Zgnilizna wodnista pomidora.

(La pourriture aqueuse des fruits de *Solanum lycopersicum* L.) ¹⁾.

Napisała

HALINA STRZAŁKOWSKA.

Wstęp.

W literaturze, tyczącej gnicia owoców pomidora wymieniają następujące czynniki, wywołujące to zjawisko: a) grzybki, b) bakterje, c) prawdopodobnie ultramikroskopowe organizmy, d) niepomyślne warunki wegetacji całej rośliny, co odbija się na owocach w postaci tzw. gnicia wierzchołkowego — „blossom-end rot“ autorów amerykańskich.

a) Zgnilizna spowodowana przez grzybki. Gnicie owoców, powodowane przez grzyby omawia Oven (12), który jeszcze na krzakach wśród dojrzałych i nawet zielonych pomidorów znajduje na owocu, w miejscu dawniejszego przytwierdzenia szyjki do załączni (Griffelanzatzstelle) — czarne plamki, które stopniowo rozszerzają się na cały owoc. Bakterje według autora odgrywają tu rolę wtórną, wśród nich wyróżnia jeden gatunek, żyjący w środowisku kwaśnym, drugi zaś, gdy w dalszym przebiegu choroby podłoże staje się alkalicznym. Za decydującą jednak przyczynę choroby Oven uważa *Fusarium erubescens* Appel und v. Oven nov. spec.

Sherbakoff (17) wspomina o zgniliznie owocu pomidora, spowodowanej przez *Phytophthora* (*Phytophthora* rot) a także plamistość czarną (black spot) znaną także, jako gnicie od strony szypułki owocowej (stem-end rot) powodowane przez *Phoma* sp.

¹⁾ Présenté à la séance de la Société botanique de Pologne, section de Varsovie, le 14. XII. 1929.

Prócz tego wymienia zgniliznę brunatną, wywołaną przez *Rhizoctonia solani*.

B. T. Dickson (6) stwierdza także stem-end rot, powodowane przez *Botrytis* sp., obserwuje nawet w miejscach największego rozwoju grzybni owocowanie konidialne.

Brown N. (2) otrzymuje przy sztucznych zakażeniach gnicie owocu, powodowane przez *Cladosporium* sp., *Septoria gladioli*, *Verticillium* sp., *Fusarium moniliformae* i *Alternaria* sp.

Pritchard i Porte (15) opisują zgniliznę pomidora, powodowaną przez *Oospora lactis*. Wspomnę o niej obszerniej ze względu na podobieństwo do gnicia wodnistego, wywoływanego przez bakterję, wyizolowaną przezemnie.

Autorzy zaznaczają, że obserwowane przez nich porażenie podobne jest do gnicia, powodowanego przez *Bacillus carotovorus*. Charakteryzuje się przez obfite zjawienie się wody w porażonych tkankach przy zachowaniu pierwotnej barwy owocu i przez wysięk wody z powierzchni.

Przy zgniliznie tej nie wytwarza się żaden szczególny zapach. Choroba rozwija się stopniowo i wolniej niż przy porażeniu przez *Bac. carotovorus*. Widać z powyższego, iż wśród grzybów spotykamy wiele gatunków, zdolnych do wywołania patologicznych stanów w tkance owocu.

b) Porażenie spowodowane przez bakterję, niepomysłne warunki wegetacji, oraz „ultramikroskopowe organizmy“. Przy gnicu, powodowanym przez bakterję, rozróżnia się mikroskopowo kilka typów, wspomnianych już poprzednio 1) plamistość (bacterial spot), 2) gnicie brunatne, 3) gnicie wierzchołkowe (blossom-end rot), 4) gnicie wodniste (watery rot).

Jako przyczynę gnicia wierzchołkowego podają jedni autorzy bakterję — inni — niepomysłne warunki wegetacji, jeszcze inni przypuszczają istnienie ultramikroskopowych organizmów sprawczych, co poniżej będzie omówione.

1) Plamistość owocu (bacterial spot of tomato) opisują Gardner i Kendrick (7), podając jako przyczynę *Bacterium extiosum* i zamieszczając obszerną fizjologję tego gatunku.

2) i 3) Gnicie brunatne i wierzchołkowe było opracowane przez N. Brown (2, 3). Izolowane bakterje opisuje jako organizmy z Texas i z Nebraska, zaznaczając jednak, że prócz nich mogą powodować gnicie nawet w tej samej okolicy, również inne organizmy.

Porażenie opisywane przez autorkę nazewnątr owocu ledwie

jest dostrzegalne, gdy tymczasem wewnątrz jego zamienia się w ciemną, twardą masę (hard central decay).

Wilgotność sprzyja rozwojowi choroby. Sztuczne zakażenia organizmami z Texas i z Nebraska dawały dodatnie wyniki. Prócz tego gnicie powodowały *Bacterium campestre*, *Bacterium marginale* Brown i *Bacterium viridilivoidum* Brown. Słabszą infekcję daje *Bacterium citri* Hasse, *Bacterium vitis*, *Bacterium malvacearum* E. F. S., *Bacterium savastanoi* E. F. S. Również *Bacterium coli commune* zakaża niekiedy owoc (b. mało wyników dodatnich przy próbach). Wtórna infekcja grzybowa lub bakteryjna może obok tego porażenia wywołać gnicie wodniste.

Groeneweg (8) opisuje gnicie brunatne, zaczynające się najczęściej w miejscu dawniejszego przytwierdzenia szyjki do załączni (früheren Ansatzstelle des Griffels) powodowane przez *Phytobacter lycopersicum*.

Burgwitz (4) przypisuje gnicie brunatne *Bacterium lycopersici* i podkreśla, podobnie, jak Groeneweg, charakterystyczne rozpoczęcie choroby od wierzchołka owocu, w okolicy słupka. Taką samą zgniliznę opisują amerykańscy badacze jako blossom-end rot, zgniliznę wierzchołkową. Wśród nich przeważa pogląd, że blossom-end rot wywołane jest przez niepomysłne warunki wegetacji.

Heald (9) zestawia poglądy różnych badaczy na tę sprawę (nie wszystko z wymienionej literatury było mi dostępne) i przytacza doświadczenia Stuckey i Temple, z których wynikało, że nie bakterie i nie grzyby są powodem choroby. Możliwy związek z jakimś wirusem czy enzymem, starali się autorzy zbadać przez podskórne zastrzyki sączonych przez porcelanę ekstraktów z chorych owoców, otrzymywali jednak zawsze wyniki negatywne. Dużo znaczenie dla rozwoju porażenia miał tu wpływ ilości wody, dostępnej roślinie, przerwy w intensywności wegetacji, oraz nawożenie.

Sherbakoff (17) wspomina o blossom-end rot, jako skutku działania czynników, utrudniających normalny wzrost. Pomiędzy przyczynami, podawanymi przez Healda podkreśla Sherbakoff znaczenie nagłego zahamowania dostępu wody n. p. wskutek suszy. Wzmiankę o tej chorobie spotkałam jeszcze w rocznych sprawozdaniach Stacji Doświadczałnej w Texas (13) gdzie blossom end rot przypisowane jest niedostatkowi wilgotności w glebie.

Reynolds (16) stwierdza, że jego doświadczenia, czynione celem odkrycia organizmu sprawczego były bezskuteczne. Wyizolował co prawda z chorej tkanki różne organizmy, lecz żaden z nich nie mógł wywołać gnicia wierzchołkowego (blossom-end rot). Opierając

się na niemożności zakażenia tkanki owocu żadną z wyizolowanych bakterij, autor przypuszcza, że choroba była powodowana przez jakiś ultramikroskopowy organizm. Możliwe, że zarazek dostaje się do tkanki wcześniej, n. p. już w czasie zapylania (*pollination time*) a rozwija się w tkance i wywołuje objawy patologiczne dopiero wtedy, gdy owoc już się ukształtował. Widocznie organizm musi się przystosować do swego otoczenia, zanim wywoła charakterystyczne objawy. Zmiany czynników klimatycznych bezwątpienia wywierają wpływ na miarę tego przystosowania. Warunki zewnętrzne nie są jednak wyłącznym czynnikiem powodującym objawy choroby. Przemawia za tem fakt, że pomimo znacznej ich zmiany w szklarni (*greenhouse*) epidemia nie ustała. Dowodziłoby to, że choroba ma charakter infekcyjny.

Reynolds wspomina także, że pod nazwą blossom-end rot opisywanych jest prawdopodobnie kilka chorób przez różnych autorów. Zważywszy na to, że podawane są tak różne przyczyny blossom-end rot, a każda poparta odnośniami eksperymentami, przychylić się należy do poglądu, że na skutek podobnych objawów podciągnięto pod wspólną nazwę „gnicia wierzchołkowego” różne choroby, powodowane przez różne czynniki.

4) Gnicie wodniste zbliżone do tego typu, jaki poniżej jest opisany, było opracowane przez Burgwitta, który podał szczegółową morfologję i fizjologję mikroorganizmu sprawczego. Bakterja gnicia wodnistego wyizolowana przez Burgwitta nie da się jednak podciągnąć pod opisywane przez innych gatunki.

Jones (10) omawia *Bacillus carotovorus*, jako przyczynę gnicia wodnistego. Tę samą bakterję wspomina Poole (14). Powodować ona miała poważne straty w kulturach pomidorów.

Wingard (18) opisuje gnicie wodniste, powodowane przez *Bacillus aroideae* Townsend. (Townsend w 1904 r. stwierdził, że ten organizm doprowadza do gnicia owoce pomidora i niektórych innych roślin). Objawy zakażenia są tu typowe dla gnicia wodnistego: owoc przekształca się w miękką, niekształtną, bezbarwną masę w czasie 3—10 dni. Całkowicie zgniły owoc często pęka, zawartość, posiadająca przykry zapach, wylewa się.

Appel (1) opisując *Bacillus phytophotorus* na kartoflu, wspomina o próbach infekcji pomidora i stwierdza, że po zakażeniu owoce gniją. Po kilku dniach zamieniają się w alkaliczną masę (*alkalischer Brei*).

Mc. Larty (11) wspomina o bakteryjnym gnicu wodnistem pomidora. Bakterja wyizolowana różni się od *Bac. carotovorus* i *Bac. aroideae*.

Sherbakoff (17) wspomina o zgniliznie miękkiej (soft rot), powodowanej przez te same bakterje, które powodują także gnicie u innych roślin.

Doświadczenia własne.

1. Obserwacje nad występowaniem zgnilizny wodnistej pomidora. Gnicie wodniste pomidora zauważyłam w dużej ilości na targach warszawskich jesienią roku 1928. W miejscu porażenia tkanka owocu była przeźroczysta, bez zmiany barwy, przez skórę przeświecała jak tłusta plama, przy dotknięciu wydawała się bardziej miękka, niż reszta owocu. Na skórze w większości wypadków widoczne było uszkodzenie. Rozsprzestrzanie zgnilizny nie zaczynało się od jakiegokolwiek specjalnej części owocu, co byłoby czynnikiem, przyczyniającym się do charakteryzowania choroby. Nie można jej zatem nadać nazwy gnicia wierzchołkowego, ani gnicia od końca szypułki owocowej (angielskie stem-end rot.). Prawdopodobnie zaczynało się od uszkodzenia w skórze, które odkrywało tkankę miękkiszową.

Porażenie obejmowało stopniowo cały owoc. Tkanka pomidora stawała się miękka, wodnista, przy dużym opanowaniu przez bakterje owoc tracił kształt — i przy pęknięciu skórki półprzeźroczysta, płynna masa o odczynie kwaśnym, wydobywała się nazewnątrz. W oczku cieczy, obserwowanej pod mikroskopem, — oprócz wielkiej liczby bakteryj i niekiedy drożdży — zauważyć było można luźne komórki pomidora. Barwienie uszkodzonej tkanki odczynnikiem na pektynę nie dało pozytywnych rezultatów, gdyż jednocześnie barwiła się celuloza błon.

Komórki, spotykane w soku, prawdopodobnie odrywały się z rozluźnionej przez działanie mikroorganizmów tkanki, co świadczyłoby o zdolności hydrolizowania pektyn przez bakterje.

Porażenie obserwowane zbliżone jest najbardziej do opisywanego przez Burgwita, oraz Wingarda, nie zachodzi tu jednak wydzielanie przykrego zapachu podczas gnicia, co notuje Wingard w wypadku, powodowanym przez *Bacillus aroideae*. W doświadczeniach, opisanych poniżej, chodziło o wyizolowanie zarazka, przybliżone określenie warunków, w jakich dostaje się do tkanki owocu, oraz opracowanie jego cech biologicznych.

2. Izolowanie. Bakterje izolowano z pomidorów niezupełnie jeszcze zniekształconych — zrywano skórę wyjąłowym skalpelem i małą ilość zniekształconej tkanki razem z cieczą przenoszono do agaru pomidorowego. Szalki wylewano zwykłym sposobem. Kolonie

położone na powierzchni agaru miały kształt okrągły, regularny, z grubo nałożonym środkiem, cieńsze ku brzegom. Te, które znajdowały się głębiej, miały kształt soczewkowaty — a gdy dorosły do powierzchni agaru, rozlewały się szerzej. Barwa kolonii biała z odzieniem żółtawym, powierzchnia gładka, połyskliwa.

Preparaty. Jednocześnie z wylewaniem na szalki barwiono preparaty z tkanki chorego pomidora. Obok resztek tkanki można było obserwować krótkie pałeczki pojedyncze, podwójne, rzadziej w łańcuskach. U pomidorów w silnym stanie rozkładu, można było obserwować krótkie pałeczki pojedyncze, podwójne, rzadziej w łańcuskach, a obok nich występowały częściej, choć bynajmniej nie zawsze, dość liczne drożdże.

3. Szczepienia sztuczne. Pomidor zupełnie zdrowy, obmyty wodą bromową rozcieńczoną, lub trzymany w 0.5 % formalinie przez 2—3 min., pod kloszem sterylizowanym zakażono bakterjami, wyodrebnionymi z porażonych owoców (czysta hodowla 4—5-dniowa) po nakłuciu skalpelem. Równocześnie robiono nakłucia kontrolne, bez wprowadzenia bakterji do tkanki. Na 30 szczepień — 23 dały wyniki dodatnie. W miejscach, gdzie nie przyjęło się szczepienie, kontrola nie wykazywała bakterji. Prawdopodobnie była to wina techniki przenoszenia mikroorganizmów do tkanki owocu, gdyż na tym samym owocu szczepienia w sąsiedztwie dawały wyniki pozytywne. Tkanka, nakłuta w ten sam sposób, lecz nie zakażona sztucznie, nie wykazywała nigdy objawów gnicia. Wprowadzanie drożdży, wyizolowanych z silnie porażonych owoców, jak o tem wyżej wspomniano, do tkanki owocu nie powodowało objawów gnicia wodnistego — widocznie rozwijają się one w tkance wtórnie, po zakażeniu bakterjami. Bakterje z tkanki porażonej sztucznie, obserwowane mikroskopowe, nie wykazują żadnych różnic w porównaniu z materiałem, użytym do sztucznej infekcji. Przeszczepiając je ze sztucznie zakażonego pomidora na agar pomidorowy, otrzymuje się takie same, jak poprzednio — hodowle; bakterje te nie ulegają zatem w owocu żadnym zmianom. Dla sprawdzenia, czy mikroorganizmy nie przedostają się do owocu przez skórę nieuszkodzoną, rozsmarowywano kolonję na nieuszkodzonej powierzchni zdrowego pomidora; cztery próby przeprowadzone dały wyniki ujemne. Bakterja przedostaje się zatem najprawdopodobniej przez drobne uszkodzenie w skórce owocu, o które bardzo łatwo w okresie dojrzewania na samej roślinie, łatwiej jeszcze przy zrywaniu, transporcie i dostawie na rynki zbytu.

W 1929 r. w tkance owoców z podobnymi objawami zgnilizny

znajdywałam wielokrotnie mikroorganizmy identyczne morfologicznie, prawdopodobnie więc te same, które wyizolowałam w roku 1928.

4. Szczegółowy opis zarazka. Morfologicznie przedstawia bakteria krótkie pałeczki o końcach owalnych, z tendencją do tworzenia form podwójnych i łańcuszkowych. Na pożywkach płynnych przeważają dwójki (*diplobacilli*). Na agarze pomidorowym i sterylizowanej tkance pomidora tworzą łańcuszki, nieraz o dużej długości.

Na marchwi tworzą się pałeczki podwójne.

Wymiary. Mierzono bakterje żywe, w kropli wody. Materiał brałam z kultury jednotygodniowej. Długość zarazka waha się w granicach 0.75μ — 1.35μ . Szerokość — 0.75μ .

Ruch w własnych bakterja nie posiada. Spor na pożywkach płynnych, ani na wysuszonych stałych (sprawdzano na marchwi) nie tworzy. Barwi się dobrze gencjaną, fuksyną i błękitem metylenowym. Barwienie metodą Grama dało wyniki pozytywne.

Pożywki. Najczęściej stosowano agar pomidorowy na soku pomidorowym (sączony z roztartych pomidorów, bez rozcieńczenia) z dodatkiem $1\frac{1}{2}\%$ agaru. Prowadzono początkowo trzy partje agaru pomidorowego: neutrealny (zobojętniony $\frac{1}{10}$ NaOH), o kwasowości naturalnej i pośredni między nimi. Znaczniejszych różnic we wzroście bakteryj na tych trzech różnych co do kwasowości podłożach nie obserwowano. Prowadzono również hodowle na żelatynie neutralnej z 1% peptonu, 2% glukozy). Bakterje rosną wgłąb pożywki wzdłuż nakłucia w postaci wąskiego, postrzępionego pasemka. Na powierzchni żelatyny rozrastają się nieznacznie. Żelatyny nie rozrzedzają. Na agarze (z 1% peptonu, 2% glukozy) rosną lepiej. Na skośnej powierzchni agaru kolonia rozrasta się płasko wzdłuż linii szczepienia, rozszerzając się powoli i niewiele. Bliżej dolnego końca próbówki, gdzie jest grubsza warstwa pożywki i więcej wilgoci, kolonia rośnie obficie. Powierzchnia kolonii jest gładka, połyskliwa, brzegi równe.

Sok pomidorowy jako pożywka. Do dalszych doświadczeń należało znaleźć pożywkę płynną, która dawałaby obfitszy wzrost bakteryj. W tym celu sok pomidorowy sączono i część mieszano z taką ilością wody, resztę zostawiono w naturalnym stężeniu. Pasteuryzowano przez 4 dni po 30 min. w temperaturze od 50° C do 60° C. Wzrost kolonii na soku nierozcieńczonym i rozcieńczonym był jednakowy. Kwasowość soku wynosiła dla rozcieńczonego i stężonego od $P_H \cdot 4.6$ do 5.0 . Przy wzroście bakteryj na soku obserwować się daje silne zmętnienie pożywki u powierzchni (w górnej części słupka cieczy w próbówce), które posuwa się stopniowo ku dołowi, zostawiając na powierzchni klarowny płyn. Prawdopodobniej

zachodzi tu pod wpływem bakteryj wytrącanie z pożywki białka, które dotychczas było w postaci rozpuszczalnej.

Działanie temperatury na sok pomidorowy, jako pożywkę. Prócz pasteuryzowanego użyto do doświadczeń sok sterylizowany a) przy 100°C , b) przy 128°C (w autoklawie). W obu wypadkach część białek w klarownym uprzednio soku strąciła się. Po sterylizacji w 100°C białko pozostawało w formie zawiesiny gęstej na dnie; w autoklawie strąciło się w postaci grubych kłaczków. W obu partiach po zaszczepieniu można obserwować zmętnienie pożywki, słabsze jednak na soku pasteuryzowanym.

Próby hodowli na innych pożywkach. Mleka nie zmieniają. Na kartoflu wzrost b. słaby. Na brzeczce piwnej — dobry. Na marchwi już po kilku godzinach przy $23^{\circ}-25^{\circ}\text{C}$ wzrost widoczny, b. obfity, kolonie przezroczyste, śluzowate, grubo nałożone. Przeszczepione z marchwi na zwykły agar neutralny, lub agar pomidorowy śluzu nie tworzą. Na marchwi nie tworzą łańcuszków, tylko pałki podwójne, przeszczepione na agar zwykły znów tworzą łańcuszki. Marchew stanowi pożywkę najlepszą z pośród wszystkich próbowanych. Na buraku wzrost dobry.

Tworzenie śluzu. Do agaru z 1% peptonu dodano 8% cukru trzcinowego; wówczas nastąpiło obfite tworzenie śluzu przez bakterje, podobnie jak na marchwi, czego nie było przy mniejszej zawartości cukru. Śluz ten nie jest jednak ciągliwy; w niższych temperaturach trzymają się kolonie w postaci sztywnych, grubo nałożonych mas, w wyższej temperaturze rozlewają się po powierzchni. Na płynnych pożywkach wzrost, występujący w postaci mętnienia, bywa słaby. Używano różnych koncentracji cukru dla sprawdzenia, czy przy wyższych koncentracjach można będzie obserwować silniejsze zmętnienie płynu. W pożywkach z cukrem gronowym o stężeniu $\frac{1}{3}$ mol., $\frac{1}{6}$ mol., $\frac{1}{9}$ mol., $\frac{1}{18}$ mol., $\frac{1}{36}$ mol., (1% pept. + woda z kranu) różnice w zmętnieniu były tylko nieznaczne. Po 10 dniach wzrostu badano zakwaszenie, wyniki podane w tabeli I.

Tabela I.

Koncentracja molowa cukru gronowego	PH
$\frac{1}{48}$	4·9—5·2
$\frac{1}{36}$	4·6
$\frac{1}{18}$	4·6
$\frac{1}{9}$	4·6—4·9
$\frac{1}{6}$	4·6—4·9
$\frac{1}{3}$	4·6

Wynika z tego, że pożywki o różnej koncentracji cukru są zakwaszane przez bakterje do jednakowego stopnia P_H .

5. Produkty przemiany materji. Wytwarzanie gazu. W kolbie fermentacyjnej z pożywką, zawierającą 1% peptonu i 2% glukozy, w temperaturze 24° C do 25° C, występuje zmętnienie już po upływie 24 godz. po zaszczepieniu, gazu jednak bakteria nie wytwarza.

Siarkowódór. Bibuła nasycona octanem ołowiu, umieszczona w próbówce z hodowlą bakterji nie daje reakcji dodatniej. Przeprowadzanie powietrza wolnego od HS przez ogrzewaną i zakwaszoną pięciodniową płynną hodowlę bakterji do płuczki z octanem ołowiu również nie daje wyników pozytywnych. Bakteria nie wytwarza zatem siarkowodoru.

Indol. Bakterje nie rosną na peptonie bez dodatku cukru, nie można zatem stosować metody Salkowskiego dla wykrycia indolu. Inne metody nie dały wyników pozytywnych.

Kwas. Do pożywki wodnej z peptonem i glukozą dodano kilka kropli 1% roztworu wodnego czerwieni obojętnej. Po zaszczepieniu już na drugi dzień pomarańczowy odcień płynu przeszedł w barwę czerwoną wskutek tworzenia kwasu przez rozwijające się bakterje.

6. Stosunek badanej bakterji do źródeł C. Hodowano bakterję zgnilizny na glicerynie, mannicie, dekstrozie, lewulozie, galaktozie, maltozie, cukrze trzcinowym, laktozie, dekstrynie, skrobi, celulozie. Jako źródła N użyto we wszystkich przypadkach 1% peptonu. Węglowodany powyższe i alkohole wielowartościowe podano w roztworze 1%; prócz wyżej wymienionych przeprowadzono hodowle na $\frac{1}{34}$ molarnym alkoholu etylowym i metylowym tak, aby ich stężenie odpowiadało mniejwięcej stężeniu cukru trzcinowego. Doświadczenie przeprowadzono w trzykrotnym powtórzeniu.

Wyniki zestawione są w poniższej tabeli II.

Na celulozie, nawet po długim czasie, nie wyrasta.

Dobrem źródłem węgla są zatem: glukoza, lewuloza, galaktoza, cukier trzcinowy, maltoza, dekstryna; nie rośnie na laktozie, skrobi i celulozie, również nie rośnie na alkoholach. Wynik na mannicie wątpliwy.

Po 16 dniach stopień zakwaszenia początkowo neutralnych pożywek był następujący:

z lewulozą $P_H > 4.6$

z dekstrozą $P_H = 4.6$

z cukrem trzcinowym $P_H = 4.3$

z dekstryną $P_H 5.2-5.6$

Tabela II.

Data	19/II	20/II	21/II	22/II	23/II	25/II	26/II	27/II	28/II	Ogółem
Alk. metylowy	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
„ etylowy	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Gliceryna	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Mannit	O	O	×	×	×	×	×	×	×	×
Dekstroza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lewuloza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktoza	O	?	×	+	+	+	+	+	+	+
Maltoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cukier trzcinowy	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoza	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Dekstryna	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Skrobia	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Celuloza	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Znaki: O zmętnienia brak, + zmętnienie wyraźne, × zmętnienie b. słabe.

z galaktozą $P_H = 4.9$ z maltozą $P_H = 4.6$ z mannitem $P_H = 7.17$ z alk. etylowym $P_H = 7.17$ z alk. metylowym $P_H = 7.17$

Tam więc, gdzie odbył się widoczny rozwój bakterij, nastąpiło zakwaszenie pożywki. Pozostałe pożywki nie wykazały zmian koncentracji wodorodonów.

7. Temperatura. Najdogodniejszą pożywką dla obserwacji jest tu marchew, gdyż występuje na niej najobfitszy wzrost bakterij.

Badano szybkość wzrostu przy następujących temperaturach:

1) -1° do 2° C	6) 24° C
2) 5° C	7) 26° C
3) 17.5° C	8) 35° C
4) 20° C	9) 37° C
5) 22° C	10) 40° C

Najlepszy rozwój w 22° , 24° i 26° C, przy tych trzech temperaturach bez wyraźnej różnicy; gorszy przy 20° C; przy 5° C rozwój zupełnie słaby. Przy -1° C wzrostu niema, przy 40° C wzrostu niema.

Optimum temperatury 22° — 26° C. Granice wzrostu od 5° do 37° C.

7. Stosunek do źródeł N. Do pożywki bezazotowej składającej się

z 1500 cm^3 H_2O ($\frac{1}{2}$ font. + $\frac{1}{2}$ dest.)

0.75 gr K_2HPO_4

0.3 gr NaCl

0.3 gr MgSO_4 oraz 15 gr glukozy, dodano

po rozdzieleniu jej do kolbek 0.1% związków azotowych w postaci

1. Na NO_2

5. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

2. Na NO_3

6. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

3. NH_4NO_3

7. peptonu

4. NH_4Cl

8. asparaginy

Prócz tego użyto kilka próbek z białkiem kurczym, oraz 0.1% wodą peptonową i 0.1% asparaginą, bez cukru.

Bakterje rosną tylko na peptonie z cukrem i na białku jaja kurzego (tutaj — coprawda słabo). Na asparaginie z cukrem, wodzie peptonowej, asparaginie bez cukru, solach amonowych, azotynie i azotanie sodu — wzrostu niema. Ponieważ bakterja ta na samym peptonie wzrostu nigdy nie wykazywała, przygotowano wodę peptonową o różnym stopniu kwasowości celem stwierdzenia, czy nieodpowiednie stężenie wodorodonów nie jest tego przyczyną. Roztwór 1% peptonu w wodzie wodociągowej posiadał $\text{P}_\text{H} = 6.81$. Do 5 cm^3 peptonowej wody dodałam 2 krople 0.1 n H_2SO_4 , przyczem P_H spadło do 6.47. Po dodaniu 4 kropli kwasu $\text{P}_\text{H} = 5.59$.

Przygotowano kilka seryj próbek (po 3 w każdej) o różnym zakwaszeniu.

1) do 5 cm^3 — 1 kropla $\frac{n}{10}$ H_2SO_4

2) " " " — 2 krople " "

3) " " " — 3 " " "

4) " " " — 4 " " "

5) " " " — 5 " " "

6) " " " — 6 " " "

Prócz tego 3 próbki bez zakwaszenia, oraz kilka seryj o różne zasadowości.

1) do 5 cm^3 — 1 kropla $\frac{n}{10}$ NaOH

2) " " " — 2 krople " "

3) " " " — 3 " " "

4) " " " — 4 " " "

5) " " " — 5 " " "

W żadnym wypadku bakterje się nie rozwinęły. Woda peptonowa jako pożywka nie nadaje się, bez względu na to, czy posiada odczyn neutralny, kwaśny, czy alkaliczny. Prawdopodobnie więc

Tabela III.

	Bakteria gnicia wodn. Burgwitz	Bac. aroidae Town.	Bac. carotovorus Jones	Phytobacter lycopersicum Groeneweg	Bact. lycopersicum Burgwitz	Bact. solanaecearum Erw. Smith	Bact. exitiosum Gardner-Kendrick	Bac. vesicatorius Doidge	Aplanobacter michiganense Smith	Bacterium lycopersici vitati n. sp.
Wielkość w μ	0.75 $\times$ 1.5-2.25	0.5 $\times$ 2-3	0.7-0.8 $\times$ 1.5-5.0	0.5-0.7 $\times$ 1.5-2.5	0.5-0.75 $\times$ 0.75-1.5	0.5 $\times$ 1.5	0.6-0.7 $\times$ 1.3-2.7	0.6-0.7 $\times$ 1.0-1.5		0.75 $\times$ 0.75-1.3
Ruchliwość	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Spory	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rozrzedzanie żelatyny (10-14 d)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Barwienie w. Grama	-		+	O	+	-	-	+	+	+
Wydzielanie: NH_3	+		+		+	-				-
Wydzielanie: H_2S	śl.		+	+	+	-				-
Wydzielanie: Indol	-	-	+	+	+	-				-
Pigment	żółty	-		żółty	-	żółto szary	żółtawy	żółtawy	żółtawy	-
Gaz	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-

głównem źródłem energii mikroorganizmów jest przemiana cukrów na kwasy, o czym świadczy zakwaszenie pożywek, zawierających cukry, oraz brak wzrostu na pożywkach azotowych bez cukrów. Dlatego bakterji opisywanej nie można nazwać gnilną w ścisłym znaczeniu. Za poglądem tym przemawia także brak wytwarzania takich ilości produktów rozkładu białka, które dawałyby się wykryć metodami, starannie stosowanymi tutaj. Bakterje gnicia wodnistego, opisywane przez wyżej wymienionych autorów, nie dają się zidentyfikować z opisaną powyżej. Typ zgnilizny wodnistej, opisywany przez Burgwita, Townsenda lub Jonesa zbliżony jest zewnętrznie do opisywanego powyżej, mikroorganizm sprawczy jednak różni się wymiarami, brakiem ruchliwości, a przede wszystkim produktami przemiany materji. Opisywana przez Burgwita bakterja wydziela NH_3 , *Bact. aroideae* Town. daje przy gniciu przykry zapach oraz wydziela gaz, *Bacillus carotovorus* tworzy jako produkt przemiany materji indol, oraz wydziela gaz. Trzy wymienione typy rozrzedzają żelatynę. Powyższych cech brak bakterji tu opisywanej, trzeba ją zatem uważać za typ odmienny. Należy przeto wyżej opisaną bakterję nazwać: *Bacterium lycopersici vitati* n. sp. K. Bassalik et H. Strzałkowska.

Diagnosis: Bacilli lati, ad fines rotundati, solitarii vel bini; in substratu fluido saepe, in agar et fructu lycopersici semper catenulas formantes, in dauco semper bini.

Cellulae immobiles, endosporas non formantes, $0.75 \times 0.75 - 1.35 \mu$ magnae. Tinctio Gram negativa.

In 8% saccharo cum 1% peptono et in dauco abunde mucum formant, lactem non commutant, in bulbo solani tenue, in dauco optime crescant; saccharos: dextrosam, laevulosam, galactosam, saccharosam, maltosam dextrinumque acidificant ab pH 7.17 usque ad pH 4.3.

In peptono sine addito saccharo non crescant; non gasum, H_2S , NH_3 , indolum formant. Temp. opt. 22—26° C, min. 5°, max. 37° C.

Na zakończenie przytacza się skrót tablicy (III.) zamieszczonej w pracy Burgwita, a zawierającej zestawienie cech gatunków, mogących wywołać gnienie pomidora, dołączając do tego bakterję, będącą przedmiotem niniejszej pracy.

Streszczenie wyników.

1) Zgnilizna wodnista pomidora obserwowana była jesienią 1928 i 1929 r. na owocach, przeznaczonych na sprzedaż.

2) Nazwa zgnilizny wodnistej pochodzi od wyglądu owocu, którego tkanka, nie tracąc barwy, staje się miękką — i przy pęknięciu skórki wylewa się nazewnątrż w postaci płynnej masy.

3) Zarazek wyizolowany jest krótką pałeczką, spotyka się pojedynczo, podwójnie, lub w łańcuskach.

4) Bakterja rośnie dobrze na agarze pomidorowym, na agarze i żelatynie z glukozą i peptonem. Żelatyny nie rozrzedza. Na pożywkach z wysoką koncentracją cukru rośnie obficie — wytwarzając przytem śluz. Na marchwi jest wzrost b. obfity, na buraku dobry, na brzeczce piwnej — dobry. Na kartoflu — b. słaby. Mleka nie zmienia.

5) Na pożywkach węglowodanowych wytwarza bakterja kwas. Gazów nie wytwarza. Produktów rozkładu białka: siarkowodoru i indolu — nie stwierdzono.

6) Dobrem źródłem węgla są: glukoza, lewuloza, galaktoza, cukier trzcinowy, maltoza, dekstryna.

7) Źródłem azotu może być: białko i pepton w obecności cukru. Na peptonie bez cukru wzrostu nie ma.

8) Optimum temperatury 20° — 26° C.

9) Szczepienia sztuczne dały 23 wyniki pozytywne na 30 prób. Tkanka nakłuta a nie zakażona nie wykazywała nigdy objawów gnicia.

Wymiary zarazka $1.12 \mu \times 0.75 \mu$.

10) Mikroorganizm nie da się zidentyfikować z opisywanymi przez innych autorów — należy uważać go za gatunek odrębny i został nazwany: *Bacterium lycopersici vitiatii* n. sp.

Wyrażam serdeczne podziękowanie Panu Prof. Kazimierzowi Bassalikowi za światłe wskazówki i kierownictwo przy wykonywaniu niniejszej pracy, a także p. dr. Zofji Krasieńskiej, asystentce Zakładu, za wielokrotnie okazaną mi życzliwą pomoc.

Zakład Fizjologii roślin Uniw. Warszawskiego.

Spis uwzględnionej literatury.

1. Appel, O. Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bakterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel. Arb. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. III. 395—407.

2. Brown, N. A. Stem-end and center rot of tomato caused by various unrelated organisms. Journal Agr. Res. XXXIII 1009. 1926.

3. — A new bacterial disease of tomato fruits. Science, 1925.

4. Burgwitz, G. K. Bakterjalnaja gnil plodow tomata wyzywajemaja Bact. lycopersici n. sp.
5. — Wodnistaja gnil plodow tomata. Bolezni rastenii. Nr. 3, 1926.
6. Dickson, B. T. Stem-end rot of greenhouse tomatoes. Phytopathology X 489—500, 1920.
7. Gardner, M. and Kendrick, J. Bacterial spot of tomato. Journal Agr. Res. XXI Nr. 2.
8. Groenewege, J. Die Fäule der Tomatenfrüchte, verursacht durch *Phyto-bacter lycopersicum* n. sp. Centrallblatt f. Bacteriologie II Abt. XXXVII, 1913.
9. Heald Deforest, Fr. Manual of plant diseases, 1926. The blossom-end rot of tomatoes.
10. Jones, L. R. *Bacillus carotovorus* n. sp., die Ursache einer weichen Fäulnis der Möhre. Centralblatt f. Bacteriologie II Abt. VII 12—21, 61—68, 1901.
11. Mc-Larty. Report of the Dominion Field Laboratory of plant pathology. Summerland B. C. Canada Dept. of Agriculture.
12. Oven, E. von. Über eine Fusariumerkrankung der Tomaten. Landw. Jahrb. 489—520, 1905.
13. Plant Pathology and Physiology. 38th Ann. Rept. Texas Agric. Exper. Stat., 1929.
14. Poole. Tomato disease studies. 45th Ann. Rept. New Jersey Agric. Exper. Stat. for the year ending June, 1924, 1925.
15. Pritchard, F. J. and Porte W. S. Watery rot of tomato fruits. Journal Agr. Res. XXIV 895—905, 1923.
16. Reynolds, E. S. Two tomato diseases. Blossom-end rot. Phytopathology VIII 538—542, 1918.
17. Sherbakoff, C. D. Tomato diseases. Florida Agr. Exp. Stat. Bull. 146. 119—132, 1918.
18. Strzałkowska, H. La pourriture aqueuse des fruits de *Solanum lycopersicum* L. Comptes rend. Soc. sciences et lettres de Varsovie, XXII, 1929, classe IV, p. 96.
19. Wingard, S. A. Bacterial soft-rot of tomato. Phytopathology XIV, 1924.

Résumé.

La pourriture aqueuse des tomates est une infection du fruit, à la suite de laquelle les tissus, perdant leur turgescence, deviennent mous et aqueux. Une déchirure de l'épiderme du fruit provoque un écoulement de suc qui donne une odeur à fait différente de l'odeur du suc des fruits non infectés. La pourriture aqueuse des tomates a été étudiée par Burgwitz, Wingard, Pritchard, et Porte et fut souvent mentionnée dans les recherches sur les maladies d'autres fruits.

Le microorganisme qui provoque la maladie est d'après Burgwitz une bactérie, qu'il nomme „bactérie de la pourriture aqueuse“ d'après Wingard — le *Bac. aroideae* Town., d'après Pritchard et Porte — la *Oospora lactis*.

En 1928 et 1929 les tomates vendues sur les marchés de Varsovie étaient souvent infectées par la pourriture aqueuse. On a isolé et étudié le microbe qui provoqua cette maladie.

Résumé des résultats obtenus:

1. Le microbe isolé des tissus malades, est un bacille de dimension $0.75 \times 1.12 \mu$, immobile, non sporulé, généralement un diplobacille, parfois isolé, parfois formant de courtes chaînettes. Sur le milieu de gélose fait au jus de tomate, on trouve surtout des chaînettes, sur la carotte et en milieux de culture liquides — des diplobacilles.

2. Sur 30 infections expérimentales des fruits de tomates, 23 ont donné des résultats positifs, et 7 des résultats négatifs, les bacilles ne s'étant pas développés. Les infections expérimentales ont causé une pourriture aqueuse tout à fait typique.

3. Le bacille se développe le mieux sur la gélose au jus de tomates et sur la carotte en formant d'épaisses cultures muqueuses. Dans les cultures liquides au jus de tomates et en extrait de malt le développement est beaucoup plus faible; le bacille pousse très mal sur la pomme de terre. En général le développement est beaucoup plus faible en milieux de culture liquides que sur les milieux de culture solides. Le bacille ne liquéfie pas la gélatine, ne change pas le lait et n'est pas capable d'utiliser l'amidon; il acidifie tous les milieux de culture jusqu'à $\text{Ph} = 4,6$ moyenne.

4. Le bacille est très exigeant; quant aux aliments azotés, il n'utilise que les protéines et le peptone et ce dernier en présence de sucre seulement. Le peptone sans sucre est un aliment insuffisant indépendamment de sa concentration et de la réaction du milieu de culture.

5. Température optimale: $22-26^{\circ} \text{C}$.

6. Ce bacille n'est identique avec aucun des microorganismes décrits par les auteurs cités plus haut et, par conséquent, il est nommé *Bacterium lycopersici vitati* n. sp. (K. Bassalik et H. Strzałkowska).

Institut de physiologie végétale de l'université de Varsovie.