

## Badania nad niektórymi właściwościami biologicznymi grzybów porażających liście *Digitalis purpurea* L. i *D. lanata* Ehrh.

Investigations on several biological properties of fungi infecting  
the leaves of *Digitalis purpurea* L. and *D. lanata* Ehrh.

JÓZEF KOWALSKI

### WSTĘP

Moje kilkuletnie obserwacje oraz doniesienia Zakładów Zielarskich „Herbapol” wykazują, że plantacje naporstnicy purpurowej (*Digitalis purpurea* L.) i wełnistej (*D. lanata* Ehrh.) są co roku silnie porażone przez grzyby: *Colletotrichum fuscum* Laub., *Phyllosticta digitalis* Bell. i *Septoria digitalis* Pass.

W literaturze mikologicznej, poza nielicznymi danymi na temat ich morfologii (Allescher 1901, 1903; Grave 1935, Spilburg 1953; Arx 1957), nie znaleziono żadnych innych materiałów. Wobec tego celowym było podjęcie pracy wyjaśniającej niektóre właściwości biologiczne wymienionych gatunków grzybów chorobotwórczych.

### OBJAWY CHOROBY I MORFOLOGIA GRZYBÓW

*Colletotrichum fuscum* Laub. powoduje chorobę rozwijającą się najczęściej w drugiej połowie lata. Na liściach, rzadziej na łodygach porażonych roślin, powstają liczne, drobne, o średnicy 1,5 mm, nieco wzniesione brunatne plamki z wyraźną czerwoną obwódką (ryc. 1). Przy silnym porażeniu plamki łączą się zajmując znaczną część blaszki liściowej. W środku plamy znajduje się jeden lub kilka czarnych punktów będących skupieniem trzonków konidialnych (*acervulus*) i zarodników.

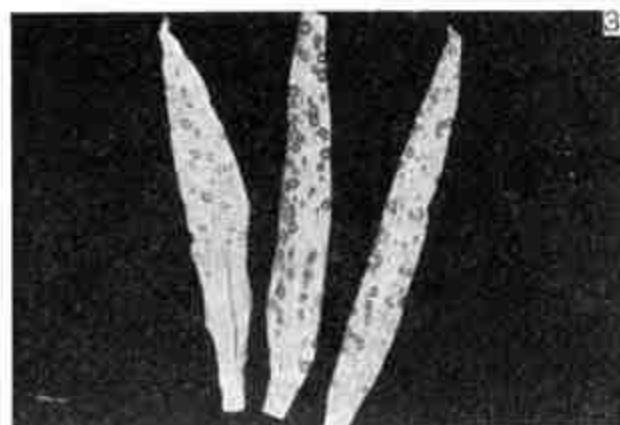
Trzonki konidialne są bezbarwne, najczęściej jednokomórkowe, powstające na warstewce grzybni. Pomiedzy trzonkami występują ciemno zabarwione szczecinki, wielokomórkowe, 80—100  $\mu$  długie (Spilburg 1953). Dolna część szczecinek zbudowana jest z komórek o grubych, brunatno zabarwionych ścianach, natomiast szczytowa ich część ma komórki cienkościenne i najczęściej bezbarwne.



Ryc. 1. *Digitalis purpurea* L. Liście porażone przez *Colletotrichum fuscum* Laub.  
Leafs infected by *Colletotrichum fuscum* Laub.



Ryc. 2. *Digitalis purpurea* L. Liście porażone przez *Phyllosticta digitalis* Bell.  
Leafs infected by *Phyllosticta digitalis* Bell.



Ryc. 3. *Digitalis lanata* Ehrh. Liście porażone przez *Septoria digitalis* Pass.  
Leafs infected by *Septoria digitalis* Pass.

Zarodniki konidialne,  $14-21 \times 2,2-4,4 \mu$  (Arx 1957), są jednokomórkowe, bezbarwne, cienkościenne, najczęściej kształtu cylindrycznego. Wewnątrz dojrzałych zarodników widoczne są dwie, rzadziej jedna, kropla tłuszczu.

*Phyllosticta digitalis* Bell. poraża liście naporstnicy purpurowej i welnistej. Na porażonych liściach powstają dość duże o nieregularnym zarysie plamy zabarwione najczęściej na brunatno. W warunkach sprzyjających rozwojowi choroby poszczególne plamy łączą się zajmując znaczną część blaszki liściowej. Liście są bardzo często zniekształcone i pofalowane (ryc. 2).

Powierzchnia plam pokryta jest drobnymi, ciemnymi punkcikami będącymi owocnikami grzyba. Są one przeważnie  $\pm$  kuliste, o średnicy ok.  $180 \mu$ ; dojrzałe mają na szczycie otwór. Zarodniki w pyknidach tworzą się na drobnych bezbarwnych trzonkach konidialnych występujących na wewnętrznej ścianie owocnika. Pyknostry są bezbarwne, jednokomórkowe, owalne,  $7 \times 2,5 \mu$  (Spilburg 1953).

*Septoria digitalis* Pass. powoduje chorobę, której pierwsze objawy jako małe, fioletowo brunatne, niezbyt liczne plamki, mogą wystąpić już na liścieniach i najmłodszych liściach. W miarę wzrostu rośliny, grzyb poraża nowo powstające liście, na których ukazują się coraz liczniejsze plamki,  $\pm$  okrągłe, otoczone czerwonofioletową obwódką. W środku plamy, o barwie brunatnoszarej, znajdują się liczne, ciemne punkciki będące pyknidami grzyba.

Pyknida *Septoria digitalis* są kuliste lub soczewkowate,  $65-130 \mu$  średnicy. Na szczycie znajduje się otwór (rzadziej dwa). Ściana pyknidów utworzona jest z kilku warstw komórek. Wnętrze pyknidum pokryte jest drobnymi, bezbarwnymi trzoneczkami konidialnymi. Pyknostry są bezbarwne, nitkowate, jednokomórkowe, na końcach nieco zwężone o wymiarach:  $25-30-1,5 \mu$ . Bardzo często w zarodniku występuje kilka kropel tłuszczu (Allescher 1901, Grave 1935, Spilburg 1953).

#### OTRZYMANIE CZYSTYCH KULTUR I WZROST GRZYBÓW NA POŻYWKACH

Materiał roślinny, z którego wyizolowano czyste kultury, zebrano na plantacji naporstnicy purpurowej i welnistej w Plewiskach k. Poznania. Z obmytych wodą i wypłukanych w alkoholu liści sporządzano skrawki, które układano na pożywce brzeźkowej w szalkach Petriego. Wyrosłe kolonie grzyba przeszczepiano do szalek ze świeżą pożywką. Otrzymane zarodniki posłużyły następnie do wyhodowania kultur jednozarodnikowych. Hodowlę tych grzybów na sztucznym podłożu rozpoczęto od ustalenia najbardziej sprzyjającej dla wzrostu temperatury.

Metoda badań. W doświadczeniu użyto pożywki agarowo-brzeczkowej rozlewanej w ilości 40 ml do wyjalowionych szalek Petriego o średnicy 10 cm. Po zaszczepieniu trzymano szalki w następujących temperaturach: 20, 23, 25, 28 i 30°C. Po 20 dniach hodowli (w tym czasie grzybnia *Phyllosticta digitalis* i *Colletotrichum fuscum* pokryła prawie całą powierzchnię pożywki) zmierzono przyrosty liniowe kultur, a następnie ogrzano szalki celem rozpuszczenia agaru. Rozpuszczone pożywki sączono przez uprzednio zważone sączki na lejku Büchnera pod zmniejszonym ciśnieniem. Resztki agaru wymywano gorącą wodą. Sączki wraz z grzybnią suszono przez około 14 godzin w temperaturze 105°C, a następnie wazono.

Tabela 1 — Table 1

Wpływ temperatury na wzrost *Colletotrichum fuscum*, *Phyllosticta digitalis* i *Septoria digitalis*

The influence of temperature on the growth of *Colletotrichum fuscum*, *Phyllosticta digitalis* and *Septoria digitalis*

Temperatura	Średnica kolonii Average diameters mm	Ciężar grzybnii Weight of mycelium mg
<i>Colletotrichum fuscum</i>		
20°C	89 × 90	137,3
23°C	89 × 89	254,7
25°C	77 × 76,6	262,9
28°C	60 × 61,3	253,7
30°C	69 × 63	208,6
<i>Phyllosticta digitalis</i>		
20°C	93 × 94	203,7
23°C	95 × 95	271,1
25°C	95 × 95	312,3
28°C	72 × 68	77,3
30°C	—	—
<i>Septoria digitalis</i>		
20°C	18,9 × 17,0	37,3
23°C	27,2 × 24,0	180,6
25°C	19,0 × 20,2	186,1
28°C	13,0 × 13,0	64,8
30°C	10,0 × 9,5	22,1

Do porównania wpływu temperatury na wzrost brano, zarówno przy pomiarach liniowych jak i wagowych, średnią z 10 powtórzeń (tabela 1).

Najlepszy wzrost i zarodnikowanie omawianych grzybów obserwowano w temperaturze 23—25°C. Temperatura wyższa jak i niższa były daleko mniej sprzyjające dla wzrostu tych grzybów, chociaż w przypadku *Colletotrichum fuscum* zupełnie dobry wzrost miał miejsce także w temperaturze 20 i 30°C.

#### WZROST GRZYBÓW NA POŻYWKACH MINERALNYCH

Celem tego doświadczenia było dokładne przebadanie wzrostu omawianych grzybów na pożywkach mineralnych zawierających glikozę i fruktozę jako źródło węgla oraz oznaczenie szybkości pobierania przez nie tych cukrów z podłoża.

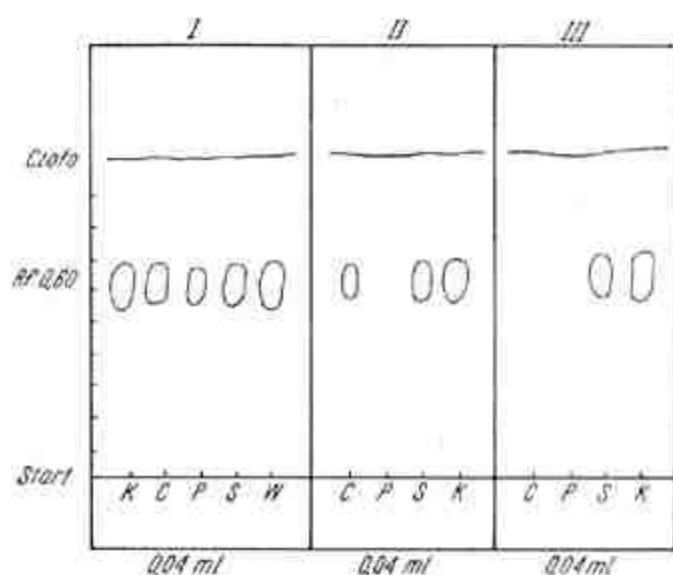
**Metoda badań.** Użyto pożywki mineralnej płynnej, w której źródłem węgla były glikoza i fruktoza. Pożywka podstawowa zawierała w jednym litrze wody destylowanej: 10 g cukru, 2,06 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,5  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ , 0,7 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Tandon i Agarwal 1957, Thind i Rawla 1958, Lilly i Barnett 1959). Przygotowane pożywki rozlewano do erlenmayerek o pojemności 100 ml, dając do każdej kolbki 20 ml roztworu. Kolbki sterylizowano w aparacie Kocha w ciągu kolejnych trzech dni po 30 minut. Po zakończonej sterylizacji w jednej kolbce z każdej serii pożywki oznaczono odczyn i zawartość cukru. Wartości te przyjęto jako początkowe.

Zaszczepione pożywki oraz kontrolne, umieszczono w termostacie o temperaturze 25°C. Hodowlę prowadzono 25 dni. Co piąty dzień likwidowano po 3 kolbki każdego grzyba z obydwu serii pożywek oraz po jednej kolbce kontrolnej i oznaczano suchą masą grzybni, odczyn pożywki oraz zawartość w niej glukozy i fruktozy.

Dla oznaczania suchej masy grzybni pożywkę, oddzielnie z każdej kolbki, sączone na lejku Büchnera pod zmniejszonym ciśnieniem przez sączki uprzednio wysuszone do stałego ciężaru. Sączki wraz z grzybnią suszono przez około 14 godzin w temperaturze 105°C, a następnie ważono. Odczyn pożywki mierzono pehametrem RFT typ 190 przy użyciu elektrody szklanej i kalomelowej.

Do ilościowego oznaczenia zawartości glikozy i fruktozy w pożywce zastosowano metodę kolorymetryczną Somogy-Nelsona (Nelson 1944, Linskens 1955, Hais i Macek 1958). Wyniki odczytywano z krzywych wzorcowych, a następnie obliczano zawartość cukru w 20 ml pożywki.

**Badania chromatograficzne.** Celem sprawdzenia, czy podczas wzrostu grzybów nie tworzą się w podłożu inne związki o charakterze węglowodanowym, analizowane pożywki badano również chromatograficznie na bibule (Whatman Nr 1). Chromatogramy rozwijano techniką wstępującą stosując układ izopropanol—woda, w stosunku obję-

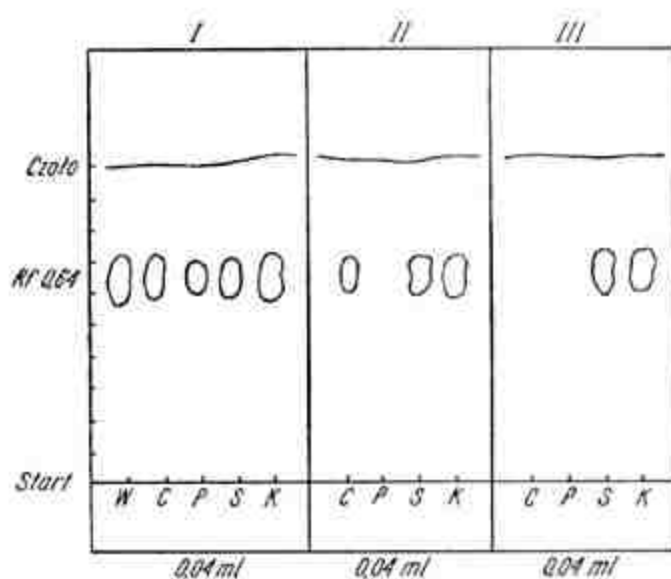


Ryc. 4. Chromatogramy pożywki z glikozą

## Paper chromatograms of glucose medium

I — 5 dzień hodowli (5 th day of growth); II — 20 dzień hodowli (20 th day of growth);  
 III — 25 dzień hodowli (25 th day of growth)

W — D-glikoza (wzorzec) (D-glucose); C — *Colletotrichum fuscum*; P — *Phyllosticta digitalis*;  
 S — *Septoria digitalis*; K — pożywka kontrolna (control medium)



Ryc. 5. Chromatogramy pożywki z fruktozą

## Paper chromatograms of fructose medium

W — d-fruktoza (wzorzec) — (D-fructose); C — *Colletotrichum fuscum*; P — *Phyllosticta digitalis*;  
 S — *Septoria digitalis*; K — pożywka kontrolna (control medium)

III — 25 dzień hodowli (25 th day of growth)

I — 5 dzień hodowli (5 th day of growth); II — 20 dzień hodowli (20 th day of growth);

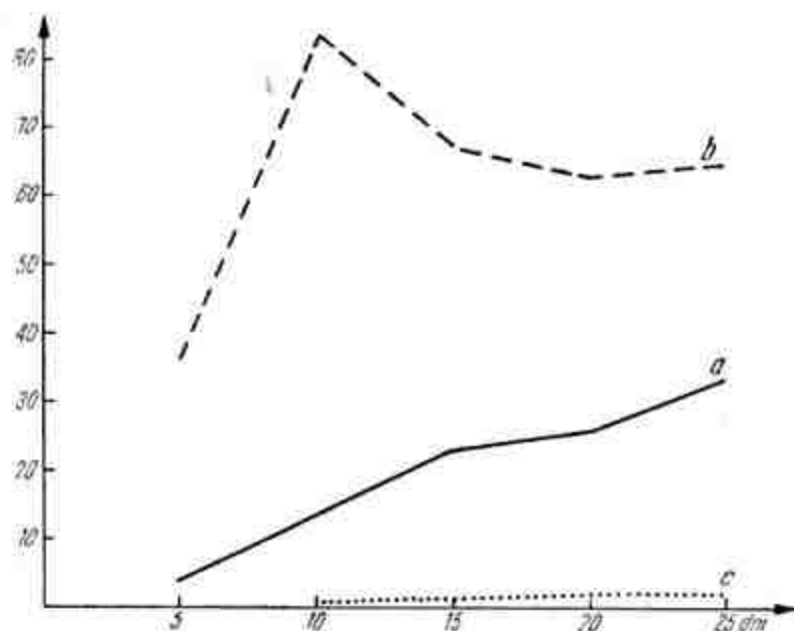
tościowym 16:4 (Smith 1958). Wysuszone chromatogramy spryskiwano odczynnikami o następującym składzie: 4% etanolewy roztwór aniliny, 4% etanolewy roztwór dwufenyloaminy, 85% kwas fosforowy (5:5:1). Spryskane chromatogramy umieszczano na 5 minut w suszarce o temperaturze 80°C. Plamy cukrów barwiły się na kolor brunatny (Buchani i Savage 1952, Agnihotri 1961).

#### WYNIKI BADAŃ

*Colletotrichum fuscum*. Z przeprowadzonych badań wynika, że najsilniejszy wzrost grzyba na pożywce zawierającej glikozę miał miejsce między 5 a 15 dniem hodowli. Rozwijająca się grzybnia pokryła w tym czasie prawie całą powierzchnię pożywki. Miała ona wygląd dość grubego wojłoku o szarej barwie z licznymi czarnymi sklerocjami. Pojawienie się pierwszych zarodników stwierdzono w 15 dniu. Największe przyrosty suchej masy grzybni otrzymano między 5 a 15 dniem, a więc w okresie najbujniejszego wzrostu grzyba (wykres 1). Ilość dostarczonej w pożywce glikozy malała niemal proporcjonalnie do szybkości wzrostu grzyba (wykres 2), a 25 dnia, zarówno w oznaczeniach ilościowych jak i na chromatogramach, nie wykryto obecności tego cukru w pożywce. Stwierdzono również, że w czasie wzrostu grzyba zmieniał się nieco odczyn pożywki (początkowo było pH 6,6 a w chwili likwidacji doświadczenia — pH 5,1).

Wzrost *Colletotrichum fuscum* na pożywce zawierającej fruktozę był podobny. Również w makroskopowym wyglądzie kultur nie zaobserwowano różnic. Oznaczenia ilościowe zawartej w pożywce fruktozy wskazywały na nieco wolniejsze jej pobieranie. Jednak i tu, podobnie jak w przypadku glikozy, 25 dnia nie stwierdzono już w pożywce występowania fruktozy (wykres 4). Odczyn pożywki z pH 6,6 obniżył się do pH 5,1.

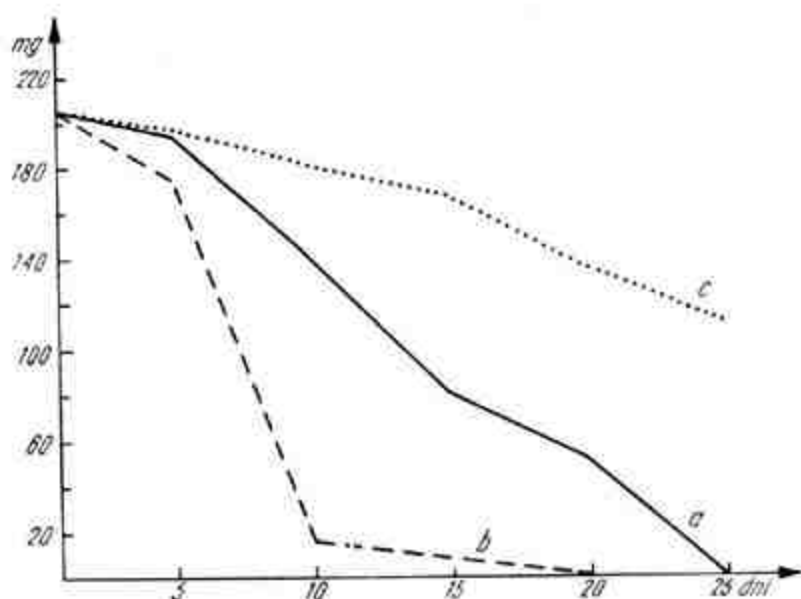
*Phyllosticta digitalis*. Wzrost grzyba na pożywce zawierającej glikozę był bardzo intensywny, zwłaszcza w pierwszych dniach hodowli (wykres 1). Grzybnia początkowo biała przybrała w późniejszym okresie zabarwienie brunatne, tworząc jednocześnie na pożywce dość gruby, wojłokowaty kożuch. Liczne pyknidia z zarodnikami wykryto w 10 dniu hodowli, chociaż prawdopodobnie powstawały one już nieco wcześniej. Największą suchą masę grzyb ten osiągnął w 10 dniu hodowli. Później obserwowano już pewien niewielki spadek ciężaru suchej masy grzybni. Na podstawie dokonanych oznaczeń zawartości glikozy w pożywce stwierdzono, że prawie cała jej ilość pobrana została w pierwszych 10 dniach hodowli. Późniejsze oznaczenia nie wykazały już obecności tego cukru w pożywce. W okresie intensywniejszego wzrostu pożywka



Wykres 1. Ciężar suchej masy grzbnia (w mg) wytworzonej na pożywce z glikozą

Dry weight of mycelium (in mg), obtained on glucose medium

a — *Colletotrichum fuscum*, b — *Phyllosticta digitalis*, c — *Septoria digitalis*

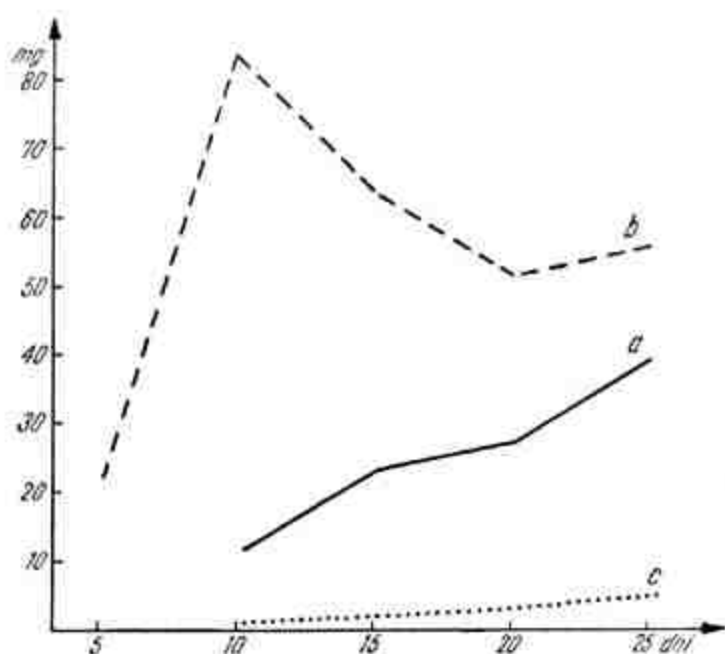


Wykres 2. Zawartość glikozy w pożywce w mg w okresie wzrostu grzybów

Glucose content (in mg) in medium during growth of mycelium

a — *Colletotrichum fuscum*, b — *Phyllosticta digitalis*, c — *Septoria digitalis*

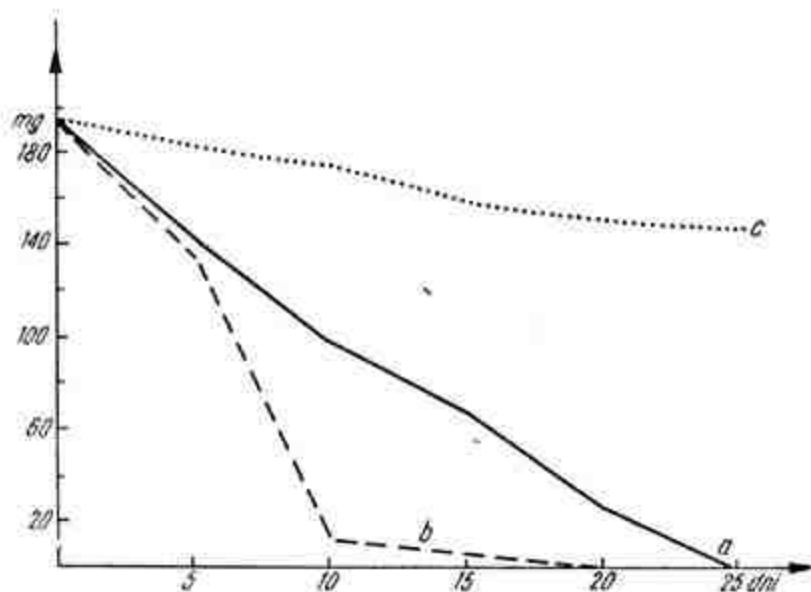




Wykres 3. Ciężar suchej masy grzybni (w mg) wytworzonej na pożywce z fruktozą

Dry weight of mycelium (in mg), obtained on fructose medium

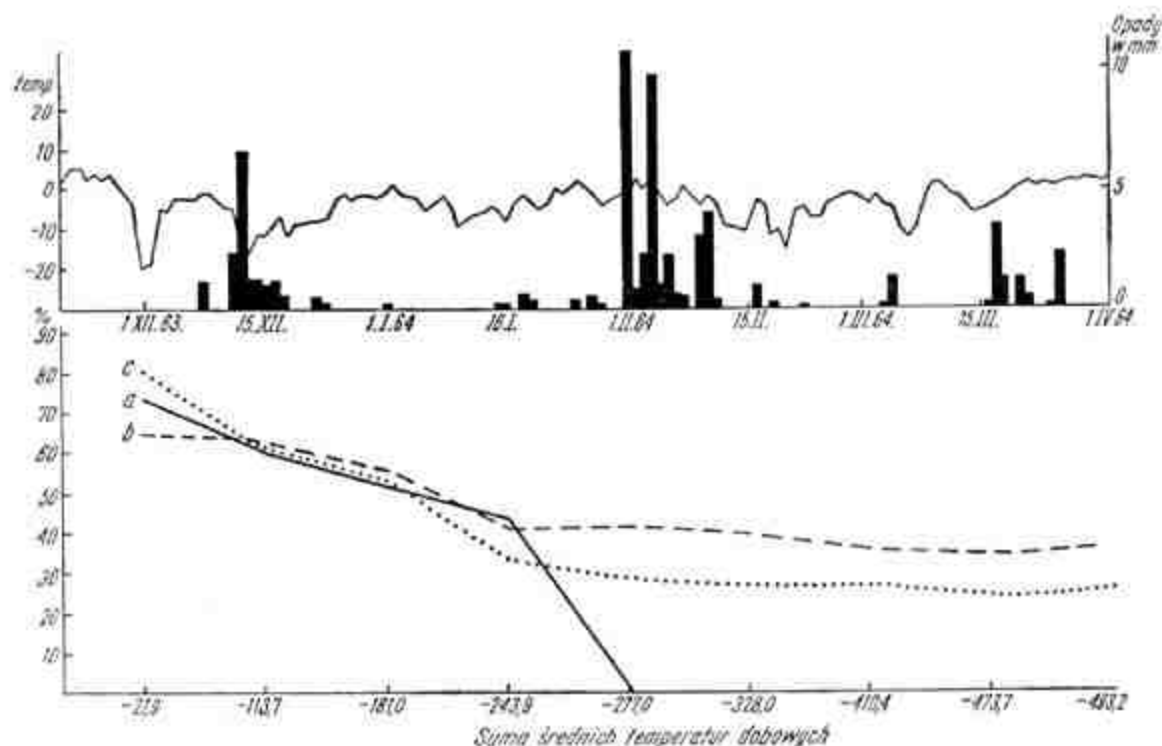
a — *Colletotrichum fuscum*, b — *Phyllosticta digitalis*, c — *Septoria digitalis*



Wykres 4. Zawartość fruktozy (w mg) w pożywce w okresie wzrostu grzybów

Fructose content (in mg) in medium during growth of mycelium

a — *Colletotrichum fuscum*, b — *Phyllosticta digitalis*, c — *Septoria digitalis*



Wykres 5. Wpływ warunków atmosferycznych w okresie jesienno-zimowym na żywotność zarodników

Influence of atmospheric conditions in autumn-winter period upon the vitality of spores

a — *Colletotrichum fuscum*, b — *Phyllosticta digitalis*, c — *Septoria digitalis*.

wykazywała odczyn kwaśny (pH 4,2), około 15 dnia hodowli odczyn pożywek stał się już obojętny, a następnie zasadowy (pH 7,9).

Na pożywce zawierającej fruktozę najbujniejszy wzrost wystąpił również w pierwszych dniach po założeniu doświadczenia. W starzejących się kulturach ciężar grzybni, podobnie jak w przypadku glikozy, malał. Ponadto stwierdzono, że około 10 dnia ilość fruktozy w pożywce była również niewielka (wykres 4).

*Septoria digitalis*. W przypadku tego grzyba na pożywce zawierającej glikozę, dopiero 10 dnia zauważono na powierzchni substratu liczne, drobne, czarne punkciki będące skupieniami grzybni. Ciężar suchej masy grzybni oznaczony po 25 dniach hodowli wynosił zaledwie 2,5 mg. Stopień wykorzystania glikozy był również niewielki. W czasie trwania hodowli grzyb ten zużył około 47 mg tego cukru. W odczynie pożywki nie stwierdzono istotnych zmian.

Ciężar wytworzonej grzybni na pożywce zawierającej fruktozę, oznaczony w chwili likwidacji doświadczenia wynosił 6,3 mg. Ilość cukru pobranego z podłoża była również niewielka. Odczyn pożywki przez cały czas hodowli wahał się w granicach pH 6,6—5,9.

Tabela 2 — Table 2  
Zmiany pH pożywek w czasie wzrostu grzybów  
Changes of pH of medium during the growth of fungi

Kolejny dzień obserwacji Successive day of ob- servation	pH pożywek pH of medium					
	<i>Colletotrichum fuscum</i>		<i>Phyllosticta digitalis</i>		<i>digitalis Septoria</i>	
	glikoza	fruktoza	glikoza	fruktoza	glikoza	fruktoza
1	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6
5	6,43	6,36	4,13	4,26	6,16	6,13
10	5,26	4,93	4,26	4,13	6,20	6,13
15	5,23	5,03	7,00	7,73	6,30	6,33
20	5,06	5,13	7,73	7,93	6,33	6,03
25	5,10	5,10	7,93	7,63	6,13	5,93

#### KIELKOWANIE ZARODNIKÓW

Celem doświadczenia było zbadanie wpływu temperatury i czasu na kiełkowanie zarodników konidialnych badanych grzybów.

**Metoda badań.** Zarodniki pochodziły z kultur hodowanych na pożywce agarowo-brzeczkowej w temperaturze 25°. Do badań używano ich zawiesiny w wodzie destylowanej i w wodzie z brzeczka (1). Kielkowanie prowadzono w kroplach wiszących. Szkiełka z kroplami umieszczano w szalkach Petriego wyłożonych wilgotną bibułą i wstawiano do pomieszczenia o określonej temperaturze: 15, 18, 20, 23, 25, 28 i 30°C. Po upływie oznaczonej liczby godzin liczono ogólną ilość zarodników w poszczególnych kroplach i ilość zarodników kiełkujących w danym czasie. Do poszczególnych doświadczeń przeznaczono po 10 kropeł zawiesiny i po 10 brzeczki z wodą. Do porównywania wyników sumowano ogólną ilość zarodników we wszystkich kroplach z termostatów o danej temperaturze i danym podłożu oraz ilość zarodników kiełkujących po czym obliczano ich procent (tabela 3).

*Colletotrichum fuscum.* Przy kiełkowaniu zarodniki nieco pęcznieją, przy czym niekiedy uwidacznia się przegroda poprzeczna. Strzępki rosnące wyrastają przeważnie z końców zarodnika lub jego boków. Kielkowanie w optymalnych warunkach rozpoczyna się po 2—4 godzinach. Na szczytach tych strzępek, zwłaszcza przy zetknięciu się ich z powierzchnią szkiełka, powstają przyłgi, natomiast na strzępkach znajdujących się we wnętrzu kropli tworzą się one raczej sporadycznie.

Kielkowanie zarodników zachodzi we wszystkich badanych temperaturach (tabela 3), najlepiej jednak przebiega w zakresie temperatur

Tabela 3 — Table 3

Kielkowanie zarodników *Colletotrichum fuscum*, *Phyllosticta digitalis* i *Septoria digitalis* w zależności od temperatury i czasu  
 The germination of spores *Colletotrichum fuscum*, *Phyllosticta digitalis* and *Septoria digitalis* depending of temperatures and time

Temperatura	% kiełkujących zarodników % germinating spores											
	woda destylowana distilled water						woda z brzezcą water with malt extract (1:1)					
	2 godz. hours	4 godz. hours	8 godz. hours	12 godz. hours	24 godz. hours	48 godz. hours	2 godz. hours	4 godz. hours	8 godz. hours	12 godz. hours	24 godz. hours	48 godz. hours
<i>Colletotrichum fuscum</i>												
15°	—	—	—	1,3	2,8	3,2	—	—	—	2,8	4,7	7,5
18°	—	4,1	4,7	5,6	13,7	46,3	—	5,8	10,7	18,3	27,2	33,8
20°	—	8,0	15,9	37,2	46,3	64,8	—	8,7	20,1	35,6	49,7	61,3
23°	2,1	10,5	51,3	72,7	89,9	90,7	—	7,6	36,2	74,3	82,3	89,9
25°	—	4,8	53,3	88,1	96,4	97,6	—	12,7	60,8	80,2	97,3	97,9
28°	—	—	2,2	6,1	8,5	10,9	—	1,8	3,7	6,9	8,4	13,7
30°	—	—	1,4	1,9	3,0	5,5	—	—	2,3	4,8	9,3	11,7
<i>Phyllosticta digitalis</i>												
15°	—	0,6	2,7	5,1	8,3	11,0	—	7,2	19,3	22,1	28,7	33,2
18°	—	3,2	3,9	17,2	39,4	72,3	—	11,7	21,3	34,7	38,3	47,9
20°	—	3,6	26,6	63,0	90,3	90,6	8,3	20,7	38,1	87,2	92,1	92,4
23°	0,3	3,7	26,8	50,9	89,1	92,2	9,7	22,1	52,4	71,7	90,3	90,2
25°	—	5,0	32,6	49,3	92,0	92,8	—	7,9	49,1	78,5	90,2	90,2
28°	—	—	—	2,2	3,4	7,2	—	—	4,8	10,3	15,7	18,3
30°	—	—	—	0,8	1,2	2,7	—	—	—	—	1,2	3,4
<i>Septoria digitalis</i>												
15°	—	—	—	1,7	5,4	6,9	—	—	—	2,4	3,7	5,4
18°	—	2,4	5,3	10,2	18,7	22,0	—	—	1,8	3,7	5,9	13,2
20°	—	4,8	10,8	36,9	50,7	62,8	—	4,2	18,6	41,2	66,7	80,3
23°	6,7	30,2	78,8	92,4	95,3	95,8	—	2,8	20,3	83,1	88,5	93,4
25°	7,0	33,1	97,0	97,6	98,1	98,0	1,9	17,2	50,4	90,3	90,4	91,0
28°	1,2	5,3	7,2	10,8	14,7	18,8	3,3	10,5	20,9	48,3	60,7	80,7
30°	—	—	0,8	1,2	2,7	3,1	—	—	—	4,7	5,2	8,6

23—25°C i to zarówno w wodzie destylowanej, jak i w wodzie z brzezcą. W wymienionej temperaturze kiełkowanie rozpoczyna się już po 4 godzinach, po 8 godzinach procent kiełkujących zarodników jest bliski 50, a po 24 godzinach osiąga przeważnie 90%.

*Phyllosticta digitalis*. Przed kiełkowaniem zarodniki tego grzyba dość znacznie nabrzmiwiają. Kielkując wytwarzają przeważnie 2 strzęp-

ki rostkowe (b. często tylko jedna) na przeciwległych biegunach zarodnika, z których jedna rośnie znacznie szybciej. Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że zakres optymalnej temperatury dla kiełkowania zarodników *Phyllosticta digitalis* jest nieco większy niż w przypadku *Colletotrichum fuscum*, gdyż mieści się w granicach 20—25°. W tej właśnie temperaturze zarodniki tego grzyba zaczynają kiełkować najwcześniej i w największej ilości, zwłaszcza w wodzie z brzeczką.

*Septoria digitalis*. Zarodniki tego grzyba, podobnie jak dwóch poprzednich, po umieszczeniu ich w kropli znacznie pęcznieją. Przy kiełkowaniu tworzą najczęściej dwie strzępki rostkowe, powstające na dwóch biegunach; wyjątkowo może się tworzyć trzecia z boku zarodnika, a czasem tylko jedna. Najlepiej zarodniki kiełkują w temperaturze 23—25°C, a więc podobnie jak zarodniki *Colletotrichum fuscum*. W temperaturze tej ilość kiełkujących zarodników obliczona po 12 godzinach wynosi około 90%.

#### ZIMOWANIE ZARODNIKÓW KONIDIALNYCH

W literaturze fachowej istnieje bardzo niewiele danych dotyczących sposobu przetrwania badanych grzybów do roku następnego (Spilburg 1953). Wobec tego postanowiono sprawdzić, w jakim stopniu warunki polowe w okresie jesiennozimowym, głównie temperatura, wpływają na żywotność zarodników.

**Metoda badań.** Materiałem do badań były porażone liście naparstnicy purpurowej zimujące w Ogrodzie Farmakognostycznym Akademii Medycznej. Począwszy od listopada dwa razy w miesiącu (1 i 15) badano kiełkowanie zarodników. Z pobranej losowo próbki liści izolowano zarodniki i sporządzano zawiesinę wodną. Kiełkowanie prowadzono w kroplach wiszących w temperaturze 25°. Procent kiełkujących zarodników obliczano po 48 godzinach. Otrzymane wyniki (średnie z 10 powtórzeń) zestawiono z przebiegiem średniej temperatury dobowej oraz z sumą wszystkich temperatur poniżej 0°C\*. Równoległe do badań polowych sprawdzano także kiełkowanie zarodników z liści przechowywanych w chłodni o temperaturze +2,5°.

**Wyniki.** W zestawieniu (wykres 5) za początkową datę przyjęto dzień 1.XII.1963, gdyż, jak się okazało dopiero w ostatnich dniach listopada, średnia temperatura dobową spadła poniżej 0°C. Jak z niego wynika ilość kiełkujących zarodników na początku grudnia wynosiła w przypadku *Colletotrichum fuscum* 73,4%, *Phyllosticta digitalis* 63,8%, *Septoria digitalis* 80,4%. W czasie następnych obserwacji dał się zauwa-

\* Dane meteorologiczne pochodzą ze stacji PIHM przy Uniwersytecie w pobliżu której znajduje się Ogród Farmakognostyczny.

żyć u wszystkich trzech gatunków wyraźny spadek zdolności kiełkowania trwający mniej więcej do połowy stycznia. Późniejsze obserwacje prowadzone aż do końca marca wykazały, że żywotność zarodników *Phyllosticta digitalis* i *Septoria digitalis* praktycznie nie zmniejszyła się. Na początku kwietnia ilość kiełkujących zarodników w przypadku *Phyllosticta digitalis* wynosiła ok. 37%, zaś *Septoria digitalis* — 25%. Uzyskane wyniki wskazują na dużą odporność tych zarodników na działanie niskich temperatur w warunkach polowych.

Odmienne wyniki otrzymano w badaniach nad żywotnością zarodników *Colletotrichum fuscum*; 15 stycznia zarodniki tego grzyba kiełkowały jeszcze w około 45%. Obserwacje wykonane 1 lutego wykazały, że zarodniki te nie kiełkują już prawie w ogóle (0,4%). Być może, że tak gwałtowna utrata żywotności spowodowana została dość długo trwającym okresem chłódów, gdyż suma średnich temperatur dobowych poniżej 0°C, obliczona na dzień 1.II.1964 r., wynosiła -277°.

Ponieważ podejrzewano, że zarodniki uległy przemarznieniu, przeprowadzono dodatkowo następujące obserwacje. Pobrane każdorazowo liście dokładnie obmywano silnym strumieniem wody (celem usunięcia znajdujących się na liściach zarodników) i umieszczano w szalkach Petriego z wilgotną bibułą w temperaturze 23°C. Po kilku dniach tworzyły się nowe zarodniki, które umieszczone w kropli wody kiełkowały prawie w 90%. Można więc przypuszczać, że główną formą zimującą jest w tym przypadku grzybnia znajdująca się w porażonych częściach rośliny.

Zarodniki wszystkich trzech gatunków pochodzące z liści trzymanyh w chłodni kiełkowały w granicach 75—87,6%.

#### WYNIKI I WNIOSKI

1. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że plantacje naparstnicy purpurowej (*Digitalis purpurea* L.) i naparstnicy wełnianej (*Digitalis lanata* Ehrh.) są porażone przez grzyby: *Colletotrichum fuscum* Laub., *Phyllosticta digitalis* Bell. i *Septoria digitalis* Pass.

2. Badane grzyby dają się względnie łatwo wyizolować i hodować na sztucznych podłożach.

3. Stwierdzono, że różnice we wzroście między poszczególnymi gatunkami, niezależnie od rodzaju podłoża, były dość wyraźne. Najlepiej rozwijała się *Phyllosticta digitalis* i to zaraz po zaszczepieniu. W czasie dalszych dni tempo wzrostu malało. Nieco słabszy wzrost cechował *Colletotrichum fuscum*. Najślabiej spośród badanych grzybów rosła *Septoria digitalis*. Powolny wzrost mógł być uwarunkowany właściwościami genetycznymi tego grzyba, bądź też nieodpowiednim składem pożywki.

4. Odpowiednio do tempa wzrostu poszczególnych gatunków stopień wykorzystania cukrów zawartych w pożywce był także różny. Doskonale przystosowanym do szybkiego wykorzystania cukrów okazała się *Phyllosticta digitalis*. Znacznie wolniejsze pobieranie zarówno glikozy, jak i fruktozy obserwowano u *Colletotrichum fuscum*. Najmniej cukru pobrała w czasie 25-dniowej hodowli *Septoria digitalis*.

5. Wykonane w czasie wzrostu pomiary odczynu pożywek wykazały w niektórych przypadkach dość znaczne odchylenia od odczynu wyjściowego; ogólnie można powiedzieć, że pod wpływem grzybów obniżał się on w kierunku większej kwasowości.

6. Optymalną temperaturą dla kiełkowania zarodników jest temperatura 23—25°C. W przypadku *Phyllosticta digitalis* dobre kiełkowanie obserwowano również w temperaturze 20°C.

7. Zarodniki konidialne *Phyllosticta digitalis* i *Septoria digitalis* zimujące na porażonych liściach wykazywały w końcu zimy dużą żywotność, której miarą był wysoki procent ich kiełkowania (37% i 25%). Zarodniki *Colletotrichum fuscum* były mniej żywotne i w ciągu zimy całkowicie traciły zdolność kiełkowania, jednakże, po przeniesieniu zimujących liści do odpowiedniej temperatury i wilgotności, tworzyły się na nich nowe zarodniki konidialne; można więc przypuszczać, że formą zimującą jest w tym przypadku grzybnia znajdująca się w porażonych częściach rośliny.

Katedra Farmakognozji  
Akademia Medyczna  
Warszawa, Kniewskiego 7  
Kierownik: Prof. dr J. Deryng

#### SUMMARY

The investigations aimed at establishing the biological properties of some fungi infecting the leaves of *Digitalis purpurea* L. Observations proved that plantations of *D. purpurea* L. and *D. lanata* Ehrh. are infected by the fungi *Colletotrichum fuscum* Laub., *Phyllosticta digitalis* Bell. and *Septoria digitalis* Pass. The fungi are easy to isolate and culture on artificial media.

The differences in growth between the particular species were, irrespective of the medium, rather distinct. *Phyllosticta digitalis* grew most vigorously immediately after inoculation. Later the rate of growth decreased. The growth of *Colletotrichum fuscum* was somewhat weaker. *Septoria digitalis* exhibited the least intensive growth.

The degree of utilization of the sugars contained in the medium also varied. *Phyllosticta digitalis* was well adapted to rapid sugar consumption. In *Colletotrichum fuscum* glucose and fructose uptake was much slower, and *Septoria digitalis* still less sugar in the course of the 25-day culture.

The pH of the media measured during growth showed in some cases rather

wide deviations from the initial reaction: it was lowered by the fungi to more acidic values.

It was noted that 23—25°C is the optimum temperature for spore germination (for *P. digitalis* also 20°C).

The conidial spores of *Phyllosticta digitalis* and *Septoria digitalis* hibernating on infected leaves exhibited high viability towards the end of winter (percentage of germinating spores 37 and 25%, respectively). The *Colletotrichum fuscum* spores were less viable and lost in the course of winter their germinating power, however, when the leaves were transferred to more favourable temperature and moisture conditions, new conidial spores formed on them. It is, therefore, probable that the hibernating form is the mycelium on the infected parts of the plants.

#### LITERATURA

- Agnihotri V. P., 1961 Studies on *Colletotrichum Capsici*. II. Carbon and Nitrogen requirements, *Phytopat. Z.* 42: 101—112.
- Allescher A., 1901, 1903, *Fungi imperfecti* in Rabenhorst Kryptogamen-Flora VI, VII. Abt., Leipzig.
- Arx von J. A., 1957, Die Arten der Gattung *Colletotrichum Cola*, *Phytopat. Z.*, 29: 413—468.
- Buchan J. L. and Savage R. I., 1952, Paper chromatography of some starch conversion products, *Analyst.*, 77: 401.
- Duff R. B. and Eastwood D. J., Use of the Arsenomolybdate Somogyi Reagent products, *Analyst.*, 77: 401.
- Duff R. B. and Eastwood D. J., 1950, Use of the Arsenomolybdate Somogyi Reagent in Quantitative Paper Chromatography, and its Application to the study of Sucrose Utilization by a Fungus, *Nature (London)*, 155: 848.
- Grave W. B., 1935, *British stem and Leaf Fungi*, Cambridge.
- Hais I. M., Macek K., 1958, *Handbuch der Papierchromatographie*. Jena.
- Jakubczyk H., 1962, Z badań nad pasożytnictwem *Colletotrichum atramentarium* występującego na pomidorach. I. Badania nad niektórymi właściwościami biologicznymi *C. atramentarium*, *Acta Agrobot.* 12: 207—230.
- Lilly V. G., Barnett W. L., 1959, *Fizjologia grzybów*, Warszawa.
- Linskens H. F., 1955, *Papierchromatographie in der Botanik*, Berlin—Göttingen—Heidelberg.
- Nelson N., 1944, A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose, *Jour. Biol. Chem.*, 153—375—380.
- Spilsburg G. F., 1953, Some fungus diseases of *Digitalis lanata*, *Transact. Brit. Myc. Soc.*, 36: 335—346.
- Tandon R. N. and Bilgrami K. S., 1959, The utilisation of monosaccharides by *Pestalotia banksiana* and *P. citri*, *Proc. Nat. Inst. (India)* 25: 138—142.
- Thind K. S. and Randhawa K. S., 1957, Studies on the nutrition of fungi I. III, *Proc. Nat. Acad. Sci. (India)* 27: 39—46; 28: 373—378.