

МИНИМАЛНА, ОПТИМАЛНА И МАКСИМАЛНА ТЕМПЕРАТУРНА ТОЧКА ЗА РАЗВОЈ И СПОРУЛАЦИЈА НА *ALTERNARIA ALTERNATA* КАЈ ТУТУНОТ

Биљана Гвероска, Петре Ташкоски

Научен институт за тутун - Прилеп

ВОВЕД

Развојот на патогенот во голема мера зависи од еколошките фактори, па оттука и појавата на една растителна болест ќе зависи од нив. Се смета дека дури и микроклиматските услови влијаат врз патогенот, како и врз остварувањето на инфекцијата и понатамошниот тек на болеста. Како главни еколошки фактори се наведуваат температурата и влагата.

Развојот на патогената габа *Alternaria alternata*, предизвикувач на болеста кафена дамкавост кај тутунот исто така зависи од овие фактори. Поради тоа, повеќе автори работеле на утврдување на оптималните температури за спорулација и развој на овој патоген. Тие ја одгледувале габата на различни температури и главно го утврдувале влијанието на температурниот интервал, за кој изнесуваат и податоци. Така, Lacey (1992) истакнува дека *A. alternata* се развива на температура помеѓу 5 и 32°C, во кој интервал и спорутира.

Според истражувањата на Sami Saad и Hagedorn (1970), *A. tenuis* (Syn *A. alternata*) одгледувана на компирдекстрозен агар се развива на температура од 4 до 36°C, а најдобро на температура од 20 до 32°C, при

што оптимален развој е констатиран на 28°C. Слични резултати истакнуваат и Misaghi et al. (1978).

Податоци за оптималната температура изнесуваат и Taber et al. (1968), Stavelly и Main (1970) и Pearson и Hall (1975).

Rotem (1994), кој детално ги проучува алтернариозите, истакнува податоци за кардиналната температура за спорулација на *A. alternata*: минималната е помала од 5, оптималната изнесува 27, а максималната 33°C.

Во наши услови, податоци за температурната зависност на *A. alternata*, изнесува Јованчев (1997) при проучување на алтернариозите кај домотот. Ivanović и Jovanović (1994) вршеле такви истражувања на изолати од тутун во Србија.

Развојот на еден патоген, а оттука и растителната болест, покрај од оптималната температура во голема мера зависи и од крајните точки до кои тој се развива и спорутира. Поради тоа, целта на ова истражување беше да се утврдат оптималната температура како и крајните температурни точки - минималната и максималната, до кои *A. alternata* се развива и спорутира.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА

Испитувањата беа вршени на чиста култура од *Alternaria alternata*, изолирана од преодниот дел помеѓу здравото ткиво и кафената дамка на инфицирани тутунски листови. Изолацијата беше извршена со стандардна фитопатолошка метода (засејување на воден агар, а потоа пресејување на компирдекстрозен агар и инкубација 15 дена на температура од 25°C).

Фрагменти од чистата култура се засејуваа на нова цврста компирдекстрозна подлога (КДА) во петриеве кутии со дијаметар

110 mm. Засеаните петриеве кутии се инкубираа 15 дена (интервал на испитување) во политермостат, на соодветни температури.

За утврдување на минималната температура, петриевите кутии, беа инкубирани на температура 0-5°C, за утврдување на оптималната температура - на 25-30°C, а за максималната, на 35-40°C. Инкубацијата се вршеше на точно определена температура, на растојание од 1°C. Како крајна вредност (минимална и максимална температура) се сметаше онаа каде можеше да се забележи

барем минимален развој на габата во текот на инкубацијата. За оптимална температура беше земена онаа каде беше констатиран најголем пораст на колонијата од габата.

Истражувањата беа извршени во 2002 година, на 3 изолати. Тие беа добиени од реони со различни климатски особености, бидејќи истите имаат големо влијание врз одржувањето на овој патоген и остварувањето на инфекцијата. Тоа се МБ 157 и МБ 179, добиени од сортата Б 2/93 од Македонски Брод и изолатот П 163 од сортата П 156, од тутунски насади во Прилеп. Опитот беше поставен во три повторувања, а за секое повторување беа засеани по 5 петријеви кутии за

секоја варијанта, односно температура.

Развојот на колонијата беше следен секојдневно, со мерење на дијаметарот на колонијата од долната страна на петриевата кутија, во двете спротивни насоки под прав агол. Резултатите за секој изолат и на секоја испитувана температура се прикажани како средна вредност од трите повторувања.

Исто така, за секоја испитувана температура беше одредуван интензитетот на создавање на конидии, со директно микроскопирање на колонијата, како и со микроскопирање на препарати од приготвената суспензија од колонијата по интервалот на набљудување.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Патогената габа *Alternaria alternata* се развива во широк температурен интервал од 5 до 35°C (Гвероска, 2008). Но, при овие истражувања забележавме дека габата се развива и на пониски температури (Табела 1).

Колонијата инкубирана на температура од 5°C започнува да се развива на третиот ден, и на крајот од инкубациониот период кај трите изолати достигнува дијаметар од 23,16 до 25,16mm.

На температура од 4°C таа почнува да се развива дури на 5^{от} ден и дијаметарот на

нејзината колонија на 15^{от} ден изнесува од 15,33 до 16,66 mm, при што дневниот пораст е само 1mm. На 3°C колонијата започнува да се развива на 6^{от} ден и достигнува дијаметар околу 14 mm.

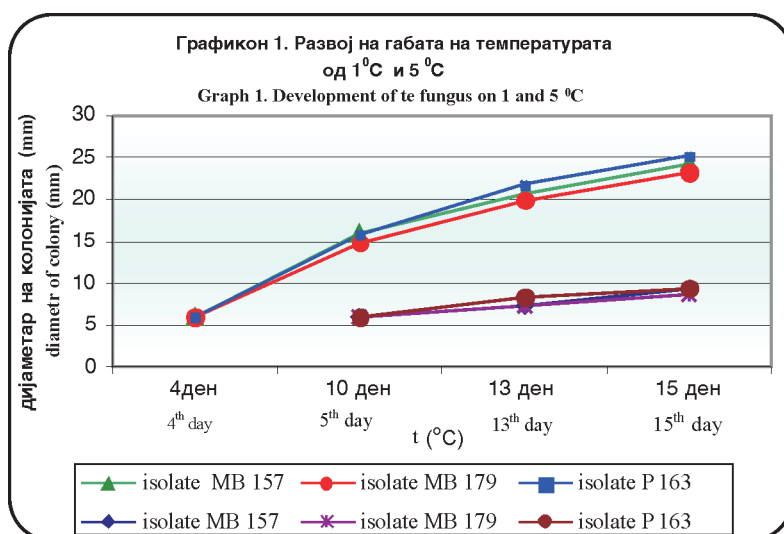
Кај трите изолати се забележува дека при намалување на температурата за еден степен, развитокот се одложува за 1-2 дена, а соодветно на тоа и дијаметарот се намалува (Табела 1, Графикон 1). На температура од 1°C, минимален развој беше забележан по 8-10 дена, а дијаметарот на колонијата изнесува само 8,60 до 9,43 mm.

Табела 1 . Влијание на минималните температури врз развојот на габата
Table 1. The effect of minimum temperature on fungus development

t°C	пораст на колонијата во mm / growth of the colony in mm														
	денови / days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Изолат МБ 157 / Isolate MB 157															
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,40	6,80	7,30	8,33	9,27
2	-	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,00	6,66	8,00	9,08	10,16	11,33	12,33
3	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,33	7,00	9,00	9,83	11,33	12,33	13,33	14,33
4	-	-	-	+-	+	6,00	6,50	7,33	8,83	10,16	11,91	13,16	14,31	15,66	16,66
5	-	+-	+	6,00	6,83	8,66	10,58	12,16	14,29	15,91	17,62	19,77	20,58	22,75	24,25
Изолат МБ 179 / Isolate MB 179															
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,60	7,40	8,20	8,60
2	-	-	-	-	-	+-	++	6,00	6,00	6,50	8,00	8,91	10,16	11,41	11,50
3	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,33	6,66	8,00	9,66	10,83	11,66	12,66	14,00
4	-	-	-	+-	+	6,00	6,66	7,16	8,16	10,00	11,00	12,33	13,50	14,50	15,33
5	-	+-	+	6,00	6,50	7,66	8,83	10,83	12,83	14,83	16,50	17,83	19,83	21,66	23,16
Изолат П 163 / Isolate P 163															
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	+-	+	++	6,00	6,85	7,55	8,30	9,10	9,43
2	-	-	-	-	+-	+	++	6,00	6,33	6,66	8,16	9,00	10,33	11,16	12,41
3	-	-	-	-	+-	+	6,00	6,33	6,66	8,00	9,66	10,66	12,00	13,00	14,00
4	-	-	-	+-	+	6,00	6,33	7,33	8,96	10,99	12,66	13,50	14,66	15,83	16,66
5	-	+-	+	6,00	6,66	8,16	10,58	12,33	14,33	15,83	17,83	19,83	21,83	23,66	25,16

Оваа состојба беше забележана кај сите изолати. Разлика помеѓу нив се забележува во денот кога се манифестира

почетниот развој. Кај изолатот П 163 тоа е 8^{от} ден, а дијаметарот е сосема малку поголем отколку кај другите два изолати.



На 0°C не беше забележан развој на габата.

При температура од 2°C Јованчев (1997) забележал минимален пораст на колонијата од оваа габа.

Според резултатите од нашите истражувања, минимална температура за развој на *A. alternata* е 1°C.

Иако овој патоген се развива најдобро на температура 25-30°C (Гвероска, 2008),

сепак, и кај него постојат разлики во влијанието на секоја температура врз развојот на габата. Со зголемувањето на температурата од 25 до 28°C, се забележува подобар почетен развој (7mm), но и поголем дневен пораст (околу 9-10mm). Со понатамошното зголемување на температурата состојбата се менува, односно овие показатели се намалуваат (Табела 2).

Табела 2 . Влијание на оптималниот температурен интервал врз развојот на габата
Table 2. The effect of optimum temperature on fungus development

t°C	пораст на колонијата во mm / growth of the colony in mm														
	денови / days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Изолат МБ 157 / Isolate MB 157															
25	6,00	10,83	23,33	36,00	43,83	49,16	64,16	70,49	75,16	81,33	90,83	98,99	102,66	105,65	106,66
26	6,00	15,33	26,83	37,16	45,16	53,33	62,83	71,66	79,33	87,83	98,83	103,50	107,50	109,00	110,00
27	7,00	15,16	26,66	37,16	45,66	53,66	62,66	74,16	79,33	88,00	98,16	104,16	107,83	110,00	110,00
28	7,33	16,16	28,16	37,49	45,99	55,33	63,99	74,16	80,33	89,33	100,83	107,16	109,50	110,00	110,00
29	6,49	13,66	22,00	35,83	41,16	47,16	55,83	61,16	67,49	74,33	82,66	87,00	90,50	92,16	97,16
30	6,00	13,00	26,00	33,33	42,49	50,49	57,50	64,33	67,16	74,33	80,83	86,83	90,50	92,00	92,33
Изолат МБ 179 / Isolate MB 179															
25	6,00	11,49	18,83	29,33	37,49	42,66	52,66	60,33	65,66	73,16	78,99	84,83	80,99	94,66	100,00
26	6,00	13,33	23,66	31,83	39,49	48,33	56,99	65,83	71,33	78,99	86,83	93,49	98,66	101,00	104,83
27	7,00	15,83	26,66	36,33	47,99	55,83	63,99	72,83	79,83	87,50	94,83	100,33	103,50	104,96	106,33
28	7,00	17,41	27,75	38,00	48,50	58,66	68,58	77,25	85,58	95,50	105,50	108,00	108,25	108,50	108,50
29	6,00	12,49	21,33	30,66	38,16	45,16	53,83	62,49	69,66	77,83	86,83	93,16	99,50	102,66	106,16
30	6,00	12,25	20,33	26,75	33,41	39,75	47,83	55,66	62,83	70,25	78,08	83,16	88,75	90,50	92,00
Изолат П 163 / Isolate P 163															
25	6,00	10,99	17,99	23,49	34,33	38,33	43,50	50,16	55,00	59,50	62,33	66,49	72,83	77,75	79,33
26	6,00	10,33	24,00	29,33	34,41	41,66	46,91	50,16	54,83	59,58	65,83	70,33	77,16	83,83	88,33
27	7,00	12,16	21,49	31,16	38,49	44,83	51,83	58,49	63,16	68,66	73,83	78,50	84,66	86,33	90,83
28	7,00	13,49	23,00	30,83	39,16	46,49	54,90	62,00	68,83	74,99	81,66	87,33	91,99	96,33	100,16
29	6,00	11,50	20,66	28,83	37,83	45,83	53,00	61,99	67,16	73,83	81,49	87,16	91,49	95,66	99,83
30	6,00	11,83	19,33	26,99	33,83	40,99	50,66	57,99	64,66	71,66	78,16	85,00	88,50	90,16	92,00

Во однос на изолатите, најдобар развој покажа изолатот МБ 157, каде се забележува најбрз пораст на колонијата, односно исполнување на петриевата кутија (Табела 2).

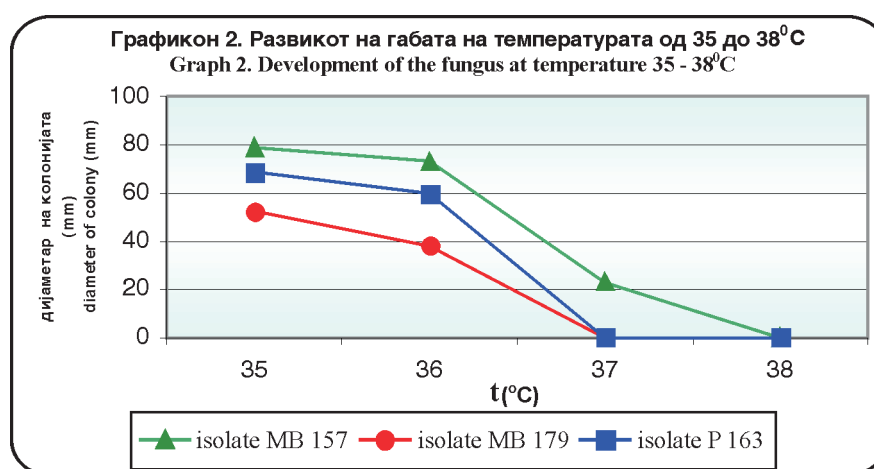
Најдобар почетен развиток, како и дневен пораст кај трите изолати се забележува на температура од 28°C. Според тоа, оптималната температура за развој на *A. alternata* изнесува 28°C (Графикон 3).

Јованчев (1997) забележал максимален пораст на *A. alternata* исто така на 28°C.

A. tenuis (Syn *A. alternata*) одгледувана на компирдекстрозен агар се развива на температура од 4 до 36°C, а најдобро на температура од 20-32°C. Оптимален развој

е констатиран на 28°C (Sami Saad и Hagedorn, 1970).

На температура од 35°C сите изолати се развиваа уште од првиот ден и на крајот на интервалот на испитување достигнаа дијаметар од 52,33 до 78,99mm (Табела 3). При зголемувањето на температурата на 36°C, се забележува забавување на развојот и намален дијаметар на колонијата (најмногу кај изолатот МБ 179). Со натамошното зголемување за еден степен, односно на 37°C, кај двата изолата не се забележува развиток, додека кај МБ 157 тој е многу слаб (само 23,20mm). Овој изолат не се развива на температура од 38°C (Графикон 2).



Зголемувањето на температурата најнегативно се одразило кај изолатот ИП 163 (од 59, 83mm на 36°C (тој воопшто не се развива на 37°C).

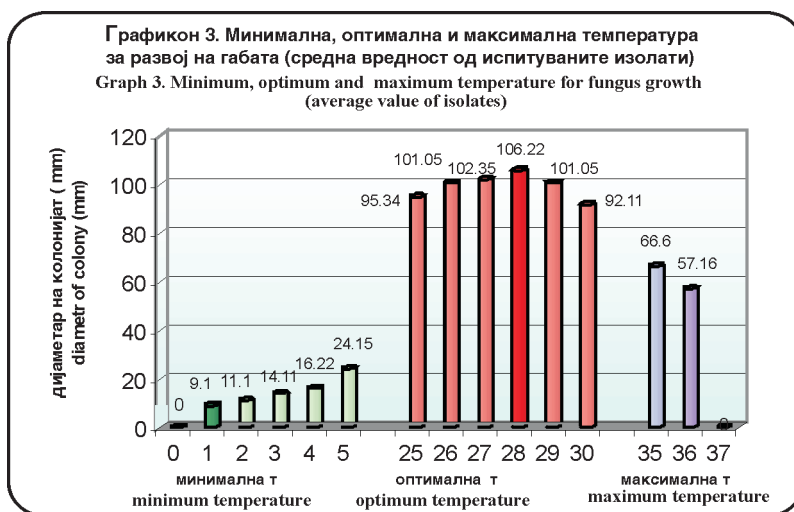
Според анализираниите резултати (Табела 2, Графикон 2) максимална температура за развој на габата е 36°C, односно 37°C.

Табела 3. Влијание на максималните температури врз развојот на габата
 Table 3. The effect of maximum temperatures on fungus development

t°C	пораст на колонијата во mm / growth of the colony in mm														
	денови / days														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Изолат МБ 157 / Isolate MB 157															
35	6,00	11,16	16,83	22,16	27,66	33,33	39,49	44,33	49,33	54,66	60,16	63,66	69,33	74,83	78,99
36	+	9,66	15,83	21,33	24,33	29,66	33,83	37,83	42,99	47,50	53,33	58,00	64,33	69,83	73,33
37	-	+	8,10	9,40	12,00	15,20	18,60	21,00	22,60	23,00	23,20	23,20	23,20	23,20	23,20
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Изолат МБ 179 / Isolate MB 179															
35	+-	6,66	8,75	10,58	13,49	16,83	20,83	23,83	26,99	30,83	35,16	39,16	44,16	48,50	52,33
36	+-	6,83	8,16	11,94	12,13	14,99	17,83	19,66	22,16	24,49	26,99	31,33	33,83	36,16	38,33
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Изолат П 163 / Isolate P 163															
35	+	6,83	8,16	9,66	16,49	22,66	29,16	35,66	40,83	46,16	52,33	56,66	61,33	66,49	68,66
36	+	6,33	8,66	10,99	16,00	19,66	25,00	29,33	33,33	37,33	42,66	47,66	51,50	54,99	59,83
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Од извршените истражувања може да се констатира дека минималната температура за развој на *Alternaria alternata* изнесува 1°C,

оптималната 28°C, а максималната 36°C (Графикон 3).



Влијание на температурата врз спорулацијата

При оцена на температурите при кои овој патоген спорулира и се развива (min 1°C - max 37°C), констатиравме дека габата создава конидии во температурниот интервал од 3° до 36°C.

Најголем интензитет на образување конидии беше утврден на 27 и 28°C. Тоа значи дека оптималните температури за развој и за спорулација се совпаѓаат.

Со намалување и зголемување на температурата, интензитетот на образување конидии се намалува, при што минималната температура за спорулација е 3°, а максималната 36°C.

Исто така, во истражувањата на Pearson и Hall (1975), оптимална температура за спорулација е 27°C, додека таа осетно се

намалува при температура од 15°C и над 33°C.

Според Rotem (1994), кардиналните температурни точки за спорулација на *A. alternata* се: минималната помала од 5°, оптималната 27°, а максималната 33°C.

Lacey (1992) истакнува дека *A. alternata* се развива и спорулира на температура помеѓу 5-6,5° и 32°C.

При испитувањето на два изолати од *A. alternata*, Ivanović и Jovanović (1994) утврдиле дека едниот најдобро спорулира на 21°, а другиот на 26°C. На пониска температура забележале многу слаба спорулација. Во нашите испитувања не беше забележана таква разлика во температурите поволни за спорулација меѓу испитуваните изолати.

ЗАКЛУЧОЦИ

➤ Патогената габа *Alternaria alternata* се развива и спорулира во широк температурен интервал.

➤ Почетниот развој на колонијата, како и дневниот пораст е поголем при повисоките температури. При приближување кон крајните температурни точки, почетниот развој се одложува, што резултира со мал дијаметар на колонијата.

➤ Оптималниот температурен интервал за развој на габата изнесува 25-30°C.

➤ Оптималната температура за развој на габата изнесува 28°C.

➤ Минималната температура за развој изнесува 1°C.

➤ Максималната температура за развој изнесува 36, односно 37°C.

➤ Габата спорулира во температурниот интервал од 3 до 36°C, односно минимална температура за спорулација е 3°C, а максимална 36°C.

➤ Најголем интензитет на образување конидии беше констатиран на температура од 27° и 28°C.

➤ Испитуваните изолати не покажаа големи отстапувања. Разликите меѓу нив се во брзината на порастот на колонијата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гвероска Б., 2008. Влијание на температурата врз развојот на *Alternaria alternata* кај тутунот. Тутун/Тобасо, Vol. 58, No. 1-2, 35-40.
2. Ivanović M., Jovanović D., 1994. *Alternaria alternata* - nov parazit duvana u Srbiji. *Zaštita bilja*, Vol. 45 (3), br.209: 161-167, Beograd.
3. Јованчев П., 1997. Проучување на алтернариозите (*Alternaria solani*-Sorauer и *Alternaria alternata* (Fries) Keissler) кај домотот и мерки за нивно сузбивање во Македонија. Докторска дисертација, Универзитет Св. "Кирил и Методиј" - Скопје.
4. Lacey J. / Chelkowski J. and Wisconti A., 1992. *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites. Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo.
5. Misaghi I.J., Grogan R.G., Duniway J.M., Kimble K.A., 1978. Influence of Environmental and Culture Media on Spore Morphology of, Pathogenicity and Cultural Characteristics of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 68: 29-34.
6. Pearson R.C., Hall D.H., 1975. Factor Affecting the Occurrence and Severity of Blackmold of Ripe Tomato Fruit Caused by *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 65:1352-1359.
7. Rotem J., 1994. The genus *Alternaria*. APS PRESS. St. Paul, Minnesota.
8. Sami Saad and Hagedorn D.J., 1970. Growth and Nutrition of an *Alternaria* Pathogenic to Snapbeans. *Phytopathology* 60:903-906.
9. Stavely J.R., Main C.E., 1970. Influence of Temperature and Other Factors on Initiation of Tobacco Brown Spot. *Phytopathology* 60:1591-1596.
10. Taber, A. Ruth, Vanterpool, C. T and Taber A. W., 1968. A comparative Nutritional Study of *A. raphany*, *A. brassicae* and *A. brassicola* with special reference to *A. raphani*. *Phytopathology* 58: 609-616.

MINIMUM, OPTIMUM AND MAXIMUM TEMPERATURES FOR GROWTH AND SPORULATION OF *ALTERNARIA ALTERNATA* IN TOBACCO

B. Gveroska, P. Taskoski

Scientific Tobacco Institute-Prilep

SUMMARY

The aim of investigations was to determine the optimum, minimum and maximum temperatures range for growth and sporulation of pathogenic fungi *Alternaria alternata*, the causing agent of brown spot disease on tobacco. Parallel investigations were made on the intensity of conidia formation at each temperature point.

The optimum temperature for fungal growth was 28°C. The best sporulation was achieved at 27° and 28°C.

The minimum temperature for fungal growth was 1°C, and the maximum was 36-37°C.

The minimum temperature for fungus sporulation was 3°C, and the maximum 36°C.

No significant deviations were reported among investigated isolates. Differences were only noticed in the rate of colony growth.

Estimation of the temperature range for fungal growth will be a great contribution in the study of the pathology of brown spot disease and of the preventive measures for its control.

Author's address:

Biljana Gveroska

Scientific Tobacco Institute - Prilep

Kicevski pat bb, 7500 Prilep

Republic of Macedonia

e-mail:gveroska@t-home.mk