objawów gnicia. Z upływem czasu przybywało plam na jabłkach inkubowanych w pozostałych temperaturach. Po 8 dniach inkubacji powstało odpowiednio 80%, 95%, 100% i 100% plam gnilnych na jabłkach o uszkodzonej skórce, przechowywanych w badanych temperaturach. Plamy gnilne na jabłkach inkubowanych w temperaturach 0°C, 2°C i 6°C rozwijały się znacznie wolniej niż na jabłkach w temperaturze 20°C, o czym świadczy średnica plam po 8 dniach inkubacji.

Na jabłkach o nieuszkodzonej skórce, inokulowanych grzybnią *B.cinerea*, nie rozwinęły się plamy gnilne w żadnej z badanych temperatur nawet po 48 dniach inkubacji. Po usunięciu krążków grzybni umieszczonych na skórce owoców, jabłka były nadal zdrowe.

Tabela 3.

Wpływ temperatury na zakażenie jablek odmiany Cortland, o uszkodzonej skórce, grzybnią *B. cinerea*

Table 3.

Effect of incubation temperature on the infection of injured apple fruits cv. Cortland by mycelium of *B. cinerea*

| Temperatura inkubacji<br>Temperature of incubation | Czas inkubacji w dniach<br>Time of incubation in days |                                                          |                                           |                                                          |                                           |                                                          |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|                                                    | 3                                                     |                                                          | 5                                         |                                                          | 8                                         |                                                          |
|                                                    | % powsta-<br>łych plam<br>%<br>of lesions             | średnica<br>plam w mm<br>diameter<br>of lesions<br>in mm | % powsta-<br>łych plam<br>%<br>of lesions | średnica<br>plam w mm<br>diameter<br>of lesions<br>in mm | % powsta-<br>łych plam<br>%<br>of lesions | średnica<br>plam w mm<br>diameter<br>of lesions<br>in mm |
| 0°C                                                | 0                                                     | –                                                        | 25                                        | 4,1                                                      | 80                                        | 6,9                                                      |
| 2°C                                                | 0                                                     | –                                                        | 40                                        | 4,2                                                      | 95                                        | 7,3                                                      |
| 6°C                                                | 0                                                     | –                                                        | 90                                        | 5,2                                                      | 100                                       | 9,1                                                      |
| 20°C                                               | 100                                                   | 11,6                                                     | 100                                       | 29,6                                                     | 100                                       | 57,8                                                     |

## 2.2. Wpływ rodzaju uszkodzenia skórki

Po 3, 5 i 8 dniach inkubacji oceniono średnice plam gnilnych powstałych w miejscu inokulacji jabłek. W tabeli 4 podano wyniki obserwacji po 3 dniach inkubacji. Ilość jabłek, na których rozwinęły się plamy gnilne i średnica tych plam były większe w przypadku przecięcia skórki jabłka niż jej nakłucia. W przypadku przecięcia skórki najmniejsze plamy rozwinęły się na jabłkach odmian Idared, Jonatan i Starking, a największe Empire i McIntosh.

Tabela 4.

Wpływ rodzaju uszkodzenia skórki na zakażenie jabłek różnych odmian grzybnia *B. cinerea*

Table 4.

Effect of kind of skin injury on the infection of some cultivars of apples by mycelium of *B. cinerea*

| Odmiana<br>Cultivar | Skórka nakłuta<br>Puncture           |                                                                | Skórka przecięta<br>Cutting          |                                                                |
|---------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
|                     | % powstałych<br>plam<br>% of lesions | Średnica plam<br>gnilnych w mm<br>Diameter of<br>lesions in mm | % powstałych<br>plam<br>% of lesions | Średnica plam<br>gnilnych w mm<br>Diameter of<br>lesions in mm |
| Idared              | 50                                   | 5,4                                                            | 100                                  | 8,5 a                                                          |
| Spartan             | 70                                   | 8,0                                                            | 100                                  | 14,9 c                                                         |
| Gloster             | 80                                   | 5,6                                                            | 100                                  | 13,0 bc                                                        |
| Cortland            | 80                                   | 10,7                                                           | 100                                  | 15,5 c                                                         |
| Jonagold            | 90                                   | 5,5                                                            | 100                                  | 13,3 c                                                         |
| Jonatan             | 100                                  | 5,7                                                            | 100                                  | 9,6 a                                                          |
| Starking            | 100                                  | 7,3                                                            | 100                                  | 9,2 a                                                          |
| Melrose             | 100                                  | 9,9                                                            | 100                                  | 10,9 b                                                         |
| McIntosh            | 100                                  | 15,3                                                           | 100                                  | 18,9 d                                                         |
| Empire              | 100                                  | 15,8                                                           | 100                                  | 24,4 e                                                         |

## 2.3. Zakażanie jabłek „przez kontakt”

Po 20 dniach inkubacji w temperaturze 6° C stwierdzono powstanie plam gnilnych na jabłkach odmian Bankroft, Cortland i Idared zetkniętych z gnijącymi jabłkami (tab.5). Najwięcej plam powstało na jabłkach odmiany Bankroft (75%). Na jabłkach odmian McIntosh, Spartan i Starking nie obserwowano jeszcze objawów gnicia. Po 40 dniach inkubacji plamy gnilne powstały na jabłkach wszystkich odmian, jednak w różnym nasileniu. Najmniej jabłek zostało zakażonych „przez kontakt” w przypadku odmian McIntosh i Spartan (po 25%). Tylko jabłka odmiany Bankroft zostały zakażone w 100%. Wielkość powstałych plam gnilnych była różna w zależności od odmiany. Największe plamy gnilne powstały na owocach odmian McIntosh i Starking. Niektóre plamy gnilne rozwijały się koncentrycznie wokół przetchlinek.

Tabela 5.

Zakażenie jabłek o nieuszkodzonej skórce grzybnia *B. cinerea* rozwijającą się na jabłku („przez kontakt”)

Table 5.

The infection of apples with uninjured skin by mycelium of *B. cinerea* developed on apples (rotting by contact)

| Odmiana<br>Cultivar | Po 20 dniach inkubacji<br>After 20 days of incubation |                                                                | Po 40 dniach inkubacji<br>After 40 days of incubation |                                                                |
|---------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
|                     | % powstałych<br>plam<br>% of lesions                  | średnica plam<br>gnilnych w mm<br>diameter of<br>lesions in mm | % powstałych<br>plam<br>% of lesions                  | średnica plam<br>gnilnych w mm<br>diameter of<br>lesions in mm |
| McIntosh            | 0                                                     | —                                                              | 25                                                    | 36,9                                                           |
| Spartan             | 0                                                     | —                                                              | 25                                                    | 15,8                                                           |
| Starking            | 0                                                     | —                                                              | 45                                                    | 34,7                                                           |
| Idared              | 20                                                    | 13,0                                                           | 35                                                    | 22,1                                                           |
| Cortland            | 30                                                    | 17,5                                                           | 50                                                    | 22,0                                                           |
| Bankroft            | 75                                                    | 16,6                                                           | 100                                                   | 21,3                                                           |

## DYSKUSJA

Grzyb *B.cinerea*, uważany za patogena słabości, zazwyczaj infekuje tkanki roślin osłabionych przez różne czynniki (Jarvis, 1977). Znana jest jednak zdolność grzyba do bezpośredniej infekcji niektórych roślin zielnych oraz owoców np. pomidora (Rijkenberg i in. 1980), winogron (Nelson 1951) i innych.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że zarodniki *B.cinerea*, naniesione na powierzchnię skórki jabłek, nie były w stanie zakażać jabłek o nieuszkodzonej skórce.

Zdolność zarodników do infekcji można zwiększyć przez dodanie do zawiesiny składników odżywczych. Już Brooks w 1908 roku stwierdził, że zarodniki *B.cinerea* umieszczone w kropli wody mogły infekować tylko starzejące się liście sałaty, natomiast umieszczone w roztworze odżywczym infekowały zielone, młode liście (Wastie, 1962). W badaniach własnych stwierdzono, że nawet po umieszczeniu zarodników grzyba w roztworze glukozy, w płynnej pożywce Czapka, czy w soku jabłkowym nie następowało zakażenie jabłek o nieuszkodzonej skórce. Brak substancji odżywczych nie był więc czynnikiem utrudniającym zakażenie.

W przypadku grzyba *Glomerella cingulata* stwierdzono, że do zakażenia jabłek o nieuszkodzonej skórce potrzebna była odpowiednia ilość zarodników (Noe, Starkey, 1982). Nie dochodziło do zakażenia owoców po inokulacji zawiesiną zawierającą  $10^3$  i  $10^4$  zarodników/ml. Dopiero większa ilość zarodników powodowała infekcję jabłek. W badaniach własnych wykazano, że gęstość zawiesiny zarodników *B.cinerea* nie miała znaczenia przy infekcji jabłek o nieuszkodzonej skórce. Nawet przy gęstości  $10^7$  zarodników/ml nie następowało zakażenie. Również sposób inokulacji



owoców nie odgrywał roli. Zarówno opryskanie jabłek zawiesiną zarodników, jak i miejscowe nanoszenie zawiesiny na nieuszkodzoną skórę, nie spowodowało rozwoju plam gnilnych.

Skórka jabłka składa się z komórek epidermy, błony kutikularnej i warstewki wosku o różnej grubości w zależności od odmiany jabłek (Baker i in., 1962). Na hamującą rolę wosku w procesie infekcji roślin zielnych przez *B.cinerea* zwracają uwagę niektórzy badacze (Jarvis, 1977). Między innymi Rosall i Mansfield (1980) stwierdzili hamowanie kiełkowania zarodników grzyba pod wpływem wosku z liści fasoli. W badaniach własnych nie stwierdzono takiego wpływu. Kiełkowanie zarodników *B.cinerea* umieszczonych na jabłku było takie samo jak w kropli umieszczonej na szkiełku podstawkowym. Po chemicznym usunięciu warstwy wosku z jabłka doszło do zakażenia owoców przez zarodniki grzyba umieszczone w wodzie sterylnej. Prawdopodobnie warstwa wosku na jabłku stanowiła mechaniczną barierę, przez którą młode strzępki rostkowe nie mogły się przebić.

Wosk nie stanowił bariery dla strzępek grzybni rozwijającej się na jabłku. Po zetknięciu jabłek gniących ze zdrowymi, o nieuszkodzonej skórze, dochodziło do zakażenia, natomiast nie następowało zakażenie jeśli grzybnią użytą do inokulacji rozwijała się na pożywce PDA. Prawdopodobnie jest to związane z różną aktywnością enzymatyczną grzyba w zależności od podłoża, na którym się rozwija.

Na temat enzymów wytwarzanych przez *B.cinerea* w procesie infekcji istnieje obszerna literatura. Jeżeli grzyb rozwijał się na pożywce zawierającej kutynę, jako źródło węgla, to wytwarzał enzymy kutynolityczne (Baker i Bateman, 1978), a jeżeli pożywka zawierała pektynę to aktywność poligalakturonazy była większa (Verhoeff i Liem, 1978). Związek między patogenicznością *B.cinerea* a wydzielaniem enzymów kutynolitycznych i pektynolitycznych był wielokrotnie wykazany (Jarvis, 1977).

W przypadku jabłek uszkodzonych ważny jest rodzaj uszkodzenia. Pojedyncze, małe nakłucia skórki były mniej przydatnym dla grzyba miejscem infekcji niż przecięcia skórki. Również ilość zarodników jest ważna. Przy małej liczbie zarodników w kropli zakażenie następowało po dłuższym okresie czasu. Jednak nawet 50 zarodników w kropli było w stanie spowodować zakażenie uszkodzonych jabłek.

Niska temperatura, w jakiej przechowuje się jabłka, nie ma hamującego wpływu na możliwość ich zakażenia grzybnią *B.cinerea* w miejscu przecięcia skórki. W temperaturze 0°C następowało zakażenie jabłek o uszkodzonej skórze, a w temperaturze 6°C także zakażenie jabłek „przez kontakt”. Jednak rozwój zgnilizny był znacznie intensywniejszy w temperaturze pokojowej, niż w chłodni.

Na podstawie przeprowadzonych badań trudno jednoznacznie określić rolę przetchlinek w procesie infekcji jabłek. Po inokulacji nieuszkodzonej skórki jabłka w miejscu przetchlinki, zarodnikami grzyba, nie obserwowano rozwoju plamy gnilnej. Natomiast przy zakażeniu jabłek „przez kontakt” niektóre plamy gnilne rozwijały się koncentrycznie wokół przetchlinki, co może wskazywać na przetchlinkę jako miejsce wnikięcia patogena.

Wykazanie zdolności grzyba *B.cinerea* do zakażenia jabłek „przez kontakt” jest bardzo ważne z praktycznego punktu widzenia. Ten sposób infekcji może doprowadzić do dużych strat w czasie długotrwałego przechowywania jabłek. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że istnieją różnice w podatności odmian jabłek na

zakażenie „przez kontakt”. Określenie czynników decydujących o tej podatności (np. budowa skórki, grubość warstwy wosku, obecność spękań skórki itp.) wymaga odrębnych badań.

## LITERATURA

- Baker E.A., Batt R.F., Fernandes A.M.S., Martin J.T., 1962. The cuticles of apple fruits during growth and storage. *Ann.Rep.Long Ashton Res. for 1962*, p. 69-76.
- Borecka H., 1962. *Penicillium expansum* (Link.)Thom jako czynnik chorobotwórczy na jabłkach w okresie przechowywania. *Acta Agrobotanica XII*: 67- 78.
- Borecki Z., Profic H., 1962. Grzyby *Trichothecium roseum* Link., *Cryptosporiopsis mali-corticis* (Cord.) Nannf. i *Penicillium expansum* (Link.)Thom jako pierwotne lub wtórne patogeny jabłek. *Acta Agrobotanica XII*: 79-94.
- Bryk H. 1986. The time of infection of apples by *Botrytis cinerea* Pers. *Acta Agrobotanica*, 39 (2): 385-395.
- Bryk H., Wojtas-Kozieł B., 1988. Epiphytic occurrence of *Botrytis cinerea* Pers. and *Alternaria* spp.in the apple tree canopy. *Fruit Sc.Rep.* XV (3): 129-136.
- Baker C.J., Bateman D.F., 1978. Cutin degradation by plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 68: 1577-1588.
- Bondoux P. 1969. Les maladies cryptogamiques des poires et des pommes au cours de l'entreposage. II. Identification et description. *Ann.Phytopathol.* 1 (3): 327-352.
- Byrde R.J.W., Willetts H.J. 1977. The brown rot fungi of fruit. Their biology and control. Pergamon Press Ltd.
- Colhoun J., 1962. Some factors influencing the resistance of apple fruits to fungal invasion. *Trans.Br.Myc.Soc.* 45: 429-430.
- Fernandes A.M.S., Baker E.A., Martin J.T., 1964. Studies on plant cuticle. VI. The isolation and fractionation of cuticular waxes. *Ann.Appl.Biol.* 53: 43-58.
- Harris D.C., Chambers D.A., Lewis C.A., 1997. The epidemiology of botrytis fruit rot of apple and pear in the U.K. *IOBC wprs Bulletin*, vol. 20(9): 116-118.
- Jarvis W.R., 1977. *Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology, and pathogenicity. Research Branch, Ca.Dep.Agric., Monograph No 15.
- Moore M.H. 1951. Brown rot of apples; note on infection associated with hail bruises and lenticels. *Rep. E. Malling Res. Sta. for 1950*: 131.
- Nelson K.E. 1951. Factors influencing the infection of table grapes by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 41: 319-326.
- Noe J.P., Starkey T.E., 1982. Relationship of apple fruit maturity and inoculum concentration to infection by *Glomerella cingulata*. *Plant Disease*, 66: 379-381.
- Rijkenberg F.H.J., DeLeeuw G.T.N., Verhoeff K., 1980. Light and electron microscopy studies on the infection of tomato fruits by *Botrytis cinerea*. *Can.J.Bot.* 58: 1394-1404.
- Rosall S., Mansfield J.W., 1980. Investigation of the causes of poor germination of *Botrytis* spp. on broad bean leaves (*Vicia faba*). *Physiol.Plant Pathol.* 16: 369-382.
- Tronsmo A., Raa J., 1977. Life cycle of the dry eye rot pathogen *Botrytis cinerea* Pers. on apple. *Phytopath.Z.* 89: 203-207.
- Verhoeff K., Liem J.I., 1978. Presence of endo-polygalacturonase in conidia of *Botrytis cinerea* before and during germination. *Phytopath. Z.* 91: 110-115.
- Wastie R.L., 1962. Mechanism of action of an infective dose of *Botrytis* spores on bean leaves. *Trans.Br.Mycol.Soc.* 45: 465-473.

## Streszczenie

Badano możliwość zakażenia jabłek po zbiorze zarodnikami i grzybnią *Botrytis cinerea* Pers. Stwierdzono, że zarodniki konidialne grzyba nie są w stanie zakażyć jabłek o nieuszkodzonej skórce, niezależnie od gęstości inokulum czy obecności substancji

odżywczych w inokulum. Po chemicznym usunięciu wosku z jabłek doszło do zakażenia owoców przez zarodniki konidialne umieszczone w wodzie sterylnej. Grzybnia *B.cinerea*, rozwijająca się na jabłku, wnikała do jabłek o nieuszkodzonej skórce (tzw. gnicie przez kontakt), natomiast rozwijająca się na sztucznej pożywce (PDA) nie miała takich zdolności. Uszkodzenia skórki (nakłucia, przecięcia lub jej usunięcie) były bardzo dobrymi „wrotami” infekcji zarówno dla zarodników, jak i grzybni *B.cinerea*. W przypadku gnicia „przez kontakt” niektóre plamy gnilne rozwijały się wokół przetchlinek.