

ПОЉОПРИВРЕДА И ШУМАРСТВО

ОФГАН САВЕЗА ПОЉОПРИВРЕДНИХ ИНЖЕЊЕРА И ТЕХНИЧАРА ЦРНЕ ГОРЕ,
САВЕЗА ШУМАРСКИХ ИНЖЕЊЕРА И ТЕХНИЧАРА ЦРНЕ ГОРЕ И САВЕЗА
ВЕТЕРИНАРА И ВЕТЕРИНАРСКИХ ТЕХНИЧАРА ЦРНЕ ГОРЕ

ГОДИНА XII

ТИТОГРАД, 1966.

БРОЈ 3

Dr Milorad Mijušković
Zavod za unapređivanje poljoprivrede — Titograd

Prilog proučavanju *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., uzročnika antraknoze agruma

U V O D

Gajenje agruma u našoj zemlji ograničeno je uglavnom na obalni pojas južnog Primorja, od Ulcinja do Dubrovnika. Kako agrumi imaju posebne zahtjeve u pogledu klime, a zatim i u pogledu zemljišta (ocjednost i plodnost) i pošto je za njihovo uspijevanje u našim prilikama nužno navodnjavanje, oni se gaje samo na posebno pogodnim položajima. Velikih zasada ima malo, a najčešće se radi o malim voćnjacima podignutim oko kuća. To je razlog što je broj stabala još relativno mali (oko 100.000 u Crnoj Gori). Pojedinih zima, kao što je bilo 1962/63. godine, može doći i do masovnog izmrzavanja agruma. Jaki sjeverni vjetrovi, inače, skoro svake zime izazivaju opadanje lišća ukoliko agrumi nijesu zaklonjeni bilo prirodnim položajem bilo vjetrozaštitnim pojasevima.

Pošto su zemljišta u Primorju često zimi previše zasićena vodom a ljeti posušna, a uz to se minimalne temperature zimi ponekad spuštaju ispod kritične tačke za uzgoj agruma, u mnogim zasadima uticaj tih nepovoljnih uslova manifestuje se u nedovoljno jakoj vegetativnoj moći voćaka. U takvim uslovima one su podložne i jačem napadu nekih biljnih bolesti i štetočina. Jednu od najčešćih bolesti, koja se, u nas, manifestuje sušenjem vrhova mladara i pojavom mrlja na listovima u okviru kojih se tkiva suše, izaziva gljivica *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. U nekim drugim zemljama ova gljivica se može naći i na plodovima.

Bolesti i štetočine agruma kod nas su malo proučene. *C. gloeosporioides* je, inače, kao prouzročivač antraknoze agruma poznat u čitavom svijetu gdje se agrumi gaje. Uzima se, uglavnom, da je to tzv. »parazit slabosti«. Kako je utvrđeno (3) da kod ove gljivice mogu postojati rase razne virulentnosti, a pošto je njena pojava na agrumima u nas česta, smatrali smo za korisno da je detaljnije proučimo, na čemu smo radili od 1963—1965. godine

RASPOSTRANJENJE BOLESTI I NAPADNUTE BILJKE

Još 1949. godine utvrdili smo da se *C. gloeosporioides* sreće na agrumima duž čitavog crnogorskog Primorja (18). Kasnije smo, u okviru ovih proučavanja, utvrdili da je i u rejonu Dubrovnika situacija ista kao i južnije na Primorju. Kako se sjeverozapadno od Dubrovnika mogu naći samo pojedinačna stabla agruma (ako izuzmemo skorašnje zasađe u donjem toku Neretve), provjeravanje pojave ove gljivice na agrumima ograničeno je samo na područje od Ulcinja do Dubrovnika. Antraknoza je svuda nalažena, pri čemu su, po svemu sudeći, jače bila napadnuta stabla koja su gajena u nepovoljnim uslovima.

Rod *Citrus* obuhvata veliki broj vrsta, koje se gaje radi ploda, kao podloga za druge vrste, kao ukrasno bilje ili za dobijanje eteričnih ulja.

Iako nas ovdje interesuju prvenstveno one *Citrus*-vrste koje su najzastupljenije i od najvećeg ekonomskog značaja [pomorandža — *Citrus sinensis*; mandarina — *C. reticulata (nobilis)*; limun — *C. limonia*; citron — *C. medica* i grejpfrut — *C. paradisi*], ipak smo nastojali da utvrdimo da li u našim uslovima dolazi do pojave antraknoze i kod drugih *Citrus*-vrsta [npr. *Poncirus trifoliata*, *Citrus aurantium (bigaradia)*, *C. maxima* itd.], a isto tako i kod nekih srodnih rodova (*Severinia buxifolia*, *Chinoto myrthifolia*). Svuda duž Primorja konstatovali smo prisustvo antraknoze na vrstama koje se gaje zbog plodova, kao i na gorkoj narandži (*C. aurantium*). Ostale vrste su zastupljene uglavnom u kolekcionom zasadu Stanice za supropske kulture u Baru. I pored pažljivog pregleda i uzgoja na vještačkim podlogama, do sada nijesmo mogli utvrditi postojanje *C. gloeosporioides* na *Poncirus trifoliata*, *Severinia buxifolia* i *Chinoto myrthifolia*.

Iz literature (9, 12, 27) poznato je, inače, da *C. gloeosporioides* može napasti veći broj drugih biljaka koje nemaju nikakve botaničke srodnosti sa *Citrus*-vrstama (*Persea gratissima*, *Magnifera indica*, *Eriobotrya japonica*, *Oreodoxa regia*, a može se naći i na plodovima jabuka). Castellani (4) antraknozu rogača (*Cerantonía siliqua* L.) takođe pripisuje ovoj gljivici, dok Roger (20) kao biljke domaćine pominje još i *Passiflora spp.*, *Piper spp.* i *Ziziphus spp.*

IME I SISTEMATSKO MJESTO PARAZITA

Gljivicu *Colletotrichum gloeosporioides* najprije je opisao Penzig 1882. god. kao *Vermicularia gloeosporioides*. Kasnije, 1887, on ju je svrstao u rod *Colletotrichum*. Rolfs (23) dao je, 1904, opis gljivice na citrusima u Floridi. Clausen (6) je, međutim, 1912. utvrdio da antraknozu na *Citrus medica*, var. *acida*, izaziva jedna druga, vrlo slična gljivica — *Gloeosporium limetticolum*. On smatra da je Rolfs pomiješao dvije vrste i opisao ih kao jednu. Oštećenja na biljkama sasvim su slična kod obadvije gljivice, iako, kod napada *G. limetticolum* tkiva lista *C. medica* u okviru oboljelog dijela dobijaju izgled papirusa i naboraju se. Kao osobinu za razlikovanje dvije vrste, Clausen se koristio odsustvom seta kod *G. limetticolum*. Međutim, mnogi autori su kasnije utvrdili da je ovo nepouzdan elemenat, jer se sete i kod roda *Colletotrichum* u jednom slučaju javljaju, a u drugom ne. Pa i veličina i izgled spora, odnosno razlika u granulaciji plazme koja ih ispunjava, nije, prema Burger-u (3) konstantna osobina. Ovaj autor je utvrdio da kod *C. gloeosporioides* može postojati velika varijabilnost i da ta gljivica predstavlja, u stvari, jednu polimorfnu vrstu, sastavljenu od više sojeva.

Shear i Wood (25) dokazali su genetsku vezu roda *Colletotrichum* sa *Glomerella cingulata* Ston.) Sp. et. Schr. U razvojni ciklus ove vrste ušle bi brojne konidijske forme tipa *Colletotrichum* ili *Gloeosporium*. Burger (3) je dobio iz kulture *C. gloeosporioides* savršen oblik gljivice. To je postigao i Peyronel (21) u svojim proučavanjima na Siciliji.

Inače, kao uzročnik antraknoze na agrumima, pored dvije navedene vrste, pominje se i *Gloeosporium foliucolum* Nish., koja se razvija na *Citrus nobilis* var. *unshiu* (*Satsuma orange*) u Japanu (17).

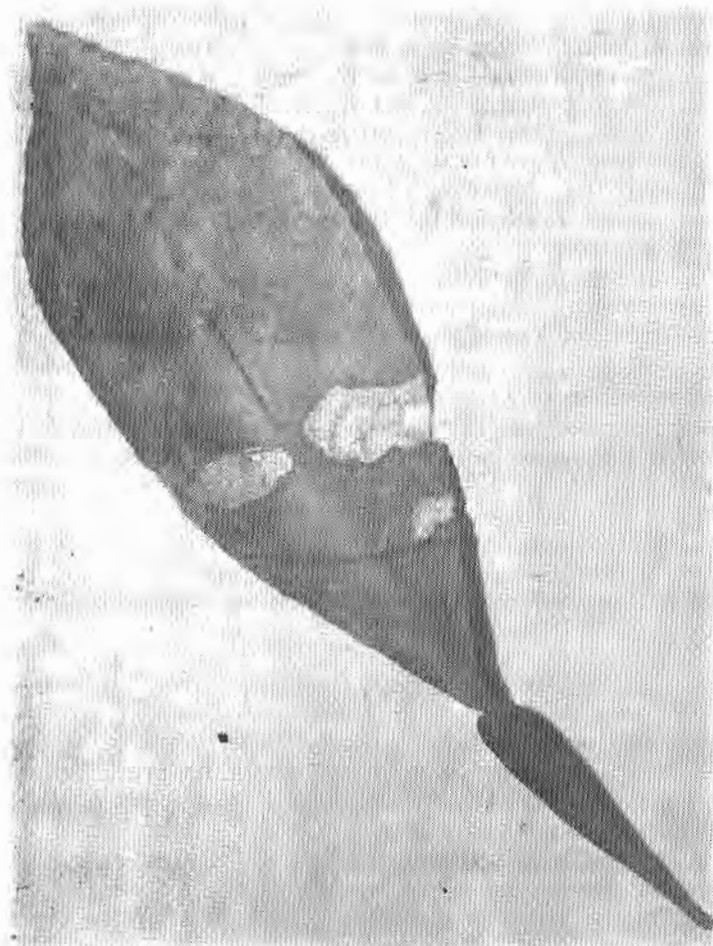
SIMPTOMI

Antarknoza agruma može zahvatiti lišće, grančice, grane i plodove. U našim uslovima uglavnom su napadnute grančice stare jednu do dvije godine, a najčešće vodopije i izmlatci iz stabla dok su listovi rjeđe zaraženi.

Na listovima, potpuno ili skoro potpuno razvijenim, dolazi do pojave pjega (leaf spot), koje su u početku svijetlozelene, ali uskoro potamne i tkivo se u okviru njih suši. Mrlje se obično javljaju na ivicama ili na vrhu lista, a rjeđe blizu središnjeg nerva. Acervule, u početku subepidermalne, izbijaju u obliku mrkih ili crnih pustula kroz epidermu na obje strane lista (sl. 1). Ukoliko je vrijeme vlažno, na njihovoj površini pojavljuje se rozikasta masa sporâ.

Na grančicama i granama agruma pojavu antraknoze prati sušenje vrhova (wither tip). Od zelene boje u normalnom stanju, oni postaju blijedozeleni ili žućkasti, a zatim blijedožuti ili

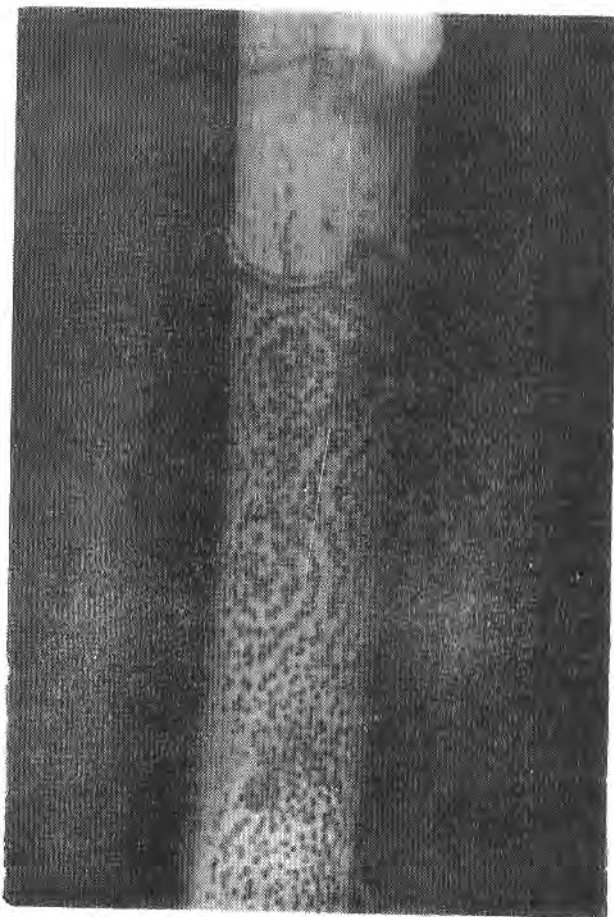
sivi. Najčešće je veći broj grančica na stablu napadnut, tako da ih je lako zapaziti. Dio grančice sa osušenom korom odijeljen je od zdravog dijela jednom jasno vidljivom linijom. Ona je obično upravna na osovinu grane, ali, ponekad, zavisno od unutrašnjeg prodiranja gljivice, može biti i kosa i neujednačena na raznim stranama



Sl. 1. *Colletotrichum gloeosporioides* na listu citrusa
La feuille de citrus attaquée par *C. gloeosporioides*

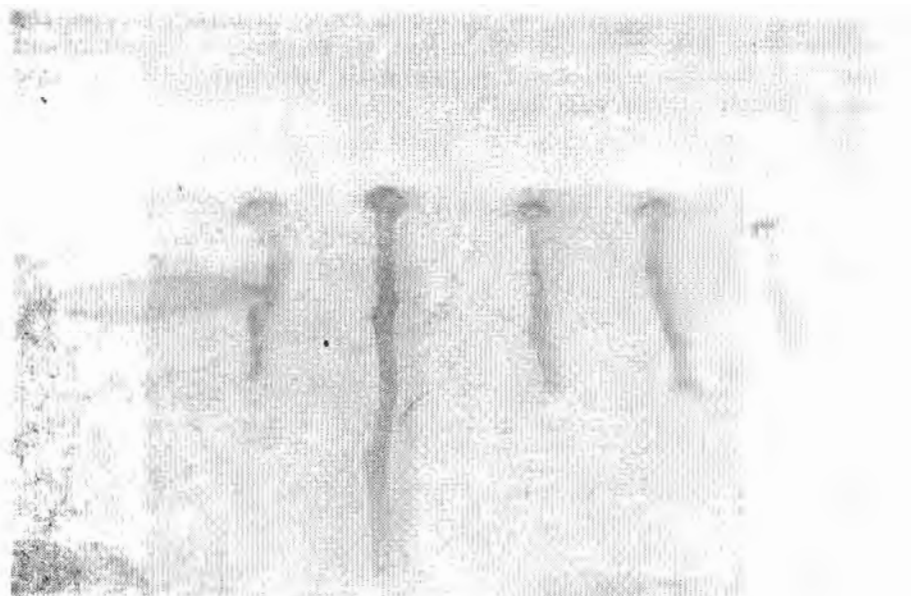
grančice. Pupoljci na oboljeloj grančici ginu, a lišće postepeno žuti i opada. Veće grane u izvesnim slučajevima pate, žute, gube lišće i najzad uginu. U takvim slučajevima, koji su u nas rjeđi (najčešće kod limuna) i plodovi mogu otpasti.

Na oboljelim grančicama pojavljuju se veoma brojne acervule, koje su ili ravnomjerno u obliku sitnih crnih ili mrkih tačkica raspoređene po čitavom osušenom dijelu, ili se, pak, u izvjesnim slučajevima, razlikuju pojedinačne manje ili više koncentrično raspoređene grupacije acervula (sl. 2).



Sl. 2. Antraknoza na grančici agruma
Anthracnose des citrus: une pousse desséchée

Iako se u literaturi pominje i pojava gljivice na plodovima agruma (10, 12, 17, 22, 26, 27), u našim dosadašnjim proučavanjima nijesmo uspjeli da sa sigurnošću utvrdimo napad *C. gloeosporioides* na plodove. Međutim, nailazili smo na pojavu acervula na drškama preuranjeno otpalih plodova. (Sl. 3).



Sl. 3. *C. gloeosporioides* na peteljka^{ma} plodova
C. gloeosporioides sur les pédoncules des fruits

MORFOLOŠKE, RAZVOJNE I EKOLOŠKE OSOBINE GLJIVICE

A. MORFOLOŠKE I RAZVOJNE OSOBINE

Radi morfološkog ispitivanja i provjeravanja eventualnog postojanja fizioloških rasa parazita, sakupili smo uzroke oboljelih listova i grančica citrusa sa područja crnogorskog Primorja i Dubrovnika. Morfološka proučavanja vršena su kako na sakupljenim uzorcima neposredno, tako i na izolatima čistih kultura koje smo dobili polazeći od tih uzoraka. Pri ovome smo vodili računa o mogućnosti postojanja izvjesnih razlika kako na izolatima iz prostorno udaljenijih mjesta, tako i o eventualnim razlikama vezanim za vrstu citrusa-domaćina.

Čiste kulture su uzgajane na krompir-agar podlozi na temperaturi 24°C. Dimenzije su u većini slučajeva utvrđivane na osnovu mjerenja 100 primjeraka.

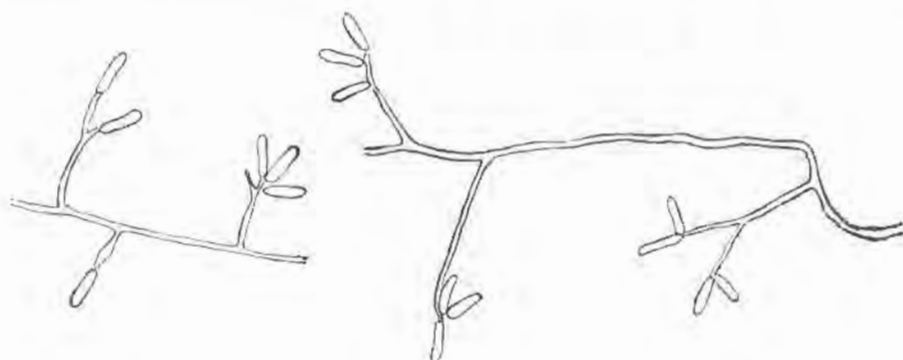
Micelija

Razvoj micelije praćen je u visećoj kapi i na kulturama zasijanim na krompir agaru (Kišpatić, 14).

Mlade hife su u početku hijaline. One su septirane, granuliranog ćeličnog sadržaja. Vremenom njihova opna postaje deblja a boja

tamnija. Debljina hifa kreće se obično oko 2,6—3,3 mikrona. Brojne hife stvaraju strome, koje kasnije evoluiraju u acervule ili, pak, ostaju u obliku nepravilnih stromatičnih tvorevina u kojima ne dolazi do stvaranja fruktifikacionih organa.

Proučavajući klijanje konidija ustanovili smo da kako dimenzije, tako i način rasta hifa zavise od položaja spore u kapi vode. Ako se hife razvijaju u uslovima tankog sloja vode (»filma«), onda je rast micelije brži, hife su izduženije i tanje. U takvim uslovima one se granaju i na vrhovima ogranaka daju mlade konidije. Hifa se normalno razvija dok svojim vrhom ne dođe u dodir sa staklom, odnosno drugim tvrdim predmetom, što izaziva stvaranje apresorija.



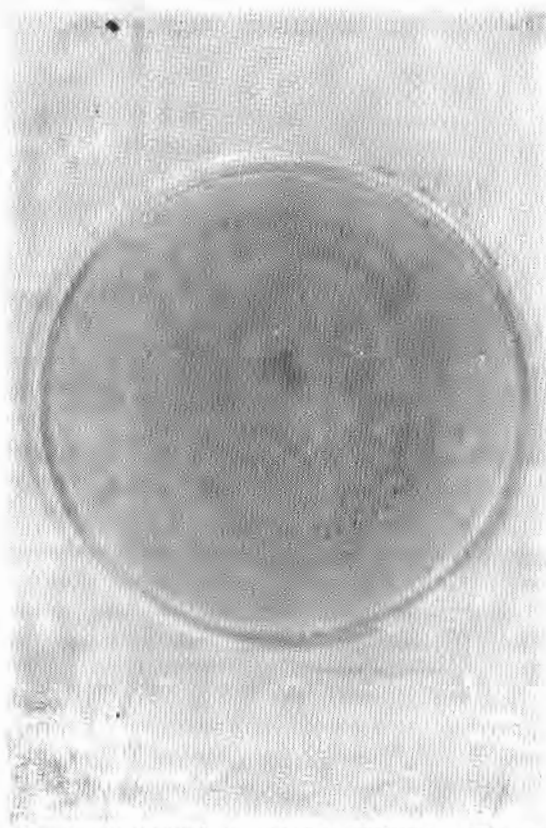
Sl. 4. Formiranje konidija na ogranacima micelije
Formation des conidies sur les ramifications de micelium

Ukoliko se slobodno razvija u kapi vode, hifa se poslije izvjesnog vremena grana. Ovi ogranaci se mogu, od svoje strane, završiti apresorijem ili će se, pak, na njihovim vrhovima stvarati mlade konidije. Do formiranja konidija dolazi obično već nakon 1—2 dana. Njihov broj je nešto veći kod nižih temperatura, a zapaženo je da se u velikom broju stvaraju naročito ako se sa niskih temperatura pređe na temperature oko 20—25°C. Konidije se stvaraju na vrhovima bočnih ogranaka micelije, ali i na tjemenom dijelu. One se veoma lako otkaače od ogranaka micelija na kome su nastala.

Do anastomoze hifa dolazi najčešće ako su konidije blizu jedna drugoj. Onda se, obično, sa jednog kraja prokljale konidije hifa spaja sa krajem druge još neprokljale konidije. Na taj način može nastati čitav lanac konidija. Dešava se, takođe, da iz konidije izbije bočna klica koja se spaja sa susjednom konidijom. Nešto duže hife anastomoziraju najčešće u slučaju ako se razvijaju paralelno. Onda se iz jedne ili obadvije hife stvaraju bočni ogranaci, koji ih spajaju.

Na vještačkim podlogama, već sutradan po zasijavanju, može se nazreti početak razvoja bijele micelije, sa prečnikom kolonije oko 2 mm oko mjesta inokulacije. Dan kasnije micelija već ima prečnik

oko 1 cm, bijela je i vazdušasta. Kada kultura dobije oko 4—5 cm u prečniku (što se obično dešava četvrog ili petog dana), u sredini počinje da tamni i prelazi u maslinastu boju, dok obod kulture i dalje izgleda bijel. Iza toga razvoj može biti različit: ili se sva kultura ravnomjerno razvija, dobijajući sivomaslinastu ili crnomaslinastu boju po čitavoj površini sa stvaranjem acervula i ružičastih masa spora, ili pak u razvoju micelije dolazi do izvjesnih zonalnih granica, tako da jedan dio šolje, u obliku isječka ili na drugi način (obično sa po-



Sl. 5. Neravnomjernost u razvoju kulture: pojava jednog slabije obojenog sektora, bez acervula
L'irrégularité du développement de culture: apparition d'un secteur moins coloré, sans acervules

četnom tačkom u centru kulture, a ponekad i prema periferiji) ostaje pretežno siv, dok drugi dio poprima tamniju boju (Sl. 5). U izvjesnim slučajevima dolazilo je i do izrazito koncentrične zonalnosti u razvoju, pri čemu su pojedinačni pojasevi bili sastavljeni iz brojnih

rozih pustula sa konidijama, dok su se u drugim slučajevima stvarale crne acervule.

Kako kod ove vrste mogu postojati varijacije u razvoju, to smo odgajili izolate dobijene sa raznih citrus vrsta i sorti i iz raznih mjesta. Svakodnevno su bilježeni podaci o razvoju kultura.

U najvećem broju slučajeva sve kulture su prepikirane pet ili više puta da bi se provjerila konstantnost utvrđenih osobina.

Ispitivani su sljedeći izolati:

- Br. 1 — »domaća« narandža iz Šušanja (list)
- Br. 2 — »domaća« narandža iz Šušanja (grančica)
- Br. 3 — gorka narandža sa Topolice (grančica)
- Br. 4 — mandarina Unshiu iz Šušanja (list)
- Br. 5 — Dancy Tangerine iz Šušanja (grančica)
- Br. 6 — Nazu-Mi-Can sa Topolice (grančica)
- Br. 7 — Klementina iz Šušanja (grančica)
- Br. 8 — Washington Navel iz Šušanja (grančica)
- Br. 9 — Marsh Seedless iz Šušanja (grančica)
- Br. 10 — Honi Can iz Šušanja (list)
- Br. 11 — Bella Donna iz Šušanja (grančica)
- Br. 12 — Narandža iz Herceg-Novog (grančica)
- Br. 13 — Narandža iz Tivta (grančica)
- Br. 14 — Narandža iz Čibače (grančica)
- Br. 15 — Limun iz Herceg-Novog (grančica)
- Br. 16 — Narandža iz Baošića (grančica)
- Br. 17 — Mandarina Unshiu iz Dubrovnika (list)
- Br. 18 — Mandarina iz Dubrovnika (grančica)

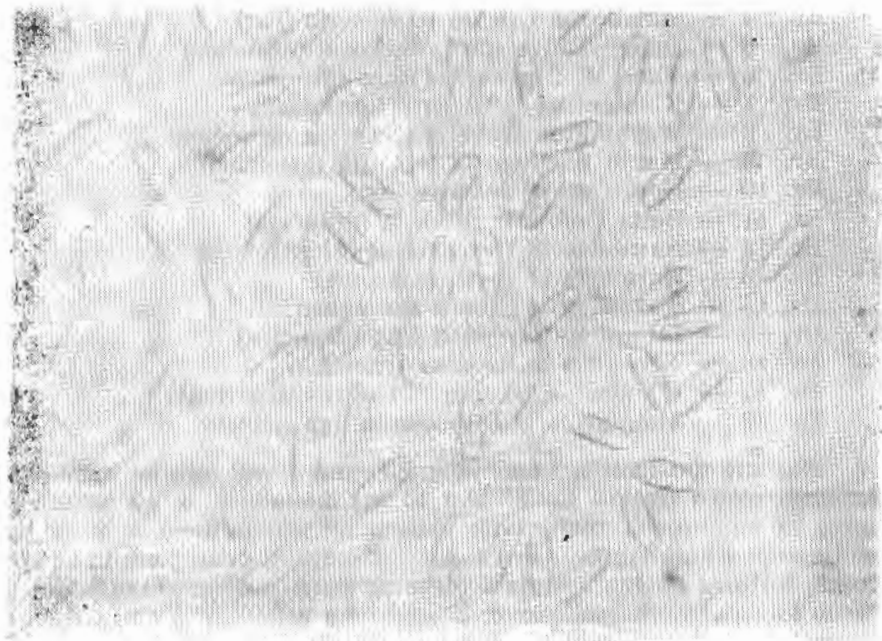
Najveći dio izolata imao je uobičajeni i već opisani razvoj na krompir-agaru. Izolati br. 8, 14 i 15 razlikovali su se od ostalih po tome što se, umjesto manje-više jednolično rasporedene sivocrne micelije, ispod koje izbijaju tu i tamo ružičaste ili crne pustule sa sporama, kultura obično sastojala (desetak dana poslije inokulacije) od jasno koncentričnih prstenova. U srednjem dijelu (ϕ 5 cm) smjenjuju se zone potpuno prekrivene narandžastim sitnim pustulama spora sa onima u kojima je bjeličasta micelija još vidljiva. Zatim dolazi prsten crnih pustula sa prljavobijelom micelijom, onda opet prsten rozih koje s jedne strane, prelaze u crne i najzad zona prljavobijele micelije. Ova uzgojna odlika zadržala se kroz više uzastopnih presijavanja. Ona bi ukazala na mogućnost postojanja različitih sojeva *C. gloeosporioides* na području južnog Jadrana.

Pored navedenih vršene su i druge izolacije, istina, sa drugim ciljem, ali je pri tome uzgred praćen i razvoj ovih kultura. Polazeći od spora od istog acervula (monokonidijske izolacije u ovom slučaju nijesu vršene) sa grane grejpfruta, pri uzastopnom presijavanju izgled kultura se prilično mijenjao. Pri trećem presijavanju micelija je postala izrazito crna a broj formiranih acervula se znatno smanjio, da bi pri posljednjem presijavanju sokro nestao.

Bez obzira na postojanje izvjesnih varijacija, najveći broj naših izolata mogli bismo uvrstiti u II grupu Burgerove klasifikacije (3).

Konidije

Kako je već rečeno, konidije se stvaraju na konidioforama na micelijima, ali se najveći dio njih formira u acervulama. Konidije su jednoćelične, hijaline, cilindrično-elipsoidalne, zaobljene na oba kraja, sa sitno granuliranim sadržajem (sl. 6). U masi ružičaste su boje.



Sl. 6. *C. gloeosporioides*: konidije
C. gloeosporioides: conidies

Zbog mogućnosti postojanja razlike u veličini konidija između pojedinih izolata različitog porijekla ili sa različitih vrsta citrusa, izvršili smo odgovarajuća provjeravanja. Tab. 1. prikazuje veličinu konidija kod uzoraka iz različitih mjesta, a tab. 2 dimenzije konidija iz kolonija sa hranljivih podloga, dobijenih polazeći od nekih od ovih istih uzoraka.

Kao što se vidi, postoje izvjesne razlike u dimenzijama konidija između raznih uzoraka kako u srednjim tako i u ekstremnim vrijednostima. Kod uzorka iz Tivta bilo je, međutim, izvjesnog odstupanja i u pogledu oblika konidija. Na vještačkoj podlozi, kultura dobijena iz Tivta nije sporulisala.

Tab. 1

Dimenzije spora *C. gloeosporioides* sa narandža iz raznih mjesta na Primorju (n = 100)

Dimensions des conidies de *C. gloeosporioides* sur les échantillons provenant de différentes localités

Lokalitet	Napadnuti organi	Dimenzije u mikronima					
			M±m	σ	v	max.	min.
Herceg-Novi	grančica	dužina	13,76±0,16	1,60	11,63	17,6	9,9
		širina	4,62±0,09	0,89	19,26	5,6	4,0
Baošići	grančica	dužina	14,63±0,15	1,49	10,16	18,5	11,6
		širina	4,42±0,06	0,60	13,62	5,9	3,3
Denovići	grančica	dužina	13,64±0,14	1,37	10,02	16,5	9,9
		širina	4,76±0,05	0,54	11,22	5,9	3,3
Denovići	list	dužina	14,07±0,11	1,14	8,05	17,2	13,2
		širina	4,21±0,07	0,70	16,43	5,9	3,3
Sutorina	list	dužina	13,88±0,12	1,21	8,72	18,2	12,5
		širina	3,76±0,04	0,38	10,13	4,9	3,3
Tivat	grančica	dužina	13,80±0,15	1,54	11,13	18,2	9,9
		širina	4,60±0,04	0,41	9,01	5,9	3,3
Dubrovnik	list	dužina	14,58±0,12	1,22	8,35	16,8	13,2
		širina	4,35±0,04	0,43	9,93	4,9	3,6
Dubrovnik	grančica	dužina	14,54±0,12	1,21	8,31	16,8	13,2
		širina	4,61±0,04	0,44	9,59	5,9	4,0
Čibače	grančica	dužina	13,75±0,15	1,47	10,65	18,2	9,9
		širina	4,39±0,04	0,44	9,91	4,9	3,3
Bar	grančica	dužina	14,37±0,15	1,54	10,70	18,2	11,2
		širina	4,28±0,06	0,60	13,53	5,9	3,3

Tab. 2

Dimenzije konidija iz kulture na krompir-agaru (n= 100)

Dimensions des conidies de *C. gloeosporioides* en culture artificielle

Lokalitet	Napadnuti organ	Dimenzije u mikronima					
			M±m	σ	v	max.	min.
Bar	grančica	dužina	13,76±0,10	0,96	7,00	16,8	12,2
		širina	4,38±0,06	0,55	12,64	5,9	3,3
Bar	list	dužina	13,74±0,12	1,17	8,52	16,8	11,9
		širina	3,85±0,04	0,37	9,72	5,0	3,3
Bar	grančica	dužina	14,80±0,15	1,49	10,06	18,2	12,5
		širina	4,33±0,08	0,76	17,49	6,6	3,3
Baošići	grančica	dužina	14,24±0,14	1,43	10,04	18,2	11,6
		širina	4,47±0,08	0,80	17,95	5,9	3,3
Herceg-Novi	list	dužina	15,36±0,11	1,10	7,17	17,2	13,2
		širina	5,81±0,05	0,49	8,40	6,6	5,0
Dubrovnik	list	dužina	13,78±0,14	1,35	9,77	18,2	11,6
		širina	4,88±0,10	0,95	17,47	6,6	3,3
Čibače	grančica	dužina	14,45±0,15	1,50	10,39	18,5	12,5
		širina	5,29±0,09	0,87	16,39	6,6	3,3

Varijacije takođe postoje i u pogledu prosječnih vrijednosti dimenzija konidija dobijenih u kulturama na hranljivoj podlozi (tab. 2) a isto tako i u poređenju sa odgovarajućim uzorcima uzetim u prirodi. Razlike su jače izražene kod ekstremnih vrijednosti: maksimalna širina konidija je u kulturama veća a, isto tako, i minimalne dužine konidija imaju nešto veću vrijednost.

Iz tab. 3, u kojoj su prikazane dimenzije spora na raznim citrus vrstama u Baru, vidi se da i ovdje postoje varijacije. Nešto krupnije spore su nađene na listu limuna mjesečara i na listu narandže *Washington Navel*.

Tab. 3

Dimenzije spora na uzrocima sa raznih citrus vrsta u Baru
Dimensions des conidies de *C. gloeosporioides* sur différents citrus, a Bar

Vrsta odnosno sorta	n		M±m	σ	v	max.	min.
Limun mjesečar	200	dužina	14,81±0,10	1,39	9,41	18,2	9,9
		širina	5,54±0,07	0,92	16,63	6,6	3,3
Limun mjesečar list	100	dužina	16,13±0,08	0,83	5,14	18,2	13,2
		širina	5,53±0,05	0,46	8,25	6,6	4,3
Nazumican	200	dužina	15,22±0,10	1,46	9,62	19,8	9,9
		širina	5,50±0,06	0,86	15,56	6,6	3,3
Gorka narandža	100	dužina	14,02±0,14	1,37	9,77	18,2	11,3
		širina	5,36±0,07	0,72	13,55	6,6	4,0
Grepfrut	100	dužina	14,75±0,14	1,40	9,45	18,2	11,6
		širina	5,57±0,06	0,63	11,30	6,6	4,3
Washington Navel	200	dužina	16,02±0,11	1,48	9,36	19,8	13,2
		širina	5,65±0,03	0,48	8,57	6,6	4,3

Varijacije u veličini spora utvrdili su i drugi autori. Penzig (12) je našao da dimenzije spora iznose 16—18 x 4—6 mikrona, dok bi, prema Rolfsu (23) njihova veličina bila 10—16 x 5—7 mikrona. Burger (3) je utvrdio da veličina spora može biti različita kod raznih izolata, pri čemu prosječna dužina spora kod nekoliko izolata varira od 11,5 do 20,3 a širina od 3,2 do 6,4 mikrona. Asthana (2) navodi kao dimenzije 8,46 x 4,13—7 mikrona (prosjeak 13,0 x 5,5). Peyronel (21) je našao da se dimenzije spora kreću od 14—22 (najčešće 16—20) x 5—7 mikrona a Dey (7) 14,4 x 4—9 mikrona.

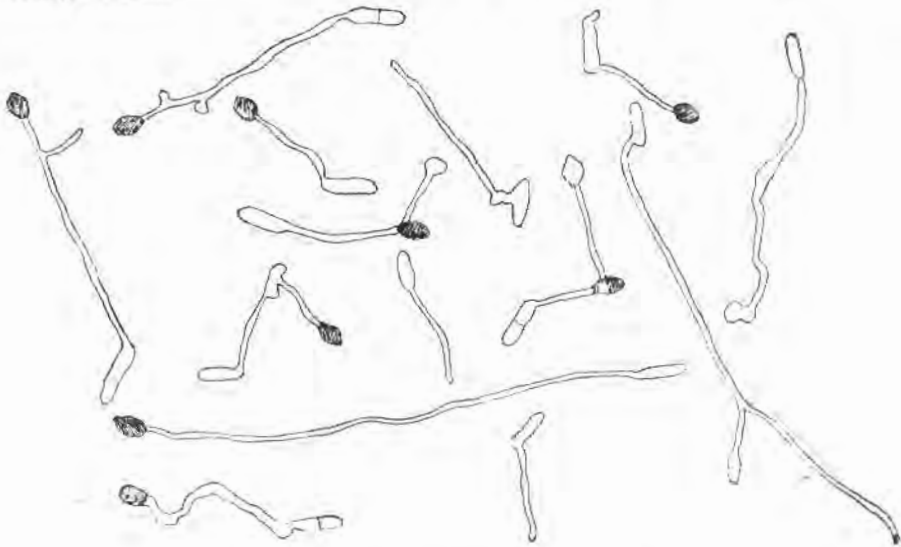
Dimenzije spora u našim uzorcima (9,9—19,8 x 3,3—6,6 mikrona) kretale su se u okviru vrijednosti koje navode i drugi autori.

Pri klijanju konidije trpe izvjesne promjene. One obično malo nabubre, postaju prozračnije, naročito na ekvatorijalnom dijelu, gdje se obično kasnije, kad sadržaj spore pređe u hife, jasno vidi jedna

pregrada (ili rijetko dvije) (Sl. 8). Konidija klija na jednom ili drugom vrhu, ili na obadva. Ponekad se desi da dođe do bočnog klijanja a rijetko da se, odmah po izlasku iz konidije, stvaraju dvije hife.

Konidiofore

Konidiofore su izduženo cilindričnog oblika, hijaline ili neznatno obojene, dimenzija 13—16,5 x 3,3—5 mikrona. Nastaju na jednoj crnoj stromi.



Sl. 7. Isključale konidije sa apresorijima
Les conidies germées et appressoriums

Apresoriji

Poznato je da gljivice iz roda *Colletotrichum* i *Gloeosporium* imaju osobinu da stvaraju posebne organe za prijenjanje kad klicin končić dođe u dodir sa tvrdom površinom. Kao što je pomenuto, ukoliko su konidije izolovane, a temperature u okviru normalnih za klijanje, klicin končić se razvija u obliku izdužene niti, koja se, prije ili kasnije (zavisno od toga da li će i kada u svom razvoju vrhom doprijeti do tvrdog predmeta) završava apresorijem (sl. 7 i 8). Ovi organi za atheziju služe da vežu gljivicu na površinu domaćina u prvom stadiju infekcije.

Dey (7) je dokazao da je formiranje apresorija na krajevima hifa koje su rasle u vodi vezano za mehanički stimulus, koji je rezultirao iz njihova dodira sa čvrstom površinom, koja je prepriječila njihov vršni porast. Pod sličnim stimulusom apresoriji nastaju i kod onih hifa koje su ranije aktivno proizvodile konidije.

Apresoriji postaju tako što se vrh hife, spriječen tvrdom površinom u porastu, vrlo brzo proširi u jedan mali mjehurić. U njemu se pojavljuje izvjestan broj uljanih globula, a na malom odstojanju pozadi njega formira se pregradni zid. Apresorij je obično kruškolikog oblika, u početku nezatno obojen, a kasnije mrk. Docnije se, obično pri njegovoj osnovi, pojavljuje nova hifa u koju prelazi sadržaj apresorija i koja osigurava dalji razvoj micelije.



Sl. 8. Istkljale konidije sa apresorijima
Les conidies germées et appressoriums

Proučavajući fiziologiju apresorija Dey (7) je našao da oni ne mogu da kličaju u čistoj vodi, već jedino u prisustvu hranljivih materija (rastvor glikoze, sok plodova nekih voćnih vrsta itd.). S tim u vezi, on je došao do zaključka da je za ostvarenje infekcije lista eitrusa potrebno da izvjesne materije iz lista stimulišu klijanje apresorija. Ovo je, prema Dey-u, moguće samo kod mladog lišća, jer je kutikula kod starijih listova deblja, i zato kroz nju ne mogu proći materije koje stimulatívno djeluju na klijanje apresorije. Suprotno ovakvim rezultatima Dey-a mi smo utvrdili da apresoriji mogu kličati i u čistoj vodi.

Tab. 4

Dimenzije apresorija pri klijanju konidija u vodi na 28°C
Dimensions des appressoriums à 28°C

	M±m	σ	v	max.	min.	n
dužina	8,68±0,25	1,34	15,86	10,6	6,6	30
širina	5,48±0,24	1,32	24,04	6,6	3,3	30

Acervule

Kao što je već rečeno, acervule se stvaraju kako na napadnutim organima biljaka, tako i u kulturi. One su nepravilno okruglastog oblika. Stvaraju se na stromi ispod epiderme, a dijelom izbijaju napolje. Po rasprskivanju epiderme, spore, koje se nalaze u želatina-
stoj masi, oslobađaju se pod djelstvom kiše. Čitavo dno acervule pokriveno je konidioforama na kojima se stvaraju konidije.



Sl. 9. Acervule gledane odozgo (jako uvećane)
Acervules vus à la loupe

Sete, za koje se ranije smatralo da čine karakteristiku ovog roda, samo smo izuzetno nalazili. Prema Peyronelu (21) postojanje seta ne predstavlja karakteristiku vrste, već bi bilo u uskoj vezi sa uslovima sredine. Sheare i Wood (25) i Burger (3) i neki drugi autori utvrdili su da do formiranja seta u kulturi dolazi zavisno od podloge. Ako bi tvrđenje Peyronela bilo tačno, sete bi nedostajale u mladim kulturama i na svježim i mekim podlogama, a formirale bi se samo na iscrpljenim podlogama, ili na onima koje su jako konzistentne. Dok na agariziranim podlogama Peyronel nije dobio acervule sa setama, u jednoj kulturi na djeliću drveta dobio je tipične sete. Singh i Sinha (26) takođe nijesu nalazili sete na plodovima citrusa ili u mladim kulturama, ali su utvrdili početak njihova formiranja kod kultura starih mjesec dana ili više. — U kulturama mi nijesmo nalazili sete ni u ovakvim uslovima.

Tab. 5

Dimenzije acervula sa oboljele grančice limuna (u mikrolima)
Dimensions des acervules sur une branche de citron (en microns)

Prečnik	M±m	σ	v	max.	min.	n
veći	226,55±3,57	35,71	15,78	315,6	142,0	100
manji	204,65±2,80	27,99	13,68	299,8	110,5	100

Prema Peyronelu (21) veličina acervula se može kretati od 100 do 500 mikrona, a prema Burgeru (3) 90—270.

Hlamidospore i peritecije

U našim proučavanjima nijesmo konstatovali formiranje hlamidospora a, isto tako, ni peritecija, i pored vrlo dugog čuvanja nekih kultura i njihove potpune iscrpljenosti.

B. UTICAJ EKOLOŠKIH FAKTORA NA RAZVOJ GLJIVICE

Od ekoloških faktora koji bi mogli biti od uticaja na razvoj *C. gloeosporioides* ispitivanjima su obuhvaćeni: uticaj vlage, uticaj aeracije na klijanje konidija, temperature, pH sredine i podloge. Ovi uticaji su, inače, kod ove gljivice bili dosta slabo proučeni.

Uticaj vlažnosti

Da bismo utvrdili koji je stepen vlažnosti potreban i dovoljan da bi nastalo klijanje konidija, najprije smo na flambirane mikroskopske pločice blago razmazili gomilice spora uzete iz kultura na krompir-agaru, stare 15 dana. Pločice smo zatim držali: a) u uslovima sobne vlažnosti (oko 50%); b) u uslovima zasićene vlažnosti (u Petri-šolji na vlažnom filter-papiru) i c) u kapi vode. Temperatura se pri prvoj probi kretala oko 25°C a pri slijedećim dvjema između 26° i 28°C. Kontrola klijanja vršena je poslije 24, 48 i 72 časa.

U uslovima niske vlažnosti nije uopšte dolazilo do klijanja. U vodi najveći broj spora je poslije 24 h bio isključivo po obodu kapi dok u unutrašnjosti kapi skoro, nije ni dolazilo do klijanja konidija. Slično stanje je bilo i poslije dva dana. U uslovima zasićene vlage vazduha, poslije 24 h bilo je nešto ispod 10% isključivih spora. Nakon dva dana procenat klijalih spora se nešto povećao ali je i dalje bio ispod 20%. Isključivale hife su jako porasle, počele su se granati a ponegdje i stvarati apresorije. Trećeg dana hife su bile duge i do 800 mikrona.

Kako je pri zasićenoj vlažnosti dolazilo do klijanja konidija, željeli smo da tačno utvrdimo kod kojeg stepena relativne vlažnosti vazduha počinje klijanje. Koristili smo se metodom Wahla (28), za koji smo smatrali da ima prednost nad ostalim sličnim metodama. U Petri-šoljama sa zasićenim rastvorom određenih soli, dobili smo 8 različitih vrijednosti relativne vlažnosti vazduha, od 76% do 98%. U posudi sa destilovanom vodom vlažnost je iznosila 100%. Temperatura je održavana na 23°C. Ogled je ponavljen pet puta. Nakon 24 h zapaženo je da je u šolji sa KNO_3 (94% vlažnosti) i K_2SO_4 (98% vlažnosti) došlo do klijanja samo nekolike spore (od velikog broja koji se nalazio na poklopcu) dok kod ostalih šolja uopšte nije dolazilo do klijanja. Hife su bile kratke (obično približno dužine spore, ali su izuzetno dostizale i desetostruku dužinu). Kod drugog ponavljanja broj klijalih spora bio je nešto veći pri vlažnosti od 98%, ali nije prelazio 5—10%. Poslije 48 časova u oba slučaja hife su već bile dugačke sa ramifikacijama na kojima su se pri 98% vlažnosti već formirale nove konidije. Poslije 72 sata zapaža se i formiranje apresorija.

Zanimljivo je da pri upotrebi prezasićenog rastvora $H_2CrO_4 \cdot 2H_2O$, koji je trebalo da osigura 96% rel. vlažnost vazduha, nije dolazilo do klijanja spora. Nijesmo ustanovili šta je tome bio uzrok.

Kao što se vidi, spore *C. gloeosporioides* počinju klijeti pri relativnoj vlažnosti vazduha od oko 94%. Procenat klijanja je neznan (ispod 1%) a zatim se sa podizanjem stepena vlažnosti povećava, da bi na 98% vlažnosti iznosio do 10%, a pri zasićenoj vlažnosti oko 20%.

Uticaj aeracije na klijanje konidija

Već pri prvim pokušajima utvrđivanja klijavosti spora ustanovili smo da je ona pod velikim uticajem prisustva vazduha. Kako je vrlo teško podesiti da ovaj faktor bude isti, to se, vjerovatno, izvjesne neravnomjernosti utvrđene pri ispitivanju uticaja temperature na brzinu klijanja spora mogu pripisati različitoj dostupnosti vazduha. Izgleda da je prisustvo vazduha značajnije u slučaju kad je suspenzija spora napravljena u destilovanoj vodi nego u rastvoru glikoze ili dekokcije lista limuna.

Utica j temperature

Utica j temperature na klijanje konidija

Klijanje konidija na raznim temperaturama ispitivano je u vi-sećoj kapi. Kao što smo vidjeli, na procenat klijanja utiče, pored os-talog, i dostupnost vazduha, te je klijanje na površini kapi za datu temperaturu bilo drukčije nego u unutrašnjosti. Zato smo nastojali da pri ispitivanju uticaja temperature odstranimo uticaj ovog fakto-ra na taj način što smo u svim slučajevima kontrolisali klijavost ko-nidija koje se nalaze u uporedivim uslovima, Ispitivanja su vršena na temperaturama: 5°, 7°, 11°, 16°, 21°, 24°, 26°, 28°, 30°, 34°, 37°, 38,5°, 40° i 42°C.

Kako smo pri prethodnim proučavanjima zapazili, klijanje ko-nidija može biti stimulirano prisustvom nekih materija. Zato smo proučavanje uticaja temperature kombinovali sa proučavanjem uti-caja ovakvih materija. Stoga su uporedo pravljene suspenzije spora u destilovanoj sterilnoj vodi, u 0,1% rastvoru glikoze i svježoj de-kokciji listova limuna dobijenoj kuvanjem 5 prosječnih listova u 0,5 litra vode. Rezultati tih proučavanja prikazani su u tabeli 6. Dobi-jeni rezultati predstavljaju zaokrugljenu srednju vrijednost iz tri ponavljanja.

Tab. 6

Klijanje konidija na raznim temperaturama i u raznim sredinama
Germination des conidies à des températures différentes et dans
les milieux différents

Tempe- ratura C	Proklijalo konidija u % (prosjek tri ogleda)											
	Destilovana voda				0,1% rastvor glikoze				Dekokcija lista limuna			
	nakon sati				nakon sati				nakon sati			
	5	10	24	48	5	10	24	48	5	10	24	48
5°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11°	0	2	19	45	0	0	6	64	0	0	9	98
16°	0	3	60	72	0	2	95	97	0	7	90	98
21°	5	21	77	80	2	46	98	99	3	40	90	92
24°	9	48	87	100	28	95	95	95	8	97	98	98
26°	17	22	57	56	10	92	97	100	15	59	83	89
28°	5	46	70	70	0	96	97	97	0	34	66	70
30°	1	50	65	65	0	99	100	100	1	33	83	85
34°	t	22	98	99	1	94	97	97	t	25	92	92
37°	1	10	36	36	2	33	90	90	t	46	90	90
38,5°	0	0	7	7	0	16	90	95	0	4	58	58
40°	0	t	1	2	0	0	33	42	0	0	21	21
42°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kao što se vidi, spore *C. gloeosporioides* klijavu u dosta širokim temperaturnim granicama (7°—41°) pri čemu mali broj spora klija u toku prvih 5 sati i to na temperaturi između 21° i 28°C.

Početak klijanja pri optimalnim temperaturama nastupa negdje poslije 4,5—5 sati od stvaranja suspenzije. Poslije 10 časova na temperaturi 24°, u rastvoru glikoze i dekokcije lista limuna isključuje oko 95% spora dok za isto to vrijeme u destilovanoj vodi isključuje oko 48% spora. Poslije 24 h već je uglavnom isključio čitav broj spora, jer se procenat isključivih na toj temperaturi ne mijenja bitno ni poslije 48 sati.

Klijavost spora se smanjuje na temperaturi od 37°, posebno u destilovanoj vodi, ali je u ostalim dvjema sredinama još vrlo visoka. Na 40° ona praktično prestaje u destilovanoj vodi (0—3%) dok se u rastvoru glikoze još uvijek zadržava do 40%. Dekokcija lista limuna donekle ubrzava klijanje na temperaturi ispod i iznad optimuma. Tako skoro 100% klijanje na 11° nastupa nakon 48 h dok je u destilovanoj vodi za to vrijeme isključilo samo oko polovinu spora.

Da bismo provjerili da li je procenat isključivih konidija na temperaturama izvan optimuma definitivno, poslije 48 časova držanja na određenim temperaturama, šolje sa preparatima su prenijete sljedeća 24 sata na 28°C. Pregledom je utvrđeno da su spore držane prethodno 48 časova na temperaturi od +5°, kroz sljedeća 24 sata klijale 100% u svim slučajevima. Isto se desilo ako su spore na istoj temperaturi prethodno držane 5 dana. Slično je bilo i kod preparata u rastvoru glikoze prethodno držanom na 37°C. Kod suspenzije spora držane na temperaturi od 40°, naknadnim držanjem na optimalnoj temperaturi procenat klijalih konidija popeo se: u destilovanoj vodi na 26%, u dekokciji listova limuna na 44% dok se u rastvoru glikoze ovaj procenat nije mijenjao.

Spore držane 48 časova na temperaturi od 42° definitivno su izgubile klijavost.

Na temperaturama nižim od onih koje omogućuju klijanje, kod konidija ne nastaju nikakve vidljive promjene i kasnije, ako se temperatura popne, normalno klijaju. Na visokim temperaturama, međutim, promjene kod konidija su jasno vidljive. One ne samo što povećavaju svoje dimenzije već, počev od 38°C, kod njih dolazi i do deformacija. I klijanje je u takvim slučajevima nenormalno: umjesto hife koja izbija na vrhu konidija, dolazi do izduženja tog vrha. Hifa je kratka i debela. Na temperaturi od 42°C konidije u izvjesnim slučajevima takođe bubre (u rastvoru glikoze) dok se inače češće dešava da na ovakvoj temperaturi gube svoj prirodni turgor i smežuraju se.

De y (7) je u laboratorijskim uslovima, na temperaturi koja se u toku dana pela do 26,5°C, poslije 10 h, na konveksnoj površini kapi vode, utvrdio da su konidije najvećim dijelom klijale. Na 30°C klijanje je bilo slabo dok je na 32°—35°C jedva dolazilo do klijanja. Ovi rezultati De y a razlikuju se, donekle, od onih koje smo mi postigli.

b. Uticaj temperature na razvoj hifa

Na brzinu rasta hifa znatno utiče temperatura. Npr., dok na temperaturi od 21—26°C već poslije pet časova hife dostižu dužinu spora, na 11° to biva tek poslije 24—48 časova. Slično je i sa temperaturama koje se dižu iznad optimuma.

Dimenzije hifa mjerene su kod svih temperatura na kojima je ispitivano klijanje konidija. Biometrički su obračunati podaci samo za izvjesne slučajeve. 24 časa poslije stvaranja suspenzije spora, na 11° hife dostižu dužinu oko 15 mikrona; na 16° dužina hifa je bila oko 50 mikrona; na 21° i 150 mikrona; maksimalni rast je zabilježen na temperaturi 24—28° (do 800 mikrona), a zatim, sa porastom temperature, opada, tako da na 32° iznosi samo oko 200 mikrona; na 37° dužina hifa za 24 sata dostiže 30—60 mikrona, 15—30 na 38,5°, a na 40° ispod 15 mikrona.

c. Uticaj temperature na razvoj gljivice u kulturi

Da bi se proučio uticaj temperature na razvoj gljivice, čiste kulture su uzgajane na krompir-agaru u Petri-šoljama Φ 9,5 cm na sedam raznih temperatura. Zasiyani su djelići iste čiste kulture, po tri šolje za svaku temperaturu. Razvoj je praćen svakodnevno u toku 20 dana. Rezultati su prikazani u tab. 7.

Tab. 7

Uticaj temperature na razvoj *C. gloeosporioides* na krompir-agaru
Influence de la température sur le développement de *C. gloeosporioides*
en cultures artificielles

	Poslije dana	Temperature C°						
		2—3°	14—18°	24°	26°	28°	30°	32°
Porast micelije u cm	2	—	—	2	2,5	2,5	2,5	0,5
	4	—	2,5	5,5	7	8	6,5	3
	6	—	4	9,5	9,5	9,5	9,5	5
	8	—	6					6
	10	—	8					7,5
	12	—	9					7,5
	14	—						7,5

Najbuži razvoj gljivica bio je na temperaturi između 24 i 30°C. Na 2°C nije uopšte dolazilo do razvoja, a na 32°C porast je bio usporen i kultura nije uspijevala da pokrije dno šolje ni poslije 20 dana.

Uticaj pH sredine

Uticaj pH podloge na razvoj *C. gloeosporioides* ispitivan je na bujonu od krompira, kod koga su vrijednosti pH podešavane pomo-

ću mlječne kiseline i NaOH. Dobijeno je sedam stupnjeva vrijednosti pH od 3 do 9. Za svaku vrijednost pH bile su po tri šolje. Šolje su držane na sobnoj temperaturi, koja se kretala od 22°—25°C. Razvoj je kontrolisan u toku mjesec dana. Ogljed je ponovljen dva puta.

Ova proučavanja su pokazala da se gljivica razvija kod svih ispitivanih vrijednosti pH. Do sporulacije je takođe dolazilo u svim slučajevima. Razvoj je, međutim, bio dosta spor i slab, nešto malo jači na pH 5—6.

Mjerenje vrijednosti pH bujona mjesec dana nakon razvoja gljivice pokazuje da ona znatno smanjuje aciditet supstrata, jer je u svih sedam slučajeva bio doveden na vrijednosti oko pH 8.

Uticaj hranljivih podloga

Za ova proučavanja koristili smo se sljedećim podlogama: 1. krompir-agarom (po Langeronu, 16); 2. šargarepa-tragom (po Langeronu); 3. krompir-agarom (po Kišpatiću, 14); 4. šljivinim agarom (po Kišpatiću); 5. Sabouraudovom podlogom; 6. Langeronovom podlogom i 7. prokuvanim listom narandže.

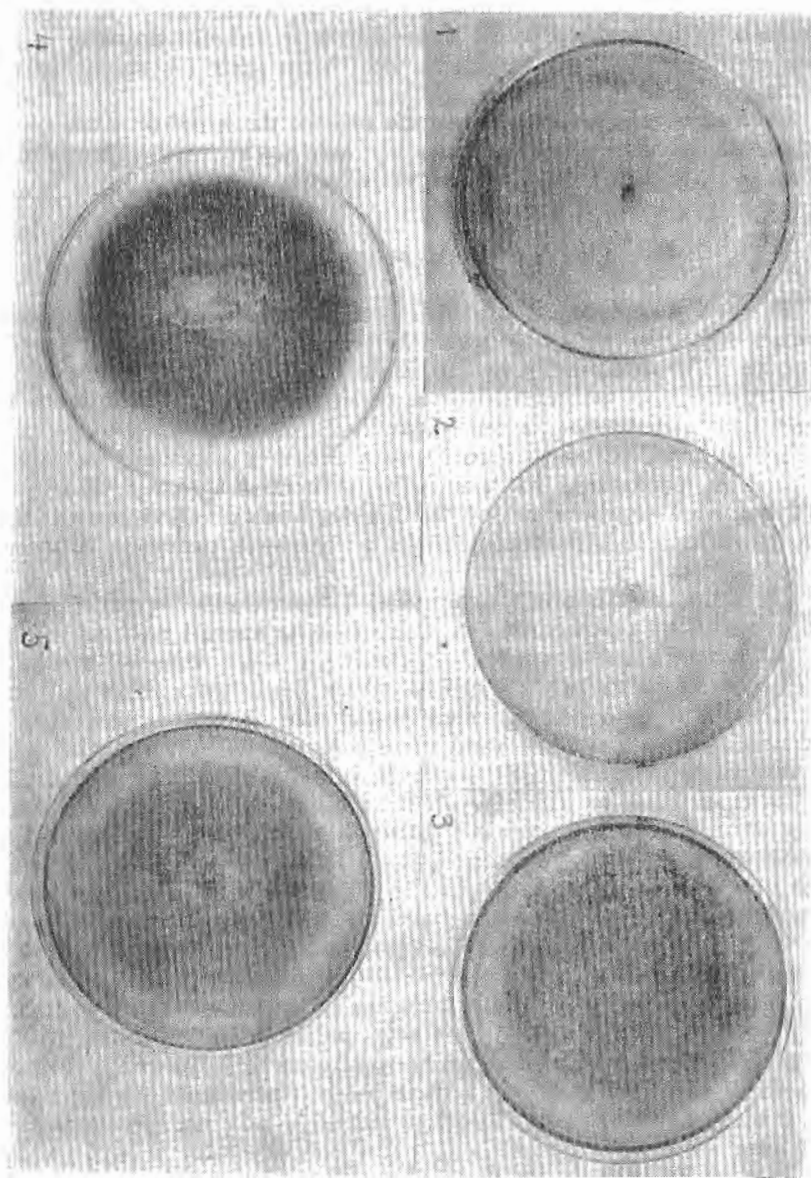
Ispitivanja su vršena nanošenjem acervila na hranljive podloge, odnosno na prokuvani list narandže, u Petri-posudama. Kulture su odgajivane na temperaturi od 24°C u termostatu. Brzina rasta kolonija, promjene u njihovom izgledu i stvaranje acervula praćeni su svakodnevno.

Ne uzimajući u obzir prokuvani list narandže, najbrži rast kolonija bio je na podlogama br. 3, 5 i 6, a najsporiji na podlozi br. 1. Na podlozi br. 1, a donekle i na podlogama 2 i 4 micelija nije bila vazdušasta. Pojava rozih kapljica spora i acervula zapažena je šestog dana kod svih podloga sem podloge br. 5, kod koje je bio najbrži razvoj micelije, a acervule su se pojavile tek osmog dana.

Pigmentacija kolonija takođe je bila različita. Desetog dana po zasijavanju, kada su kolonije obično pokrile čitavo dno šolje, na podlozi br. 1, micelija je ostala i dalje slabo razvijena i malo obojena. U pogledu pigmentacije slično je bilo i kod podloge br. 2. Kod kulture br. 3, u centralnom dijelu (2—3 cm ϕ) bilo je mnogo kapljica sa sporama, poslije toga dolazi prsten prljavosivocrne micelije i po obodu prsten bijele micelije. Kod podloge br. 4 u sredini je bila jedna nepravilna plaža sa već prorijeđenom micelijom, na čijoj se spoljnoj ivici nalazilo lanac rozih kapljica sa sporama. Okolo je bila micelija zelenkastosive boje i na kraju jedan bezbojni oreol. Kolonija na podlozi br. 5 imala je uglavnom bijelosivu boju svoje dobro razvijene micelije, osim oboda koji je bio bijelorožikast. Izgled kolonije br. 6 bio je sličan sa br. 5, ali je micelija bila manje vazdušasta i više siva.

Razvoj na obarenom listu narandže imao je drukčiji hod. Na njemu je razvoj površinske micelije ograničen. Obično četvrtog dana dolazi do pojave vrlo brojnih rozih kapljica sa sporama.

Ova proučavanja su pokazala da se *C. gloeosporioides* bolje razvija na nešto bogatijim podlogama, naročito u pogledu sadržaja šećera.



Sl. 10. Razvoj *C. gloeosporioides* na raznim podlogama
Developpement de *C. gloeosporioides* sur differents milieux nutritifs

PATOLOŠKE OSOBINE GLJIVICE

U pogledu patogenosti *C. gloeosporioides* Penz., podaci koje daju razni autori ne slažu se. To bi moglo biti i normalno, jer, kao što je utvrdio Burger (3), kod ove vrste može postojati veliki broj rasa, čija virulentnost takođe može biti različita (Fabricatore, 10), a zavisila bi kako od uslova sredine, tako i od biljaka domaćina.

Kako je pojava *C. gloeosporioides* u nas dosta česta, nastojali smo da utvrdimo kako se ponašaju sojevi ove gljivice koji se nalaze na agrumima na južnom Jadranu. Radi toga smo vršili vještačke infekcije polazeći od izolata iz Bara i Herceg-Novog, služeći se suspenzijom spora starih oko 10 dana, dobijenim iz acervula razvijenih na prokuvanom listu limuna. Upotrebljavana je veoma koncentrovana suspenzija, mlječnog izgleda. Kapi suspenzije spora postavljane su bakteriološkom omčom na određena mjesta na listovima i grančicama, a oni su zatim držani pod staklenim zvonom ili izolovani polietilenskim kesama za vrijeme potrebno da se ostvari infekcija. Vlažnost je održavana pomoću filter-papira koji je jednim krajem bio zamočen u posudu sa vodom.

Infekcije su pokušavane kako na zdravim listovima i grančicama, tako i na ožiljku od peteljke lista po njegovom uklanjanju i na povrijeđenim dijelovima grančice. Prije izvršene inokulacije listovi i grančice su oprani vodom, zatim je izvršena površinska dezinfekcija 0,1% rastvorom živinog bishlorida, a potom su ponovo temeljito isprani običnom i destilovanom vodom.

Infekcije su obavljane na više načina, kako bi se mogao dobiti zaključak o stepenu virulentnosti gljivice:

1. Infekcija mladog i starijeg lišća na otkinutim grančicama držanim slobodnim krajem u vodi.

Deset jednogodišnjih grančica limuna otkinuto je i stavljeno u posude sa vodom. Na svakoj od njih na opisan način inficirana su po tri lista dok su na lišće druge dvije grančice postavljene kapi destilovane vode. Da bi se održavala potrebna vlaga, grančice su držane ispod zvona, na čiju je jednu unutrašnju stranu bio pričvršćen komad upijaćeg papira, koji je donjim dijelom ležao u posudi sa vodom. Temperatura se kretala oko 17—20°C.

Druga serija od deset grančica, na isti način inficirana, držana je u termostatu na temperaturi od 24°C.

I u jednom i drugom slučaju, bilo da se radi o inficiranim ili kontrolnim grančicama, lišće je obično poslije nekoliko dana otpadalo. Ono je prethodno izmijenilo boju, ali je zadržalo skoro normalnu konzistenciju. Do opadanja na njemu se nijesu primjećivali sigurni znaci antraknoze. Opalo lišće je stavljeno u Petri-posude na

vlažni filter papir i držano u termostatu na 24°C. Na nekim od ovih listova u ovakvim uslovima došlo je do fruktifikacije gljivice. Na listovima koji su poticali sa kontrolnih neinficiranih grančica nije bilo znaka zaraze. Približno isti broj uspješnih infekcija bio je ostvaren sporama sa izolata iz Bara i Herceg-Novog.

2. Infekcija otkinutih grančica državnih u posudi sa vodom

Inokulacija je vršena kako na vrhovima zdravih, tako i namjerno ozlijeđenih grančica. Od deset grančica u ogledu infekcija je uspjela u dva slučaja. Tri dana po inokulaciji na ožiljku otkinutog lista u jednom slučaju pojavila se bjeličasta micelija. Dva dana kasnije pojavile su se ružičaste kapi sa sporama. Od vršnog ožiljka naniže tkivo dobija mrku boju na dužini od oko 1 cm. Dvanaest dana poslije inokulacije oko 8 cm ove grančice već je bilo obuhvaćeno micelijom i u stadiju sušenja. U drugom slučaju zaraza je zahvatila samo povrijeđeni vrh grančice.

3. Infekcija otkinutih listova držanih na vlažnoj podlozi u Petri-posudi.

Otkinuti listovi limuna, pošto su na uobičajeni način oprani i dezinfekovani, stavljeni su u sterilisane Petri-šolje, u kojima je na dnu, radi održavanja vlage, usuto malo vode. Temperatura je održavana na 24°C.

Infekcija je izvršena suspenzijom spora. Poslije 5, 24, 36 i 48 časova sa lista su ispiranjem otklonjene spore, a zatim i svaki trag vode.

Na listovima na kojima je samo pet sati bila suspenzija spora, u toku narednih 20 dana nije bilo znaka zaraze. U ostalim slučajevima infekcija je uspijevala samo na oko 30% listova. Porijeklo spora ni ovdje nije bilo od uticaja.

4. Infekcija svenulog lišća

Kada su isti listovi, na kojima infekcija u gornjem slučaju nije uspjela, nakon 25 dana ponovo inficirani, na njima je, pet dana kasnije, došlo do pojave acervula.

5. Infekcija prokuvanog lišća

Prokuvani listovi limuna, oprani i dezinfekovani na opisani način, inficirani su suspenzijom spora i držani u Petri šoljama na temperaturi 24°C. Četvrtog dana po inokulaciji u svim slučajevima došlo je do pojave rožih kapljica i acervula sa sporama.

6. Infekcija mladog i starijeg lišća i grančica na biljkama gajenim u saksiji

Da bismo provjerili patogenost gljivice na biljkama koje se razvijaju u normalnim uslovima, inficirani su listovi i vrhovi grančica limuna starih oko 6 godina, gajenih u saksijama. Suspenzija je bakteriološkom omčom postavljena na određena mjesta kako na starijim, tako i mlađim listovima, s lica i naličja. Po izvršenoj infekciji grančice su izolovane celofanom. Vlažnost je osiguravana pomoću filter-papira čiji je jedan kraj zalazio u izolacionu kesu a drugi bio potopljen u posudu s vodom, pridržavanoj pomoću metalnog stakla na potrebnoj visini. U ovakvim uslovima suspenzija se nije osušila za najmanje 24 časa. Temperatura se kretala oko 25°C. Ni poslije 25 dana nijesu zapaženi nikakvi simptomi zaraze *C. gloeosporioides*. Nakon toga jedan dio inficiranih listova i nekoliko kontrolnih ubran je i ostavljen u Petri-šolje na vlažnom filter-papiru. Drugi dio listova ostavljen je na grani. Ni u jednom ni u drugom slučaju kasnijom kontrolom nije se mogla utvrditi pojava *C. gloeosporioides*.

Ovi rezultati su provjereni novom serijom oglada u jesen 1964. god. Sijanci gorke narandže posađeni su u saksije, u svakoj po tri biljčice. U jednom broju saksija inficirana su po tri vršna lista na svakoj biljci, u drugom po dva lista i ožiljak od jednog otkinutog lista, u trećem su ozlijeđeni vegetativni vrhovi i na njih stavljena kap sa suspenzijom spora dok je četvrti dio predstavljao kontrolne biljke sa kojima je na isti način postupljeno, osim što je umjesto suspenzije spora upotrijebljena destilovana voda. Ukupno je u ogledima bilo 12 saksija sa 36 biljaka. Sve saksije su držane u plitkim posudama sa vodom i pokrivene staklenim zvonom, koje je kod polovine saksija skinuto poslije 24 a kod druge polovine nakon 48 sati.

Petnaest dana poslije inokulacije nije došlo do pojave simptoma antraknoze. Tada je otkinut po jedan list sa po četiri biljke iz svake grupe i držan u Petri-šoljama (sa malo vode na dnu) u termostatu na temperaturi 24°C. Daljim praćenjem, ni na ovim listovima kao ni na onim na biljkama, nijesu se mogli zapaziti znakovi bolesti.

Slični ogledi ponovljeni su u proljeće 1965. Cilj je bio da se provjeri da li će infekcija uspjeti na sasvim mladom lišću, koje tek počinje da se razvija, i na nježnim vrhovima grančica. Zato su, na isti način kao u prethodnom slučaju, na svakoj biljčici inficirani po dva mlada i jedan stariji list. Infekcija nije uspjela ni u jednom slučaju.

Kao što se vidi, infekcija listova i grančica agruma suspenzijom spora *C. gloeosporioides* u eksperimentalnim uslovima nije uvijek bila ostvarljiva, bar kad je riječ o zdravim biljkama, dok su listovi i grančice koje su bile ubrane, kao i listovi u fazi uvenuća, u većini

slučajeva pokazivali znake uspjele infekcije, a u povoljnijim uslovima vlažnosti dolazilo je i do fruktifikacije gljivice. To je redovno bio slučaj kod prokuvanih listova. Inkubacija je bila kratka, svega 3—5 dana. U našim ogledima, pod istim uslovima, nije bilo ni razlike u osjetljivosti mladih i starijih listova.

I neki drugi autori navode da su pri vještačkim infekcijama često dobijali negativne rezultate. Dey (7) nije uspio da izvrši infekciju zrelog lišća, već jedino sasvim mladog, što on dovodi u vezu sa nesposobnošću apresorija da klijaju bez prisustva stimulativnih materija koje bi postojale samo na mladom lišću. Međutim, mi smo, s jedne strane, utvrdili da apresoriji mogu klijati i u čistoj vodi a, s druge strane, nijesmo uspjeli da inficiramo zdravo mlado lišće. C. O. Smith i C. N. Jensen (cit. prema Clausenu, 6) takode nijesu uspjeli da ostvare ni jednu uspješnu infekciju zdravih biljaka. Clausen (6) je takode sa *C. gloeosporioides* dobijao negativne rezultate, dok je *Gloeosporium limeticolum* (gljivica koju je izdvojio kao posebnu vrstu) uvijek bio izrazito patogena prema *C. aurantifolia*. Nasuprot ovome, Asthana (2) navodi da su na vještački inficiranim granama trogodišnjih narandži zapaženi tipični simptomi wither tipa poslije četiri nedjelje. Singh i Sinha (26) dobili su pozitivne rezultate pri infekciji kako listova tako i grančica i plodova grejpfruta. Površinske povrede na licu lista prije inokulacije dovode do pojave nepravilnih pjega, dok inokulacija bez povrede izaziva mrlje jasnih ivica. Infekcija grančica bolje uspijeva ako je bila porvijeđena, ali i kod nepovrijeđenih grančica oko 33% inokulacija izaziva wither tip. Suspenzija spora na kori nepovrijeđenog ploda, prema ovom autoru, ne izaziva nikakvu infekciju, dok zaraza uspijeva u 100% slučajeva ako je prethodno kora ostrugana.

Bez obzira na različite rezultate u vezi sa infekcijama citrusa, većina autora smatra da je *C. gloeosporioides* nedovoljno agresivan da bi izazvao oboljenje na zdravim citrusima, ukoliko se oni gaje u normalnim uslovima. Petri (19) je na Siciliji konstatovao da se *C. gloeosporioides* razvija samo na organima u propadanju, često na onima koji su oštećeni vjetrom, pri čemu se prodiranje micelije ograničava samo na dio tkiva koji se nalazi u nenormalnom stanju, dok zdrava, normalna tkiva, reaguju formiranjem jednog sloja plute ili, u slučaju kad se radi o drvetu, aktivnim formiranjem tila. Prema ovom autoru, uzrok pojave bolesti na Siciliji trebalo bi tražiti, pored ostalog, i u nedostatku kreča u zemljištu.

Roger (22) smatra da je antraknoza ozbiljna bolest agruma, jer se skoro neizbježno javlja čim biljke dođu u stanje fiziološke oslabljenosti, makar ona bila i prolazna. Prema ovom autoru *C. gloeosporioides* ne bi trebalo smatrati samo kao parazita slabosti, jer se on, prema nekim osjetljivim vrstama citrusa ponaša kao pravi parazit.

Humme (27), Peyronel (21), Fawcett (12) i neki drugi autori smatraju da je najčešći uzrok pojave *C. gloeosporioides*

oslabljenje biljke usljed hladnoće, vjetrova, prevelike insolacije ili napada drugih bolesti ili štetočina. Gurnoza na nekalempljenim agrumima mogla bi biti jedan od takvih uzroka. Fawcett (12) takođe smatra da neka od vrlo jakih oštećenja u vezi sa antraknozom naranđi i grejpfruta u Floridi može biti u zavisnosti od kombinovanog djelovanja gljivice koja izaziva antraknozu i drugih gljivica, kao što su *Diplodia natalensis* Pole-Evans i *Phomopsis citri* Faw. Inokulacijama je dokazano da je kombinovano djelovanje ovih gljivica štetnije nego svake od njih posebno. Prema Mülleru (cit. prema Viennot-Bourginu, 27) antraknoza citrusa na Javi manifestuje se u zasadima koji pate od duge suše ili na stablima koja rastu na nepropustljivom zemljištu. Klotz (15) je zapazio da jače strada dio drveta okrenut jugu i jugozapadu. On izvodi zaključak da prerano kretanje vegetacije usljed naglog otopljenja vremena, dok još korijenov sistem nije počeo drvo snabdijevati vodom, može dovesti do predispozicije za oboljenje.

Naša proučavanja pokazuju takođe da je patogenost *C. gloeosporioides* u našim uslovima mala, odnosno da se on ponaša isključivo kao »parazit slabosti«. Dosta česta pojava antraknoze na našem Primorju naročito na vrhovima grana, a posebno kod vodopija, može se tumačiti njihovom osjetljivošću zbog nedovoljnog zdrvenjavanja prije nastupanja zimskih mrazeva. Tako oslabljena tkiva, čak i kad nijesu sasvim stradala od mraza, podložna su infekciji. Osjetljivost u nekim slučajevima svakako mogu pojačati i drugi faktori, kao što su jaka suša ljeti ili suvišna voda zimi.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobijenih proučavanjem *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, kao uzročnika antraknoze agruma, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. *Colletotrichum gloeosporioides* često se javlja na agrumima na našem Primorju; rasprostranjen je svuda tamo gdje se agrumi gaje.

2. Antraknoza, koju izaziva ova gljivica, najčešće zahvata vrhove grančica, ali i listovi i peteljke plodova mogu biti napadnuti. Na oboljelim organima citrusa pojavljuju se brojne acervule a zahvaćeni dio tkiva se suši.

3. Sve vrste citrusa koje se gaje radi plodova, kao i gorka naranđi, mogu biti napadnuti ovom gljivicom. Antraknoza nije ustanovljena na *Poncirus trifoliata*.

4. Do sporulacije gljivice dolazi na ograncima micelije, ali naročito u acervulama. Konidije iz acervula oslobađaju se pod djelovanjem kiše.

5. Dimenzije konidija se kreću od 9,9—19,8 x 3,3 — 6,6 mikrona, konidiofora 13,2—16,5 x 3,3—5,0 a acervula 140—315 x 110—300.

Sete se u prirodi mogu naći samo izuzetno a u kulturi nijesu nikad zapažene. Takođe nikad nije zapaženo ni formiranje peritecija.

6. Dimenzije konidija sa biljaka domaćina kod ispitivanih uzoraka iz raznih krajeva variraju i u prosječnim i u ekstremnim vrijednostima. Odstupanja postoje i u prosječnoj veličini konidija kod ovih izolata gajenih na krompir-agaru i kod konidija dobijenih iz acervula sa raznih citrus-vrsta iz istog mjesta.

7. Iako se pri uzgoju na krompir-agaru moglo utvrditi da postoje izvjesne razlike u izgledu kolonija kod izolata razne provincije, ipak bi se najveći dio njih mogao svrstati u II grupu *Burgetove* klasifikacije.

8. Konidije *C. gloeosporioides* mogu klijeti počev od 94% relativne vlažnosti vazduha, ali je procenat klijanja značajniji tek na 98% vlažnosti.

9. Klijanje konidija veoma je uplivisano prisustvom vazduha.

10. Konidije *C. gloeosporioides* klijavu u dosta širokim temperaturama granicama (11°—40°C). Početak klijanja na temperaturi između 21° i 28°C nastaje poslije 4—5 sati. Na tim temperaturama za 24 sata isključuje čitav broj klijavih spora, jer se procenat isključalih ne mijenja ni poslije 48 sati.

Na temperaturama nižim od onih koje omogućuju klijanje, konidije ne trpe vidnije promjene i, kasnije, ako se temperatura popne iznad donje granice, normalno klijavu. Konidije držane 48 sati na 42°C definitivno izgube klijavost. Procenat klijavih spora kod maksimalnih temperatura veći je u 0,1% rastvoru glikoze ili u dekokciji lista citrusa nego u destilovanoj vodi. Ove materije takođe ubrzavaju klijanje kod optimalnih temperatura.

11. Gljivica u kulturi se najbrže razvija na 26°—28°C.

12. Pri dodiru vrha hife sa čvrstom podlogom, a kao rezultat ovog mehaničkog stimulusa, stvaraju se apresoriji, kao athezioni organi. Suprotno nalazima nekih autora, mi smo utvrdili da apresoriji mogu klijeti i u destilovanoj vodi.

13. Za razvoj gljivice najbolje odgovara vrijednost pH 5—6. Ona znatno smanjuje aciditet supstrata, jer je sve vrijednosti pH od 3—9 svodila, poslije mjesec dana, na vrijednosti pH 8 približno.

14. Uticaj hranljivih podloga na razvoj *C. gloeosporioides* može biti znatan. Gljivica se bolje razvija na bogatijim podlogama.

15. Vještačke infekcije kako mladog tako i starijeg lišća i grančica uspijevaju samo onda ako je njihova vegetativna moć oslabljena.

Izmjena boje tkiva na oslabljenim inficiranim organima, pri optimalnim temperaturama, vidljiva je već poslije dva dana, a do sporulacije dolazi četvrtog ili petog dana.

Rezultati naših istraživanja dozvoljavaju da se zaključi da se *C. gloeosporioides* u našim uslovima ponaša kao izraziti »parazit slab-

sti«. Dosta česta pojava antraknoze na agrumima na našem Primorju vjerovatno bi najčešće bila posljedica infekcije grančica koje ne uspiju da se dovoljno zdrvene prije mrazeva, a zatim, u nekim slučajevima, ljetnja suša, suvišak i stagnacija vode u zemljištu u toku zime, mogli bi oslabiti biljku i učiniti je podložnom napadu gljivice.

L I T E R A T U R A

1. Arx, J. A.: The species of the genus *Colletotrichum* Cda. *Phytopath. Z.*, 29, 4, 1957.
2. Asthana, R. P.: Latent wither tip infection on Citrus. *Proc. Indian Acad. Sci., Sec. B*, XXIV, 5, 1946.
3. Burger, O. F.: Variations in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Jour. Agr. Research*, 20, 1921.
4. Castellani, E.: L'antracnosi del Carrubo. *Riv. Agric. Subtrop. Trop.*, XLII, 4—6, 1948.
5. Chevogeon, J.: Sur l'existence chez les plantes arbustives d'affections cryptogamiques à temps de latence indéfini. *C. R. Acad. Sci.*, 244, 20, 1957.
6. Clausen, R. E.: A new fungus concerned in wither tip of varieties of Citrus medica. *Phytopathology*, 2, 1912.
7. Dey, P. K.: Studies in the Physiology of the appressorium of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ann. Bot.*, 47, 1933.
8. Dufrenoy, J.: Déperissement des rameaux de Cédraiers attaqués par le *Colletotrichum gloeosporioides* en Corse. *Rev. Path. Veg. Ent. Agr.*, XIV, 3, 1927.
9. Dufrenoy, J.: Récents travaux relatifs au *Glomerella cingulata* et à sa forme conidienne: *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ann. Cryptog. Exotiques*, 1929.
10. Fabricatore, J. A.: L'antracnosi dell'Arancio. *Ann. Sper. Agr.*, N. S., 8, 1, 1954.
11. Fawcett, G. L.: Citrus diseases of Florida and Cuba compared with those of California. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bul.*, 262, 1915.
12. Fawcett H. S.: Citrus diseases and their control., Sec. ed., New York and London, 1936.
13. Horne W. T.: Notes on some tropical antracnose. *Phytopathology*, 1926.
14. Kišpatić, J.: *Fitopatološki priručnik*, 1950, Zagreb.
15. Klotz, L. J.: Citrus twig die back. *Calif. Citrog.*, XXXIII, 9, 1948 (in *R. A. M.*, 12, 1948).
16. Langeron, M., Vanbreuseghem R.: *Précis de Mycology*, 1950, Paris.
17. Lee, H. A.: A disease of Satsuma and Mandarin orange fruits caused by *Gloeosporium folicolum* Nishida. *Philipp. Jour. of Science*, XXII, 1923.
18. Mijušković M.: Neke bolesti i štetočine agruma na Crnogorskom primorju. *Zaštita bilja*, 19, 1953.
19. Petri L.: Ricerche sulle cause del disseccamento dei limoni in provincia di Messina. *Bol. R. staz. Pat. veg. Roma*, N. S., VI, 1926.
20. Petri L.: Ulteriori osservazioni sul disseccamento dei limoni in provincia di Messina. *R. Staz. Pat. veg. Roma*, 1926.
21. Peyronel B.: *Studio morfobiologico e sistematico di un fungo parassita dei limoni nel Messinese: Colletotrichum gloeosporioides*. *Penzig. Boll. R. Staz. Pat. veg. Roma*, VI, 1926.
22. Roger, L.: *Phytopathologie des pays chauds*, II, III, 1953, 1954, Paris.
23. Rolfs, P. H.: Wither tip and other diseases of citrus trees and fruits. *USDA bur. Plant Indus. Bul.*, 52, 1904.

24. Schmiedeknecht M.: Contribution to the morphology and cytology of *Colletotrichum atramentarium*. *Phytopath. Z.*, 29, 3, 1957.
25. Shear, C. L. and Wood Anna A.: Studies of fungus parasites belonging to the genus *Glomerella*. *USDA Bur. Plant Indus. Bul.*, 252, 1913.
26. Singh, R. S. Sinha R. P.: The fruit drop in Grape fruit (*C. paradisi*) due to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Sci. and Cult.*, 20, 1954.
27. Viennot—Bourgin G.: Les champignons parasites des plantes cultivées, II, 1949, Paris.
28. Wahl, I.: On a method of fixing and measuring relative humidity in small containers. *Palestine J. Bot., R. series*, 5, 2, 1946.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES PENZ., AGENT DE L'ANTHRAKOSE DES AGRUMES EN YOUGOSLAVIE

par

Dr Milorad MIJUŠKOVIĆ

Institut d' Agriculture — Titograd

R é s u m é

Une des plus fréquentes maladies des agrumes dans la partie Sud du Littoral yougoslave est l'antracnose, provoquée par le *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Elle a fait l'objet d'une étude, menée de 1963 à 1965.

On remarque l'antracnose sur toutes les espèces des citrus cultivés pour les fruits et aussi sur le *Citrus aurantium* (bigaradia). Elle n'a pas été trouvée sur le *Poncirus trifoliata*.

Le champignon attaque surtout les extrémités des rameaux, provoquant la décoloration et la dessiccation des tissus corticaux («wither tip»). Sur les feuilles l'antracnose produit des taches au niveau desquelles les tissus se dessèchent. Les acervules apparaissent à l'endroit des lésions. Nous n'avons pas constaté l'antracnose sur les fruits, mais leurs pédoncules peuvent, dans certains cas, être attaqués.

La sporulation peut avoir lieu sur les embranchements du mycelium, mais surtout dans les acervules. Les conidies ont pour dimensions, d'après notre mensuration, 9,9—19,8 x 3,3—6,6 microns, les conidiophores 13,2—16,5 x 3,3—5,0 et les acervules 140—315 x 110—300 microns. Les «soies» dressés (habituellement disposés vers la périphérie des acervules chez ce genre) n'ont été remarqués qu'exceptionnellement dans la nature; en culture pure ils faisaient totalement défaut. Nous n'avons jamais réussi à obtenir des périthèces, même dans les culture très épuisées.

Les dimensions des conidies varient (aussi bien en valeurs moyennes qu'extrêmes) suivant les hôtes, les origines géographiques des échantillons examinés et en culture pure (tab. 1, 2, 3).

Quoiqu' on a pu constater, en culture artificielle, la différence en aspect des colonies des isoléments de provenance géographique différente, la plupart d'eux peut être rangée dans le groupe II de la classification de Buger.

Les conidies de *C. gloeosporioides* commencent à germer déjà à partir d'un degré d'humidité relative de 94%, mais le pourcentage de germination ne devient un peu plus important qu'à 98% de l'humidité.

La germination des conidies est beaucoup influencée par la présence de l'air.

Les conidies de *C. gloeosporioides* germent dans des limites de température assez larges (11°—40°C). (tab. 6). Le début de germination, pour les températures entre 21° et 28°C, survient après 4—5 heures. Ces températures assurent la germination de tous les conidies dans les 24 heures, le pourcentage de germination ne changeant pas les 48 heures suivantes.

Aux températures inférieures de ceux qui permettent la germination, les conidies ne subissent pas de changements visibles. Si l'on amène la température au delà de la limite inférieure, les conidies germent normalement. Les conidies exposées 48 heures à 42°C perdent définitivement leur faculté germinative. Le pourcentage des conidies germées aux températures maxima est supérieur dans une solution de glycose de 0,1% ou dans la décoction des feuilles des citrus, que dans l'eau distillée. Ces substances accélèrent aussi la germination aux températures optima.

L'évolution du champignon en culture artificielle est le plus rapide aux températures 26°—28°C.

En faisant germer les conidies en contact avec une paroi solide (et comme conséquence de cette stimulation mécanique) se forment les appressoriums, organes d'adhésion sur la plante-hôte. Contrairement aux affirmations de certains auteurs, nous avons constaté que les appressoriums peuvent germer aussi dans l'eau pure.

Le champignon évolue le mieux à pH 5—6. Il diminue considérablement le degré d'acidité du substratum, parce que, après un mois, toutes les valeurs de pH entre 3 et 9 sont amenées à pH 8 environ.

L'influence du milieu de culture sur le développement de *C. gloeosporioides* est évidente. Le champignon évolue mieux sur les milieux riches.

L'infection artificielle des feuilles (aussi bien jeunes que plus âgées) et des pousses ne peut être réalisée que sur des organes déjà languissants. Le changement de couleur des organes infectés, aux tem-

pératures optima, est visible à partir du troisième jour; la sporulation apparaît le quatrième ou le cinquième jour.

Les résultats de nos études nous permettent de conclure que, dans les conditions écologiques de la région Sud de la Côte yougoslave, le *C. gloeosporioides* se comporte comme un parasite de faiblesse. L'apparition fréquente de l'antracnose sur les agrumes de notre Littoral est, très probablement, la conséquence de l'infection des pousses qui n'avaient pas réussi à aoûturer suffisamment avant les gelées d'hiver; les sécheresses d'été, d'une part, et l'excès d'humidité et la stagnation de l'eau dans le sol en hiver d'autre part, pourraient être aussi la cause de l'affaiblissement des plantes et de leur susceptibilité à la maladie.