

KRYSTYNA PRZYBYŁ

Bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Erwinia* izolowane z nekrotycznych plam kory i łyka dwóch klonów topoli *Populus 'Robusta'* i *Populus 'Serotina'* *

WSTĘP

W okresie ostatnich kilkunastu lat obserwuje się stały rozwój badań nad chorobotwórczymi bakteriami w patogenezie chorób topoli. Opisano wiele patogenicznych szczepów bakterii, które wywołują zmiany chorobowe w tkankach kory i łyka tych drzew. W swoich licznych pracach, wykonanych w Czechosłowacji, Urošević (1966, 1968a, 1968b, 1969, 1973) opisuje szczepy bakterii z rodzaju *Erwinia* Winslow i *Pseudomonas* Migula, przypisując im wybitne właściwości patogeniczne. Również w Polsce Danilewicz (1967) izolowała z kory i łyka chorych topoli patogeniczne szczepy bakterii zaliczane do wyżej wspomnianych rodzajów. Bakterie te mogą wywoływać samodzielnie lub z innymi mikroorganizmami na korze i w łyku topoli ciemne, mokre plamy, a w konsekwencji nekrozy, pęknięcia i raki zaatakowanych fragmentów drzew. Z takich chorych miejsc na topolach, przy stosowaniu różnych metod izolacji, za głównych sprawców tych chorób uważa się obecnie bakterie *Pseudomonas syringae* van Hall, *Erwinia cancerogena* n. sp. Urošević oraz *Aplanobacter populi* Ride (Lansade, 1946; Sabet i Dawson, 1952; Van den Ende, 1955, 1957; Ride, 1958, 1963; Mocanu i Poleac, 1965; Whitbread, 1967; Lange, 1968; Danilewicz i Siwecki, 1970; Gremmen i Koster, 1972; Gremmen i Kam, 1974; Urošević, 1973).

Podstawowym celem niniejszej pracy było taksonomiczne określenie szczepów bakterii wyizolowanych z nekrotycznych plam na korze i łyku *Populus 'Robusta'* i *Populus 'Serotina'*. Makroskopowe symptomy choroby na badanych klonach topoli zostały opisane przez Krzana (1977), który dokonał oznaczenia i opisu grzybów wyizolowanych z tych samych nekrotycznych plam na korze i łyku badanych topoli.

* Praca wykonana w ramach problemu węzłowego 10.2.10.

MATERIAŁ I METODY

Bakterie izolowano dwukrotnie jesienią 1975 r. i wiosną 1976 r. z nekrotycznych plam kory i łyka piętnastoletnich drzew *Populus 'Robusta'* i *Populus 'Serotina'*. Izolacji bakterii dokonano z różnych wysokości pni, pobierając inokula z kory i łyka na pograniczu tkanek zdrowych i chorych. Jesienią inokula nakładano na pożywki (Difco): maltozową (pH 5,5), słodową (pH 4,8) i ziemniaczaną (pH 5,6), a wiosną tylko na pożywkę YPG (ekstrakt drożdżowy, glukoza, pepton (Difco), agar pH 7,0 - 7,2) stosowaną do izolacji *Aplanobacter populi* — Gremmen i Koster (1972).

Przy wyodrębnianiu czystych szczepów wyizolowanych bakterii posłużono się metodą rozsiewu na płytkach Petriego z pożywką agarową. Na stwierdzenie cechy kwasooporności zastosowano tradycyjną metodę Grama, na obecność rzęsek barwienie według Graya (1926), a na wytworzenie otoczek barwienie metodą Anthony w modyfikacji Tylera. Na bulionie obserwowano 24-godzinną hodowlę w kropli wiszącej w celu stwierdzenia ruchliwości bakterii. Makroskopowy wygląd kolonii badano po dwóch dniach inkubacji w temperaturze 24°C, na pożywce w składzie: proteose pepton (Difco), glicerol, K₂HPO₄ bezw. MgSO₄ · 7H₂O, CaCl₂ · 6H₂O, agar, sacharoza przy pH 6,2, na podłożu YPG oraz na agarze odżywczym oddzielnie z sacharozą i glukozą w temperaturze 22 - 30°C (pH 6,8). Wytwarzanie barwnika badano na pożywkach King A i King B, a tlenowy rozkład glukozy na podłożu Hugh i Leifsona (1953).

Z właściwości biochemicznych zbadano rozkład skrobi, żelatyny, tween 80, wytwarzanie amoniaku, indolu, redukcję azotanów, testy na wytwarzanie oksydazy cytochromowej (metodą Kovacs w modyfikacji Gaby i Haydlea), katalazy, acetoiny (metodą Voges-Proskauer). Za pomocą testu z czerwiecią metylową określano typ fermentacji, stosując podłoże Clarca (pH 6,9). W identyfikacji bakterii pomocne były reakcje z monosacharydami, disacharydami, trisacharydami, alkoholami, jak sorbitol i mannitol. W tym przypadku zastosowano pożywkę mineralną o pH 6,9, do której dodawano oddzielnie sterylizowane cukry i alkohole (Danilewicz i Tomaszewski, 1971). Reakcje odczytywano dwukrotnie po dwóch i po siedmiu dniach inkubacji w temperaturze 22°C.

Zawiesinę 48-godzinnej hodowli bakterii obserwowano w mikroskopie elektronowym, przygotowaną według następującej metodyki: bakterie z kultury na pożywce z proteose pepton zostały bezpośrednio przeniesione do kropli 2-procentowego kwasu fosforowolframowego zobojętnionego ługiem potasowym. Po krótkim czasie część tak otrzymanej zawiesiny bakterii przenoszono na siatki pokryte błoną formwarową wzmo-

Zbadane właściwości morfologiczne i biochemiczne wyizolowanych bakterii

Morfologiczne i biochemiczne właściwości	Izolacja jesienna 1975 r.								Izolacja wiosenna 1976 r.					
	rodzaj: <i>Pseudomonas</i> Migula						rodzaj: <i>Erwinia</i> Winslow		rodzaj: <i>Pseudomonas</i> Migula				rodzaj: <i>Erwinia</i> Winslow	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		<i>Pseudomonas putida</i>		<i>Pseudomonas syringae</i>		grupa <i>Amylovora</i>		<i>Pseudomonas fluorescens</i>		<i>Pseudomonas syringae</i>		grupa <i>Amylovora</i>	
	A.145	B.160	A.107	B.135	A.132 I		6 a		13 B	9 C	14 A	7 A	12 A	17 A
	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>	<i>Robusta</i>	<i>Serotina</i>
Barwienie według Grama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ruchliwość	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urządzenie lofotrichalne	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Urządzenie peritrichalne	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
Fluorescencyjny pigment	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
Katalaza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
Hydrolyza skrobi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Upłynnienie żelatyny	+	+	-	-	-	+/-	-	-	+	+	+	+/-	+	+
Wytwarzanie amoniaku	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-
Tworzenie indolu	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
Redukcja azotanów	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- wykrywanie acetoiny	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxydaza cytochromowa	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Tween 80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinoza	-	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+
D (+) xyloza	+	+/-	-	+/-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Glukoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktoza	+	+	+	-	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+/-	+/-
Mannoza	+	+	+	+/-	+	+	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	+
Celobioza	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-
Laktoza	+	-	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-
Maltoza	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Trehaloza	+	+/-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Sacharoza	-	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	-	+	+	+	+
Raffinoza	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-
Ramnoza	-	+	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+/-
Levan z sacharozą	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-
Meso-inositol	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
Mannitol	+	+	+/-	+/-	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+/-	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+	-	-	+/-	+/-
D-L arginina	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
L-valina	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
King A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
King B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hugh i Leifson	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) reakcja pozytywna, (-) reakcja negatywna, (+/-) reakcja wątpliwa.

cnioną węglem. Po wysuszeniu oglądano preparaty w mikroskopie elektronowym marki JEM 76.

W doświadczeniach mających na celu stwierdzenie wytwarzania przez bakterię *Pseudomonas syringae* enzymów litycznych w stosunku do grzyba *Fusarium solani*, wyizolowanego również w dużych ilościach z nekroz kory i łyka tych samych topoli (K r z a n, 1977), opierano się na metodyce pracy opisanej przez D a n i l e w i c z (1975).

W celu stwierdzenia czy wyizolowane i oznaczone bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Erwinia* wywołują symptomy chorobowe przeprowadzono w warunkach szklarniowych i terenowych sztuczne infekcje jednorocznych sadzonek następujących topoli: *Populus balsamifera*, *P. maximowiczii*, *P. tacamahaca*, *P. 'Serotina'* i *P. 'Robusta'*. Zastosowano dwie metody infekcji: 1) nanoszono bakterie na świeżą ranę po uprzednim nacięciu pędu skalpelem, 2) 48-godzinną płynną hodowlą bakterii w bulionie spryskiwano młode rośliny topoli po uprzednim oderwaniu pojedynczych liści.

WYNIKI

W wykonanych badaniach wyizolowano i oznaczono trzy gatunki bakterii z rodzaju *Pseudomonas* Migula: *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* oraz jeden gatunek z rodzaju *Erwinia* Winslow grupy *Amylovora* (tab. 1).

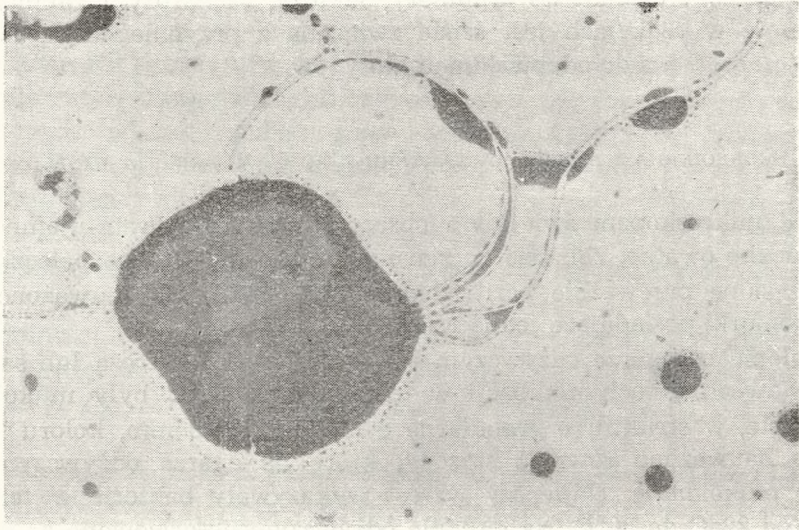
Jak wynika z tej tabeli nie wyodrębniono wiosną *Pseudomonas syringae* z klonu *Populus 'Robusta'* oraz nie stwierdzono szczepu z rodzaju *Erwinia* na klonie *Populus 'Serotina'*.

Na wszystkich wysokościach pni obu klonów, z których pobierano kawałki tkanek kory i łyka, obok wyżej wymienionych bakterii stwierdzono dyfteroidy, a drożdże wyizolowano z partii środkowych pni obu klonów topoli.

MORFOLOGIA I BIOCHEMIA BAKTERII Z RODZAJU PSEUDOMONAS

Bakterie gram-ujemne, w kształcie zakrzywionych lub wyprostowanych pałeczek, były urzęsione biegunowo-lofotrichalnie (ryc. 1A). Makroskopowo kolonie nie różniły się na podłożach: YPG, z proteose pepton i agarze odżywcym. Były one białoszare, przeźroczyste, wypukłe, z gładką powierzchnią i z równymi brzegami o średnicy 2 - 3 mm. Na bulionie odżywcym (pH 7,0), w temperaturze 27°C, w ciągu trzech dni obserwowano lekkie zmętnienie i tworzenie się delikatnej błonki. W przypadku gatunków *Pseudomonas syringae* i *Pseudomonas fluorescens* obserwowano na bulionie odżywcym słabo zielone zabarwienie.

Wszystkie izolowane gatunki z rodzaju *Pseudomonas* wytwarzały katalazę oraz rozkładały skrobię. Z wyjątkiem *Pseudomonas syringae* były oksydazo-dodatnie. Upłynnienie żelatyny było ujemne tylko w



A



B

Fot. F. Młodzianowski

Ryc. 1. A — bakterie z rodzaju *Pseudomonas* (5000×), B — bakterie z rodzaju *Erwinia* (2500×)

przypadku szczepów *Pseudomonas putida*, co jest jedną z charakterystycznych cech dla tego gatunku.

Reakcje na podłożach z cukrami i alkoholami były często wątpliwe. Szczepy *Pseudomonas fluorescens* wykazywały znaczne różnice w zacho-

waniu się w stosunku do arabinozy, laktozy, sacharozy i ramnozy. Ta zmienność w reakcjach jest ściśle związana z przynależnością *Pseudomonas fluorescens* do odpowiednich biotypów.

MORFOLOGIA I BIOCHEMIA BAKTERII Z RODZAJU ERWINIA WINSLOW

Pod mikroskopem świetlnym obserwowano małe gram-ujemne bakterie, lekko owalne, zbliżone do ziarniaków lub w kształcie pałeczki. Były urzęsione przeważnie peritrichalnie (ryc. 1 B), ale zauważono również komórki posiadające jedną rzęskę.

Kolonie na agarze odżywczym z 0,5-procentową glukozą lub sacharozą po dwóch dniach inkubacji w temperaturze 22°C były mukoidalne, kopulaste, w strukturze granularne o średnicy 1-3 mm, koloru kremowego. Zauważono również szczepy, które na agarze odżywczym były mniej mukoidalne. Najlepszy wzrost wykazywały bakterie w temperaturze od 22°C do 30°C. Na bulionie odżywczym obserwowano zmętnienie po 48 godzinach inkubacji w temperaturze 27°C. U wszystkich izolowanych szczepów tego rodzaju katalaza była dodatnia, a oksydaza cytochromowa — ujemna. Produkcja amoniaku była słaba lub obserwowano reakcje negatywne. Ujemny był test na wytworzenie indolu i tryptofanu, acetoiny — produktu pośredniego podczas fermentacji glukozy oraz test z czerwienią metylową. Wyizolowane szczepy również nie rozkładały skrobi, tweenu 80 oraz różniły się użytkowaniem D(+)-xylozy i maltozy. Podobnie jak w przypadku bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, reakcje z cukrami i alkoholami były wątpliwe. Zmienne były odczyny dotyczące upłynnienia żelatyny.

MYKOLIZA GRZYBA *FUSARIUM SOLANI*

W wykonanych doświadczeniach laboratoryjnych bakterie *Pseudomonas syringae* rozkładały strzępki grzybni *Fusarium solani* (ryc. 2C, D). Zauważono, że enzymy lityczne nie trawią grzybni całkowicie. Stwierdzono, że w warunkach niesprzyjających dla bakterii (wyczerpanie się składników pokarmowych w pożywce) pozostałe strzępki grzyba były zdolne do dalszego rozwoju.

SZTUCZNE INFEKcje

Czystymi oraz mieszanymi szczepami bakterii *Pseudomonas syringae* oraz *Erwinia* zakażano pędy oraz rozwinięte zrzesy wybranych topoli. Po dwóch miesiącach obserwacji nie zauważono na korze i łyku symptomów chorobowych w postaci brązowych wilgotnych plam.

DYSKUSJA WYNIKÓW

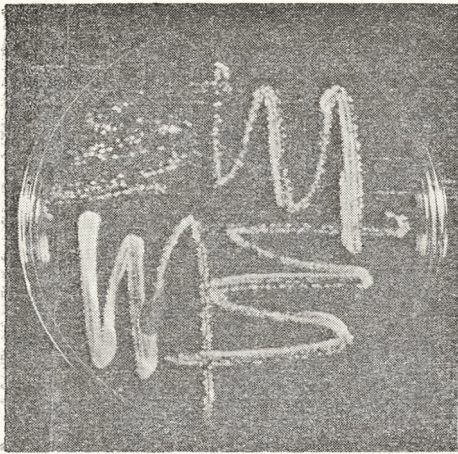
W niniejszej pracy przy oznaczaniu izolowanych bakterii opierano się na systematyce Bergeya (1974). Na podstawie morfologii i hodowli określano rząd, rodzinę i rodzaj, a na podstawie aktywności biochemicznej poszczególny gatunek bakterii (tab. 1).

Morfologia oraz właściwości biochemiczne wyizolowanych bakterii *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens* są zgodne z danymi literatury — Clancy (1974), Doudoroff i Paleroni (1974).

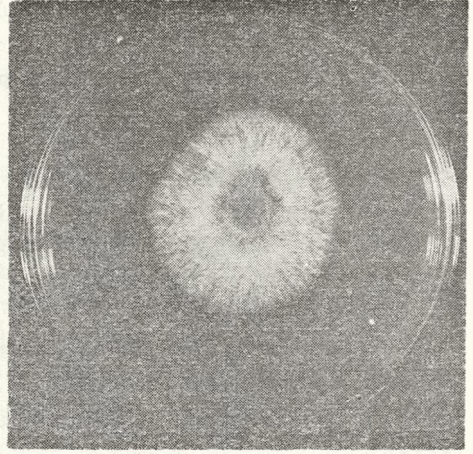
Zdolności *Pseudomonas syringae* do fermentacji cukrów były bardzo słabe. Stwierdzono je odnośnie do L-arabinozy, galaktozy, sacharozy, co częściowo zgodne jest z wiadomościami podanymi przez Uroševića (1973).

Bakterie z rodzaju *Erwinia* wyizolowane przez Danilewicz (1967) wytwarzały kwas i gaz z cukrów, chociaż w porównaniu ze szczepami izolowanymi przez Uroševića (1973) miały słabsze zdolności fermentacyjne. Jak wynika z tabeli 1 były różnice w szybkości zużytkowania cukrów przez wyizolowane szczepy z rodzaju *Erwinia*, co jest zgodne z pracą Billing i wsp. (1961) dotyczącej *Erwinia amylovora*. Wyizolowane szczepy *Erwinia* po 24 godzinach inkubacji rozkładały L-arabinozę, glukozę, trehalozę, sacharozę, ramnozę i mannitol. Natomiast zużytkowanie xylozy i maltozy było bardzo zmienne. Typowym przykładem jest szczep bakterii, oznaczony jako 6A (tab. 1), wyizolowany jesienią z *Populus 'Robusta'*, a dający ujemną reakcję z maltozą i xylozą. Szczepy wiosenne 12 A i 17 A izolowane z *Populus 'Robusta'* i *Populus 'Sertina'* rozkładały te same cukry.

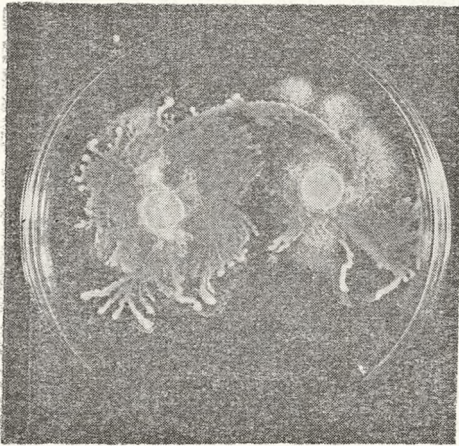
Danilewicz (1967) uważa, że za symptomy chorobowe charakteryzujące się tworzeniem pęcherzy i maceracją łyka są odpowiedzialne bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Erwinia*. Natomiast Urošević (1965) przypuszcza, że brązowe plamy występujące na korze topoli są wynikiem wspólnego działania tych patogenicznych bakterii. Z wielu przeprowadzonych badań nad *Pseudomonas syringae* wynika, że bakteria ta jest zdolna do tworzenia symptomów chorobowych charakteryzujących się zmianami w tkankach kory i łyka oraz na liściach topoli. Urošević (1968a) przypuszcza, że symptomy w postaci wilgotnych nekroz u topoli i brzozy są wynikiem działania bakterii zbliżonych lub identycznych z *Erwinia cancerogena*. Warto również wspomnieć o obserwacjach Haywarda (1974) oraz Camerona (1970) wykonanych na drzewach owocowych, z których wynika, że drzewa te mogą być zakażone pewnymi patogenicznymi bakteriami bez wystąpienia widocznych symptomów chorobowych. Wyżej wymienieni autorzy izolowali także bakterie z rodzaju *Pseudomonas* z drzew zdrowych lub z miejsc w znacznej odległości od chorych tkanek.



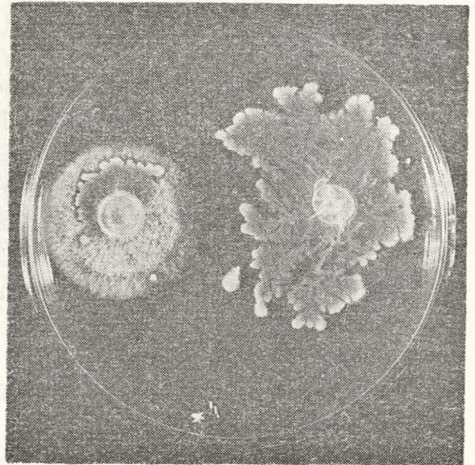
A



B



C



D

Fot. K. Jakusz

Ryc. 2. A — 48-godzinna hodowla bakterii *Pseudomonas syringae* na pożywce z proteose pepton, B — 5-dniowa hodowla grzyba *Fusarium solani* na pożywce mineralnej z maltozą, C, D — liza grzybnii *Fusarium solani* przez *Pseudomonas syringae* po pięciu dniach inkubacji w temperaturze 25°C

W wyniku przeprowadzonych badań przypuszcza się, że nekrozy u *Populus 'Serotina'* i *Populus 'Robusta'* nie wywołują wyizolowane i oznaczone bakterie rodzajów *Pseudomonas* i *Erwinia*. Tym bardziej, że z nekroz kory wyodrębniono patogeniczne grzyby, a szczególnie w dużej ilości grzyb *Fusarium solani* (K r z a n 1977). Otrzymane wyniki wskazują na wzajemne współdziałanie bakterii i grzybów prowadzące do powstania nekrotycznych plam. Urošević (1969), stosując sztuczne

infekcje mieszanymi kulturami bakterii i grzybów, otrzymał charakterystyczne nekrozy na jednorocznych sadzonkach topoli: *Populus 'Robusta'*, *P. 'Serotina'*, *P. 'Marilandica'*, *P. brabantica*.

Urošević (1969) oraz Danilewicz (1975) przedstawili także, laboratoryjne badania nad mykologiczną aktywnością patogenicznych bakterii wobec chorobotwórczych grzybów, jak np.: *Dothichiza populea*, *Phomopsis putator*, *Fusarium solani*, *Hypoxyylon* sp. W pracach tych udowodniono, że mykologiczna czynność jest zmienna w zależności od gatunku grzyba i składu odżywczych substancji w zastosowanych podłożach. Jak wynika z ryciny 2 C, D, w wykonanych badaniach również stwierdzono mykolizę grzyba *Fusarium solani* przez wyodrębniony szczep *Pseudomonas syringae*.

Doc. dr. F. Młodzianowskiemu z Uniwersytetu A. Mickiewicza w Poznaniu wyrażam serdeczne podziękowanie za wykonanie fotografii bakterii w mikroskopie elektronowym.

Instytut Dendrologii
Kórnik k. Poznania

LITERATURA

1. Billing E., Baker L. A. C., Crosse J., Garret C. M. E. — 1961. Characteristics of English isolates of *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. *J. Appl. Bact.* 24 (2): 195 - 211.
2. Cameron H. R. — 1970. *Pseudomonas* content of chery trees. *Phyt.* 60: 1343 - 1346.
3. Clancy C. F. — 1974. *Pseudomonas*. Handbook of microbiology. 230 - 233.
4. Danilewicz K. — 1967. Etiology of some bacterial diseases of poplar in Poland. I. Bacteriosis caused by *Pseudomonas* Migula and *Erwinia* Winslow. *Acta Microb. Pol.* 16: 73 - 81.
5. Danilewicz K., Siwecki R. — 1970. Bakteryjny rak topoli. *Sylwan* 6: 39 - 45.
6. Danilewicz K., Tomaszewski M. — 1972. Degradation of lignin by *Pseudomonas* Migula isolated from intestinal contente of *Paranthrene tabaniformis* Rott. *Acta. Microb. Pol.* 1: 37 - 46.
7. Danilewicz K. — 1975. An attempt to determine the resistance of poplars to infection by *Chondroplea populea* Sacc. (Kleb.) — *Dothichiza populea* Sacc. et Briard on the basis of composition of epiphytic bacterial microflora. *Acta Soc. Bot. Pol.* 2: 166 - 188.
8. Doudoroff M., Palleroni M. J. — 1974. Genus I *Pseudomonas* Migula. 1894. *Bergey's Manual of determinative bacteriology.* 217 - 243.
9. Gremmen J., Koster R. — 1972. Research on poplar canker (*Aplanobacter populi*) in Netherlands (part I). *Eur. J. of For. Path.* 2: 116 - 124.
10. Gremmen J., Kam MDe. — 1974. Research on poplar canker (*Aplanobacter populi*) in Netherlands (part II) *Eur. J. of For. Path.* 3: 175 - 181.
11. Hayward A. C. — 1974. Latent infections by bacteria. *Ann. Rev. Phyt.* 12: 87 - 97.
12. Krzan Z. — 1977. Mikroflora grzybowa z nekroz kory i łyka dwóch klonów topoli. *Arboretum Kórnickie* 22: 161 - 171.
13. Lange A. De — 1968. Pathogenesis of *Aplanobacter populi* in cuttings and explants of *Populus candicans*. *Mededeling No.* 70: 11 - 71.

14. Lansade M. — 1946. Recherches sur le chancre du Peuplier en France. *Annales des Epiphyties* 12: 23 - 29.
15. Mocanu V., Poleac E. — 1965. Cercetari privind boala bacteriana a patari si ulcerarri Scoartei plopului. = „Studii si Cercetari INCEF”, 25: 211 - 299.
16. Ride M. — 1958. — Sur l'étiologie du chancre suintant du peuplier. *CR. Acad. Sci.* 246; 2795 - 2798.
17. Sabet K. A., Dowson W. J. — 1952. Studies in the bacterial die-back and canker disease of poplar. *Ann. Appl. Biol.* 39: 609 - 615.
18. Urošević B. — 1966. Canker of poplars due to bacterium *Erwinia cance-rogena* n sp. *Lešnický Časop.* 12: 493 - 505.
19. Urošević B. — 1968a. Etiology of brown spotting disease of poplars and birchers. *Prace VULHM, svazek* 36: 103 - 117.
20. Urošević B. — 1968b. Pathogen causing bacterial canker of poplars and mutual relationship to associative microflora. *Prace VULHM, svazek* 35: 191 - 211.
21. Urošević B. — 1969. Mutual relationship of some phytopathogenic bacteria and semiparasitic fungi. *Lesnictvi*, 15, 11: 993 - 1000.
22. Urošević B. — 1972. Occurrence of Hypoxylon canker of poplars in the area of the CSRR. *Prace VULHM, svazek* 42: 121 - 128.
23. Urošević B. — 1973. A study on bacterial diseases of poplars. *Academia Praha, ročník* 83 (3).
24. Whitbread R. — 1967. Bacterial canker of poplars in Britain. I. The cause of the disease and the role of leaf — scars in infection. *Ann. Appl. Biol.* 59: 123 - 131.
25. Van den Ende — 1955. Verslag van het onderzoek naar de Poplierenkanker in 1952 en 1953, 1955, *Mededelingen van de Nederland*, 21: 6 - 33.
26. Van den Ende — 1957. Het onderzoek over de Populierenkanker veroorzaakt door *Pseudomonas syringae* Van Hall. f. sp. *populea* Sabet. *Mededeling*, 19: 527 - 533.

KRYSTYNA PRZYBYŁ

Bacteria from the genera Pseudomonas and Erwinia isolated from necrotic spots on the bark and phloem of two poplar clones Populus 'Robusta' and P. 'Serotina'

Summary

In the autumn of 1975 and in the spring of 1976 from 15-year old sick trees of *Populus 'Robusta'* and *P. 'Serotina'* bacteria were isolated from the genera *Pseudomonas*, *Erwinia*, the coryneform group and also yeasts. Macroscopic symptoms of the conditions on these two poplars have been described in detail by Krzan (1977).

The isolation of bacteria was made from various levels on the stem, from the region between sick and healthy tissues. Different media were used following spring and autumn isolations. In the autumn pieces of cork and phloem were placed onto a maltose, wart agar and potato (Difco) medium while in the spring the YPG (yeast extract, peptone (Difco), glucose, agar) medium was used. After having obtained pure cultures the biochemical and morphological properties of the bacteria were studied and they were identified as belonging to genera *Pseudomonas* and *Erwinia*. Strains within the species *Pseudomonas syringae* and *P. fluorescens* differed in their ability to utilize sugars and alcohols. In the

autumn *Pseudomonas syringae* was not isolated from *P. 'Robusta'* and the bacteria from the genus *Erwinia* were not found on the clone of *P. 'Serotina'*. From the spring isolations no bacteria of the species *Pseudomonas putida* were obtained.

Bacteria of *Pseudomonas syringae* form lytic enzymes relative to the fungus *Fusarium solani*, which was also isolated from the necrotic spots on these poplar clones. The mycellium was not digested completely since single hyphae were left capable of further development in conditions unfavourable for the bacteria.

It is suspected that bacteria, commonly believed to be the causative agents of the necroses on the cork and phloem of *Populus 'Robusta'* and *P. 'Serotina'* such as *Pseudomonas syringae* are less responsible than some fungal agents.

КРЫСТЫНА ПШИБЫЛ

*Бактерии родов Pseudomonas и Erwinia, изолированные
с некротических пятен коры и луба двух клонов тополей —
Populus 'Robusta' и P. 'Serotina'*

Резюме

Осенью 1975 г. и весной 1976 г. с пятнадцатилетних больных деревьев *Populus 'Robusta'* и *P. 'Serotina'* были изолированы бактерии родов *Pseudomonas* и *Erwinia*, дифтеронды и дрожжевые грибы. Макроскопические симптомы болезни этих клонов описаны К ж а н о м (1977).

Изоляты бактерий брались на разной высоте стебля, на границе здоровых тканей и больных. При осенней и весенней изоляции использовались различные питательные среды. Осенью кусочки коры и луба выкладывались на мальтозную, солодовую и картофельную (Difco) среды, в весной — на среду YPG. После получения чистых культур изучались биохимические и морфологические особенности бактерий, относимых к родам *Pseudomonas* и *Erwinia*. Штаммы видов *Pseudomonas syringae* и *P. fluorescens* различались по способности использовать сахара и спирты (табл. I, рис. I A, I B). Осенью *P. syringae* не был выделен с клона *Populus 'Robusta'*, а бактерии рода *Erwinia* не были обнаружены на клоне *Populus 'Serotina'*. При весенней изоляции не найдены бактерии *Pseudomonas putida*.

Бактерии *P. syringae* образуют миколитические ферменты, действующие на гриб *Fusarium solani*, также выделенный из некротических пятен этих клонов тополей. Мицелий не был переварен полностью, оставались единичные обрывки его, способные к дальнейшему развитию в условиях, неблагоприятных для развития бактерий (рис. 2 A, B, C, D).

Предположено, что такие бактерии, как *Pseudomonas syringae*, общепринято считаемые болезнетворными, в меньшей степени ответственны за возникновение некрозов коры и луба у *Populus 'Robusta'* и *Populus 'Serotina'*.

Вопросы, связанные с международными отношениями, являются одними из наиболее важных в жизни нашей страны. В настоящее время мы живем в эпоху, когда международные отношения приобретают все большее значение. Это связано с тем, что мир становится все более взаимосвязанным, а международное сотрудничество становится необходимостью для всех народов. Мы должны стремиться к тому, чтобы наши отношения с другими странами были основаны на взаимном уважении и сотрудничестве.

Вопросы, связанные с международными отношениями, являются одними из наиболее важных в жизни нашей страны. В настоящее время мы живем в эпоху, когда международные отношения приобретают все большее значение. Это связано с тем, что мир становится все более взаимосвязанным, а международное сотрудничество становится необходимостью для всех народов. Мы должны стремиться к тому, чтобы наши отношения с другими странами были основаны на взаимном уважении и сотрудничестве.

Вопросы, связанные с международными отношениями, являются одними из наиболее важных в жизни нашей страны. В настоящее время мы живем в эпоху, когда международные отношения приобретают все большее значение. Это связано с тем, что мир становится все более взаимосвязанным, а международное сотрудничество становится необходимостью для всех народов. Мы должны стремиться к тому, чтобы наши отношения с другими странами были основаны на взаимном уважении и сотрудничестве.

Вопросы, связанные с международными отношениями, являются одними из наиболее важных в жизни нашей страны. В настоящее время мы живем в эпоху, когда международные отношения приобретают все большее значение. Это связано с тем, что мир становится все более взаимосвязанным, а международное сотрудничество становится необходимостью для всех народов. Мы должны стремиться к тому, чтобы наши отношения с другими странами были основаны на взаимном уважении и сотрудничестве.

Вопросы, связанные с международными отношениями, являются одними из наиболее важных в жизни нашей страны. В настоящее время мы живем в эпоху, когда международные отношения приобретают все большее значение. Это связано с тем, что мир становится все более взаимосвязанным, а международное сотрудничество становится необходимостью для всех народов. Мы должны стремиться к тому, чтобы наши отношения с другими странами были основаны на взаимном уважении и сотрудничестве.