Doświadczenia

nad zjadliwością różnych szczepów *Pseudomonas tumefaciens* i *Phytomonas rhizogenes* dla pelargonij oraz nad wpływem niektórych enzymów trawiających na nowotwory otrzymane doświadczalnie

Experiments on the virulence of some strains of Pseudomonas tumefaciens and Phytomonas rhizogenes, and on the influence of some digestive ferments on the experimental crown-gall

Napisał

Jan Paluch

(Wpłynęło do redakcji 9 czerwca 1938. — Received for publication June 9, 1938)

(Z tablicą III — With Plate III)

Na niektórych roślinach ozdobnych jak chryzantemy, dalie, pelargonie, róże, begonie, kaktusy i inne, jak i na jabłoniach, gruszech, pomidorach, tytoniu czy burakach, możemy często zauważyć narośla powstałe na korzeniach, szyjce korzeniowej lub wreszcie gałązkach i pędach. Narośla te, różnego kształtu — okrągłe, gładkie, bezkształtne, kalafiorowate — najpierw małe, jednak w miarę postępu choroby powiększające się, przechodzące z mięsistych w zdrewniałe i dochodzące do wagi kilkudziesięciu kilogramów powodują nie tylko zatrzymanie wzrostu roślin zaatakowanych, lecz często nawet ich obumarcie (3, 4).

Nie jest rzeczą pewną, kiedy i gdzie choroba ta po raz pierwszy wystąpiła. Według niektórych badaczy została przywleczona z Ameryki, gdzie można ją spotkać we wszystkich Stanach na drzewach owocowych jak też i na innych roślinach (8). W Europie, jak podaje K. Schilbersky (3), zauważono pierwsze jej wystąpienie w r. 1853 na winorosli. Według Smitha¹ występuje ona na około 40 ga-

¹ Cytowane za K. Schilberskym (3).

tunkach roślin spośród 18 rodzin. Najsilniej zaś atakuje rośliny uprawne, a z nich należące do rodzin *Solanaceae*, *Rosaceae* i *Compositae* (10). Choroba ta jest spowodowana przez bakterię odkrytą w r. 1904 przez Smitha i Townsenda, a nazwaną *Pseudomonas tumefaciens* Sm. et Town. Com. S. A. B.

Jest to bakteria znajdująca się w ziemi i stąd atakująca rośliny przez jakiekolwiek zranienie. Dostawszy się do tkanek rośliny powoduje szybki bardzo przerost komórek, czego skutkiem jest powstawanie owych tumorów. „Swą budową anatomiczną narośla odpowiadają tej części rośliny, na której taka narośl powstała. Jeśli więc badamy pod mikroskopem narośl korzeniową, to ma ona budowę korzenia, podczas gdy narośl z łodygi niczym się od łodygi nie różni. Wielka ilość niezróżnicowanej młodej tkanki o komórkach cienkościennych dowodzi, że komórki pod wpływem bakteryj mnożą się tak szybko, że nie mają czasu się zróżnicować“ (10).

Jak podaje Sorauer (8), *Pseudomonas tumefaciens* jest laseczką gram-ujemną, występującą pojedynczo, w skupieniach, a także w krótkich łańcuszkach o wielkości $1-3 \times 0.4-0.8 \mu$, niezarodnikującą, tlenową.

Wyosobnieniem *Pseudomonas tumefaciens*, jak i innej podobnej *Phytomonas rhizogenes* R. B. W. K. i S., powodującej powstawanie na korzeniach drzew „czarcich mioteł“ („Hairy-root“) zajmował się szereg badaczy, a szczególnie A. J. Riker i jego współpracownicy (12, 13). Doniosłym wynikiem było wyosobnienie przez Rikera (13) 31 oryginalnych kultur *Pseudomonas tumefaciens* i *Phytomonas rhizogenes*.

Pseudomonas tumefaciens hodowana na agarze tworzy kolonie okrągłe o gładkiej powierzchni a ziarnistej strukturze, błyszczące, białawe i nieprzeźroczyste. Chambers¹ podaje, że bakteria ta nie rozpuszcza żelatyny; azotanów nie redukuje. Temperatura optymalna dla rozwoju tej bakterii wynosi 21—30° C. Optimum koncentracji jonów wodorowych waha się między pH 6.2—8.0.

Według badań Rikera (8) tumory powstałe na nadziemnych częściach roślin wykazują optimum wzrostu przy temperaturze 14—28° C. Analiza chemiczna tumorów takich wykazała obecność w nich kwasów octowego, mrówkowego, amoniaku i alkoholu. Tym też produktom przypisuje Smith² szczególne znaczenie przy powstawaniu tumorów.

Ponieważ choroba ta zaczęła bardzo silnie występować i to

¹ i ² Cytowane za Sorauerem (8).

nie tylko w Ameryce, ale i w Afryce oraz różnych klimatycznych rejonach Europy (3), dlatego też szereg fitopatologów zajął się dokładnym zbadaniem biologii i morfologii tej bakterii, chcąc znaleźć jakieś środki zaradcze dla jej zwalczenia. Na czoło wysuwają się tutaj klasyczne badania A. J. Rikera i jego współpracowników, dalej badania K. Schilbersky'ego, C. Stappa i innych.

K. Schilbersky (3) w swej pracy opisuje przeprowadzenie szeregu doświadczeń z zakażaniem roślin *Pseudomonas tumefaciens* otrzymanym z tumorów na petunii (*Petunia hybrida*). Tumorem takim, po uprzednim jego wymacerowaniu, zakażał on pierwiosnki (*Primula veris*), popielnice (*Cineraria maritima*) oraz pelargonie (*Pelargonium zonale*). Na roślinach wycinał część tkanki długości około 1 cm, a szerokości do 2 mm i po obmyciu 1.5% formaliną nakładał do rany wymacerowane tumory. Po zawinięciu miejsc zakażonych celofanem trzymał rośliny w szklarni w temperaturze 20—22° C. Po 14 tygodniach zauważył na pelargonii objawy tumorów w postaci małych guzów wielkości główki od szpilki, jednak szybko wzrastających. Tumory te po 76 tygodniach (od czasu infekcji) doszły do wielkości sporego grochu i przestały dalej wzrastać. Przez porównanie otrzymanych tumorów na pelargonii i petuniach stwierdził, że „1) tumory obu roślin przedstawiały tak pod względem wielkości jak i zewnętrznych właściwości znaczną różnicę; 2) zauważono, że wszystkie tumory na pelargonii tworzyły między sobą jeden typ“.

Bardzo ciekawe badania nad *Pseudomonas tumefaciens* przeprowadził C. Stapp (4). W pracy swej używał C. Stapp do zakażeń tak jak K. Schilbersky pelargonii oraz dalii. Wykazał on, że szczep wyizolowany z dalii był patogeniczny, i po krótkim okresie inkubacji powodował więdnienie i obumieranie pelargonii i pomidorów. K. Schilbersky podkreśla, że to obumieranie nie było spowodowane złą opieką nad roślinami ale jedynie toksycznym działaniem niektórych szczepów *Pseudomonas tumefaciens*. Jednak pisze K. Schilbersky „...objawy więdnienia wtedy dopiero występowały, gdy tumor przez swoją wielkość i swoje położenie nie dopuszczał do zaopatrzenia wodą części roślin leżących ponad miejscem szczepienia...“. Zaznacza też, że nie wszystkie szczepy *Pseudomonas tumefaciens* są w równym stopniu zjadliwe. Niektóre z nich bowiem są słabo wirulentne, albo też zgoła nie wywołujące żadnego toksycznego działania.

Ciekawym przyczyńkiem do poznania działania *Pseudomonas tumefaciens* były badania Lieskego. Stwierdził on, że *Pseudomonas*

tumefaciens jest jedyną bakterią powodującą schorzenia tak u roślin, jak i u zwierząt.

W r. 1924 w Berlinie, w Instytucie do badania raka (8) wyosobniono bakterię morfologicznie bardzo podobną do *Pseudomonas tumefaciens*. Rośliny szczepione tą bakterią dostawały tumorów zupełnie podobnych do tumorów wywołanych przez *Pseudomonas tumefaciens*. Zwierzęta również, którym zadawano czyste kultury *Pseudomonas tumefaciens* wyosobnione z roślin, zapadały na typowego raka.

Badacz amerykański P. A. Ark (6) zajął się kwestią, jaki wpływ mają niektóre enzymy i aminokwasy na tumory roślinne. Pracując nad tumorami na pelargonii zaczął do takich tumorów wstrzykiwać diastazę, papainę, pepsynę, leucynę, isoleucynę, chlorowodorek cysteiny, tyrozynę i tryptofan. Wodne roztwory (0.1 %) zastrzykiwał strzykawką. Zadawał też do wycięć w tumorach kryształki tych ciał, a potem zwilżał nowotwory wodą, by ułatwić rozpuszczenie i dyfuzję. Pokazało się, że we wszystkich wypadkach, z wyjątkiem tyrozyny i tryptofanu, tumory zmniejszały się, usychały (mumifikowały się) i łatwo odpadały od rośliny. Przy zastosowaniu pepsyny i papainy działanie tych enzymów było bardzo szybkie.

Doświadczenia własne

Podjęte szczepienia pelargonii (*Pelargonium zonale*), odmiany Meteor, kulturami *Pseudomonas tumefaciens* miały na celu wykazanie w pierwszym rzędzie toksycznego działania tych bakterii na rośliny, a następnie wykazanie wpływu pepsyny i papainy na samą tkankę nowotworów.

Szczepy *Pseudomonas tumefaciens* otrzymano z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej U. J. Szczepy oznaczone jako segmentowane gram — i śluzowe 6—7 zostały wyosobnione przez Kolowcę w Krakowie. C-10, C-10' i C-11 pochodzą z Zakładu Patologii Roślin Uniwersytetu w Madison, Wis., U. S. A., a szczep „Bela” z Instytutu Listera w Londynie.

Bakteriami tymi, po uprzednim ich wyhodowaniu na świeżych pożywkach agarowych, zaszczipiono w dniu 18 VII 1936 24 sztuki pelargonii, po trzy pelargonie każdym wymienionym wyżej szczepem, po zostawieniu trzech sztuk pelargonii jako roślin kontrolnych.

Szczepienie przeprowadzono w następujący sposób. Górną część szyjki korzeniowej wymyto przy pomocy waty wodą wodociągową, a następnie alkoholem. Po wyschnięciu miejsce wymytych robiono

nacięcia wyjałowionym lancetem. W nacięcia o wielkości kilku milimetrów nakładano przy pomocy ezy poprzednio dobrze wypalonej kultury bakteryj. Na roślinach kontrolnych robiono też takie same nacięcia, jednak już bez zakażenia ich bakteriami. Po zakażeniu rośliny trzymano w szklarni w temperaturze około 13° C.

Ponieważ do połowy stycznia 1937 nie było żadnych pozytywnych wyników (wzrastania tumorów), podjęto powtórne szczepienie pelargonii tymi samymi kulturami. Zaszczepiono jednak rośliny już nie w górnej części szyjki korzeniowej ale na młodych, jeszcze nie zdrewniałych i zielonych pędach. Powtórne to szczepienie przeprowadzono na tych samych roślinach w identyczny sposób jak poprzednio. Po kilkunastu dniach można było już zauważyć różnicę w zachowaniu się roślin szczepionych i nieszczepionych. U roślin bowiem szczepionych rany zaczęły się rozrastać, powiększać, podczas gdy u kontrolnych powoli się goiły i zabliźniały (fot. nr 1 i 2).

W dniu 20 III 1937 zauważono na pelargoniiach szczepionych 24 I 1937 kulturą Bela pierwsze objawy tumorów w postaci małych, lekko brązowych guzów, bezkształtnych, kalafiorowatych, szybko wzrastających, tak że po niecałych trzech tygodniach dochodziły niektóre z nich do wielkości grochu czy fasoli (fot. nr 4).

Ponieważ rośliny z nastaniem wiosny przestały w szklarni wzrastać i zaczęły chorować, przeto w drugiej połowie maja przeniesiono je na wolne powietrze, zakopując doniczki do ziemi. Zmiana ta bardzo dodatnio wpłynęła na rośliny. Wzrost tumorów trwał w dalszym ciągu, tak że w lipcu 1937 doszły one do wielkości małego orzecha włoskiego.

Pierwotnym celem tych szczepień było wykazanie zjadliwości niektórych szczepów *Pseudomonas tumefaciens*, co obszernie opisał już C. Stapp (4). Jak zaznaczył on w swej pracy, górna część roślin znajdująca się nad tumorami, spowodowanymi zaszczepieniem niektórych szczepów *Pseudomonas tumefaciens*, ginęła.

W przypadkach tutaj opisanych zdołano jedynie uzyskać wyniki częściowo zgadzające się z wynikami C. Stappa. Zgodnie mianowicie wykazano zjadliwość tylko niektórych szczepów *Pseudomonas tumefaciens*. Zjadliwym okazał się z ośmiu wyżej wymienionych szczepów, szczep Bela. Pozostałe szczepy w liczbie siedmiu, a to szczepy oznaczone jako: segmentowane gram—, śluzowe, 7-6, C-10, C-10', C-11, nie wykazały żadnej zjadliwości. Nie zdołano bowiem otrzymać tumorów, wywołanych ich zaszczepieniem na pelargoniiach. Nie otrzymano też tak zjadliwego działania szczepu „Bela“, by

spowodował on wędnięcie i obumieranie roślin. Mimo bowiem silnego wybijania tkanki w miejscu szczepień, prowadzącego do wytworzenia tumorów, rośliny w dalszym ciągu rozwijały się bardzo pięknie i nawet zakwitły (fot. 4 i 5). Przypisać to możemy prawdopodobnie temu, że nowotwory wywołane przez szczep „Bela” znajdowały się tylko po jednej stronie pędów, podczas gdy druga strona mogła zupełnie dobrze przewodzić soki pokarmowe, gdyż tkanka i wiązki naczyniowe nie były zaatakowane przez bakterie i nie wybujały, przez co nie utrudniały przewodzenia. Mogło się też do tego przyczynić to, że operowano zbyt skąpym materiałem roślinnym.

Dalszym etapem tej pracy było stwierdzenie działania niektórych enzymów trawiących, a w szczególności działania pepsyny i papainy na nowotwory roślinne.

Użyto tutaj roślin poprzednich, a więc trzech pelargonii, szczepionych szczepem „Bela” 24 stycznia 1937, na których otrzymano tumory. W dniu 20 czerwca zaszczepiono jeszcze tą kulturą przeszczepioną na świeżą pożywkę agarową 15 innych pelargonii oraz zostawiono 5 sztuk jako rośliny kontrolne. Szczepienie przeprowadzono w sposób identyczny z poprzednimi szczepieniami. Około połowy sierpnia r. 1937 otrzymano znowu tumory, jednak tylko na 11 roślinach. W sumie użyto do tego doświadczenia 30 tumorów z jedenastu roślin szczepionych 20 czerwca 1937 i trzech roślin szczepionych 24 stycznia 1937.

Z tych 30 tumorów jedenaście potraktowano papainą, jedenaście pepsyną, a osiem zostawiono jako kontrolne.

Zadawanie wykonano w dniu 18 czerwca 1937 na ośmiu tumorach trzech roślin szczepionych 24 stycznia 1937 oraz 28 sierpnia na pozostałych roślinach szczepionych 20 czerwca 1937 w następujący sposób: w tumorze wycinano wyjałowionym lancetem sektory o długości mniej więcej 1—1,5 cm, zależnie od wielkości tumoru, a o szerokości około 2 mm. W sektory te nakładano jałową szklaną łopatką pepsynę lub papainę, tak by w zupełności proszki te wypełniły cały wycinek. Tumor taki zawiązywano następnie celofanem i zostawiano rośliny w szklarni.

Z tumorami kontrolnymi postępowano w ten sam sposób, jednak po wycięciu sektora nie nakładano do nich żadnego z wymienionych enzymów, a tylko obwiązywano miejsca z nacięciami celofanem.

Na trzech roślinach szczepionych 24 stycznia 1937, na których tumory otrzymano około 20 marca 1937 zadano pepsynę i papainę 17 czerwca 1937, a na pozostałych 11 roślinach szczepionych 20 czerwca

zadano te enzymy 28 sierpnia 1937. Wszystkie rośliny stale obserwowano co tydzień.

Do dnia 1 listopada 1937 otrzymano następujące wyniki: z 11 tumorów potraktowanych pepsyną 6 zaczęło po miesiącu gnić, a następnie obumarło; 5 natomiast pozostało zdrowych i żywych w całości lub częściowo (fot. 7 i 8).

Na fot. 7 widać tumory wywołane szczepem „Bela”. Górny tumor potraktowany został 18 czerwca 1937 pepsyną i całkowicie obumarł. Dolny natomiast zostawiony jako kontrolny — na którym jednak zrobiono nacięcia — częściowo tylko obumarł; część jego tkanki pozostała zupełnie zdrowa. Na fot. 8 mamy takie same tumory; 2 tumory zaznaczone strzałką (przekrojone) były traktowane pepsyną. Widać u nich zupełnie zdrową tkankę.

Z 11 tumorów zadanych papainą 9 pozostało zdrowych w całości lub częściowo, a 3 obumarły (fot. 6). Na fotografii tej widać przekrojone dwa tumory, naturalnej wielkości, które potraktowano papainą (18 czerwca 1937). Górny tumor zupełnie obumarł, dolny pozostał częściowo zdrowy. Z 8 tumorów kontrolnych 4 pozostały zdrowe a 4 natomiast zginęły.

Jeśli weźmiemy pod uwagę te tumory, które po zadaniu pepsyną i papainą obumarły, to wynik byłby zgodny z wynikami P. A. Arka (6), jednak nie wszystkie obumarły całkowicie; niektóre z nich pozostały częściowo zdrowe, obumierała natomiast u nich ta część, która bezpośrednio była w pobliżu wyciętego sektora, a tym samym była bezpośrednio pod działaniem rozpuszczającej się pepsyny czy papainy.

Bardziej zgodne wyniki otrzymano przy zastosowaniu pepsyny. Po zadaniu bowiem pepsyny 6 tumorów obumarło na ogólną liczbę 11, przy papainie zaś na ogólną liczbę 11 tumorów obumarło 2.

Jednak z drugiej znowu strony musimy tutaj wziąć pod uwagę i rośliny z tumorami kontrolnymi. W tych bowiem tumorach wycięto jedynie sektory bez zadawania do nich enzymów, a mimo to z ośmiu tumorów 4 obumarły.

Dlatego też obumieranie tumorów można by przypisać nie tylko działaniu enzymów trawiących, ale też w dużej mierze prawdopodobnie mechanicznemu ich uszkodzeniu.

Na zakończenie pozwolę sobie złożyć na tym miejscu jak najserdeczniejsze podziękowanie prof. drowi K. Rouppertowi i doc. drowi S. Śnieszce za słowa zachęty, za łaskawą pomoc i nader cenne wskazówki otrzymywane w czasie wykonywania tej pracy.

Z Zakładu Mikrobiologii Rolniczej i Ogrodu Rolniczo-Botanicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Literatura

1. Pape H., Die Praxis der Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen der Zierpflanzen, II. Aufl., Berlin 1936.
2. Baudyš E., Fitopatologické poznámky V. — Ochrana Rostlin 9, 1929.
3. Schilbersky K., Beiträge zur Biologie von *Pseudomonas tumefaciens*. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten u. -schutz 45, 1935, 146—59.
4. Stapp C., Eine neue Wirtspflanze (*Dahlia variabilis* Desf.) mit hochvirulentem Erreger. — Zbl. Bakt. II. Abt. 95, nr 13—17, 1936.
5. Smith R. F. and Eardley E. A., Secondary tumor formation on herbaceous hosts induced by *Pseudomonas tumefaciens*. — Scient. Agr. 15, 1935, 345—57.
6. Ark P. A., Effect of certain enzymes and amino-acids on crown-gall tissues. — Science 85, 1937, 364.
7. Flachs K., Krankheiten und Parasiten der Zierpflanzen, Stuttgart 1931.
8. Sorauer P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten, II. Bd. V. Aufl. 1928, 140—52.
9. Chambers W. H., The growth, hydrogen-ion concentration, sugar fermentation and surface tension of cultures of *Pseudomonas tumefaciens* and *Pseudomonas campestris*. — Journ. Canc. Res. 9, 1925, 254.
10. Kolowca J., Guzowatość korzeni i próby jej zwalczania. — Rocznik Ochrony Roślin, 4, z. 3, 1937.
11. Smith, Mechanism of tumor growth in crown-gall. — Journ. Agr. Res. 8 1917, 165.
12. Smith, Chemically induced crown-galls. — Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 3, 1917, 312.
13. Riker A. J., Wright W. H. i inni, Studies on infections hairy-root of nursery apple trees. — Journ. Agr. Res. 41, nr 7, 1930, 507—40.
14. Riker A. J., Wright W. H., Hendrieson A. A., Studies on the progeny of single cell isolations from the hairy-root and crown-gall organisms. — Journ. Agr. Res. 41, nr 7, 1930, 541—7.

Objaśnienie tablicy III

1. Część pędu pelargonii. Widać blizny po nacięciach. Roślina kontrolna, nie szczepiona. 17 dni po wykonaniu nacięć.
2. Zmiany wywołane przez zaszczepienie hodowli *Pseudomonas tumefaciens* w 17 dni po zaszczepieniu.
3. Część pędu pelargonii z naroślami.
4. Tumory na pelargonii wywołane przez *Pseudomonas tumefaciens*, szczep „Bela”. Szczepione 24 I 1937, fotografowano 8 IV 1937.
5. Narośle na pelargonii, wywołane hodowlą *Pseudomonas tumefaciens*, szczep „Bela”.
6. Przekroje tumorów wywołane przez *Pseudomonas tumefaciens*. Oba potraktowane papainą (18 VI 1937). Górny tumor obumarł zupełnie, a dolny częściowo. Wielkość naturalna.
7. Tumory wywołane przez *Pseudomonas tumefaciens*. Górny, potraktowany pepsyną, całkowicie obumarł. Dolny kontrolny częściowo zdrowy. Wielkość naturalna.

8. Dwa przekroje tumorów potraktowanych pepsyną, mają zupełnie zdrową tkankę. Z tumoru oznaczonego (x) zaczynają wyrastać zielone listki. Wielkość naturalna.

Summary

In the first part of the experiments several strains of bacteria classified as *Ps. tumefaciens* and *Ps. rhizogenes* were tested with regard to their virulence on *Pelargonium* plants. Several strains were isolated in Kraków. Others were obtained from the Dept. of Plant Pathology of the University of Wisconsin, Madison, Wis., U. S. A. (C-10, C-10', C-11), and one („Bela“) from the Lister Institute in London.

Pelargonium plants were inoculated by way of small wounds made with a lancet on the disinfected part of the stem, just above the ground. Young agar cultures of tested bacteria were smeared on the surface of the fresh wounds. The first experiment gave entirely negative results.

In the second experiment the bacteria were inoculated into very young plants, much higher above the ground than formerly. Already on the 17-th day after inoculation a distinct formation of crown-gall could be noticed (photo 2). From all applied strains only the „Bela“ strain from the Lister Institute was virulent to *Pelargonium*. That experiment has shown, as stated by Stapp (4), that not all strains of *Ps. tumefaciens* are equally virulent.

In the second part of these experiments we tried to repeat some of the very interesting experiments described by Ark (6). That author has found that digestive ferments such as pepsin, papain and some other organic compounds had a very marked influence on the plant tumours caused by *Ps. tumefaciens*.

For this experiment we chose 30 different crown-galls on *Pelargonium* inoculated with *Ps. tumefaciens*, strain „Bela“ 11 tumours were treated with papain and 11 with pepsin. 8 were kept as controls. These enzymes were applied in powdered form and were placed in long narrow incisions where small sections of tumours had been cut away. From all control tumours similar sections of tissue were taken away. The wounds were wrapped in cellophane.

Six out of eleven tumours treated with pepsin deteriorated one month after treatment. Five were left without any or only slight injury (phot. 7, 8). On the photo 8 are several tumours which after treatment with pepsin were entirely normal (marked with →). Out of eleven tumours treated with papain three died off and nine

were left partly or entirely intact. On photo 6. are two tumours (natural size) which were treated with papain: the higher one died off completely and the lower underwent a partial necrosis. From the eight control tumours four died off in the same time as treated ones.

Therefore we could not find a complete agreement with Ark's findings. We came to the conclusion that the enzymes like papain and pepsin are not always effective in the treatment of crown-gall. In some cases at least the mechanical injury of crown-gall may effect a total necrosis of the tumours.

From the Department of Agricultural Microbiology and the Agricultural Botanical Garden of the Jagellonian University at Kraków, Poland.

Explanation of Plate III

1. Part of the stem of *Pelargonium*. The incised wounds can be seen. Not inoculated. Control plant 17 days after making the incisions.

2. Swellings caused by *Pseudomonas tumefaciens* on the 17-th day after inoculation.

3. Part of the *Pelargonium* stem with tumours.

4. Tumours on *Pelargonium* caused by *Pseudomonas tumefaciens*, strain „Bela“. Inoculated 24. I. 1937. Photographed on 8. IV. 1937.

5. Tumours on *Pelargonium* caused by *Pseudomonas tumefaciens*, strain „Bela“.

6. Sections of tumours caused by *Pseudomonas tumefaciens*, both treated with papain (18. VI. 1937). The higher one died off completely. The lower one normal. Natural size.

7. Tumours caused by *Pseudomonas tumefaciens*. The higher treated with papain, died off completely; the lower died off partially. Natural size.

8. Section through two tumours treated with pepsin. Tissues of both are normal. From that marked (x) leaves are beginning to grow. Natural size.