

Wpływ temperatury na wzrost i zarodnikowanie grzybów z rodzaju *Alternaria* wyizolowanych z modraka abisyńskiego

Effect of temperature on the growth and sporulation of
Alternaria species isolated from *Crambe abyssinica* Hochst

SABINA CZYZEWSKA

WSTĘP

W badaniach nad etiologią alternariozy modraka abisyńskiego ustalono, że wywoływana ona jest przez trzy gatunki *Alternaria*: *A. tenuis* auct. (Neergaard 1945), *A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire i *A. brassicae* (Berk.) Sacc. Najczęściej występujący gatunek, *Alternaria tenuis*, nie był jednolity, lecz składał się z 3 szczepów (A, B i C) różniących się morfologicznie pod względem wielkości i kształtu zarodników oraz charakterem wzrostu na pożywkach agarowych (Czyżewska 1969).

Dotychczas nie znane są jednak wymagania grzybów wywołujących alternariozę modraka w odniesieniu do temperatury. Można by wprawdzie przypuszczać, że są one zbliżone do wymagań izolatów otrzymanych z innych roślin krzyżowych, ale dotyczyłoby to tylko gatunków *A. brassicae* i *A. brassicicola* (Weimer 1924; Neergaard 1945; Anja, Prasad 1952; Hemmi, Ishigami 1953; Report Ann. 1955; Changsri, Weber 1960 i 1963). Natomiast brak jest danych^o dotyczących *A. tenuis* otrzymanego z roślin krzyżowych.

W związku z dużym znaczeniem, jakie ma dla poznania epidemiologii choroby ustalenie zakresu temperatur, w których może się odbywać wzrost i zarodnikowanie grzybów, oraz w jakiej temperaturze procesy te przebiegają najszybciej, przeprowadzono poniższe badania.

MATERIAŁ I METODY

Badano 3 gatunki: *Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*, i *A. tenuis* szczepy A, B, C. Izolaty grzybów wydzielono z naturalnie porażonych roślin modraka abisyńskiego. Chore rośliny odkażano powierzchniowo

0,1% roztworem sublimatu i wykładano na pożywkę agarowo-brzeczkową w szalkach Petriego. Do badań użyto 10-dniowych czystych kultur grzybów wyizolowanych przed 28 dniami.

Wpływ temperatury na wzrost. Badania przeprowadzono w szalkach Petriego (10 cm średnicy) na pożywce agarowo-brzeczkowej — MA (17 g agaru, 2,5° Balling'a, pH około 6,8) oraz na pożywce agarowo-mineralnej — SA (1,56 g KH_2PO_4 , 1,06 g Na_2CO_3 , 5,0 g MgSO_4 , 5,0 g glukozy, 1,0 g asparaginy, 15,0 g agaru, 1000 ml wody wodociągowej, pH około 6,8). Pożywkę (około 15 ml w szalce) szczepiono w jednym punkcie grzybnią z zarodnikami i inkubowano w termostatach bez dostępu światła. Rozwój grzybni badano w następujących temperaturach: 0,5 do 1,5, 5, 12, 17, 20, 23, 25, 27, 30, 35, 38, 40, 42°C. Ponadto *A. brassicae* badano również w temperaturze: 32, 33, 34°C. W każdej kombinacji badano 10 szalek. Kultury obserwowano przez 8 dni i określano:

a) wzrost liniowy kultury. Codziennie, w odstępach 24-godzinnych, mierzono dwie prostopadłe do siebie średnice kolonii,

b) suchą masę grzybni — pobierając kultury z 10 szalek z całej kombinacji i susząc grzybnię wraz z zarodnikami w temperaturze 80°C do stałej wagi.

W kombinacjach z temperatur zbliżonych do maksymalnych i minimalnych, w których występował tylko ślad wzrostu grzybów, nie oznaczano suchej masy grzybni, gdyż wyniki przypuszczalnie byłyby obciążone dużym błędem.

Początek wzrostu grzybni określano makroskopowo, a w temperaturze zbliżonej do minimalnej i maksymalnej dodatkowo sprawdzano pod mikroskopem kiełkowanie zarodników i rozwój strzępek w inokulum. Otrzymane wielkości dla liniowego wzrostu kolonii grzybów porównywano stosując test Duncana przy $\alpha = 0,05$ w celu ustalenia kardynalnych temperatur oraz zakresu temperatur, w których wzrost nie różni się istotnie.

Wpływ temperatury na zarodnikowanie. Badano kultury grzybów w szalkach Petriego na tych samych pożywkach i w tych samych zakresach temperatury oraz stosując to samo inokulum jak przy badaniu wzrostu. Tylko dla *A. brassicae* w związku z mniejszym zakresem temperatury, w której rośnie ten grzyb, nie stosowano już temperatury 35, 38 i 40°C. Prowadzono obserwacje nad momentem rozpoczęcia zarodnikowania i obfitością wytwarzanych zarodników. Pierwsze obserwacje wykonano po upływie 10 godzin od chwili inokulacji i powtarzano je co 5 godzin, a w kombinacjach założonych w temperaturze zbliżonej do temperatury optymalnej dla wzrostu, nawet częściej. Obserwacje zakończono po 7 dniach.

WYNIKI

Charakter kolonii. Kultury badanych grzybów bardzo wyraźnie różniły się między sobą charakterem wzrostu, obfitością wytwarzanej grzybni pożywkowej i powietrznej oraz zabarwieniem, a występowanie tych różnic zdecydowanie zależało od temperatury. W temperaturze zbliżonej do minimalnej wszystkie gatunki wytwarzały jednakowe, proste strzępki grzybni pożywkowej, a dopiero po kilku dniach rozwijała się bardzo niska, biaława, o prostej, luźnej budowie grzybnia powietrzna. W temperaturze 5°C powstawały wyraźne kolonie, gdyż silniej rozwijała się grzybnia powietrzna, początkowo wprawdzie jeszcze biaława, ale po kilku dniach zmieniająca zabarwienie. Pojawiały się wówczas drobne różnice w wyglądzie kultur. Jednakże dopiero w temperaturze 12°C we wszystkich kulturach zaczynało występować charakterystyczne dla danego gatunku zabarwienie grzybni powietrznej i pożywkowej. Typowe dla danego gatunku zabarwienie kolonii grzyba, rodzaj wzrostu i charakterystyczny wygląd występował najwyraźniej w temperaturze optymalnej dla wzrostu liniowego. Dokładny opis kultur badanych grzybów w temperaturze optymalnej podano w poprzednim opracowaniu (C z y ż e w s k a 1969). Obecnie ograniczono się więc tylko do wymienienia najważniejszych cech.

A. brassicae charakteryzuje się dobrze rozwiniętą, luźnobawełnistą grzybnią powietrzną o piaskowym zabarwieniu z jasnooliwkowym odcieniem, z wyraźnymi pierścieniami zarodników o oliwkowej lub oliwkobrazowej barwie. Grzybnia pożywkowa o promienistym lub kędzierzawym wzroście dobrze rozwinięta, ciemniejsza od powietrznej, ciemno-zielonkawo-szaro-beżowa lub brązowa z lekkim oliwkowym odcieniem.

A. brassicicola — grzybnia powietrzna słabo rozwinięta, pajęczynowata, brunatnooliwkowa, luźno przerasta powierzchnię kultury pokrytej niską, zbitą, aksamitną warstwą utworzoną z zarodników o barwie ciemnej szarooliwkowej lub brunatnooliwkowej. Grzybnia pożywkowa ciemna oliwkowoczarna, o promienistym wzroście była dobrze rozwinięta. Słabo zaznaczone pierścienie zarodników.

A. tenuis szczep A — grzybnia powietrzna średnio rozwinięta płaska, jak gdyby przylegająca do podłoża, szara lub szarooliwkowa. Grzybnia pożywkowa — oliwkobrazowa z czarnym odcieniem, ciemniejsza od powietrznej, o gałęzistym wzroście strzępek. Pierścienie zarodników brązooliwkowe niewyraźnie zaznaczone.

A. tenuis szczep B — grzybnia powietrzna dobrze rozwinięta, gęsta, pajęczynowata, w głębszych partiach oliwkowa, w wyższych jasno-szaro-beżowa. Bardzo wyraźnie zaznaczone pierścienie zarodników o barwie ciemnooliwkowej. Grzybnia pożywkowa brązooliwkowa lub brązowoczarna, dobrze rozwinięta o kędzierzawo rosnących strzępkach.

A. tenuis szczep C — grzybnia powietrzna dobrze rozwinięta barchanowata, z wyraźnymi gęściejszymi kepkami, o nierównej powierzchni kultury, miejscami gęsta bawełniasta, o niejednorodnym zabarwieniu — szara z odcieniem niebieskawozielonkawym oraz szarooliwkowa. Grzybnia pożywkowa dobrze rozwinięta oliwkowoczarna lub oliwkowobrazowa, a gałęzistym wzroście strzępek.

Na pożywce mineralnej zasadniczo we wszystkich kulturach grzyby miały taki sam charakter wzrostu jak na pożywce brzeckowej, lecz grzybnie — zarówno pożywkowa jak i powietrzna — rozwijały się mniej bujnie, a grzybnia powietrzna była niższa. Również zabarwienie kultur na obydwu pożywkach było w zasadzie jednakowe, chociaż na pożywce mineralnej przeważał odcień szary. Poza tym pierścienie zarodników, które wytworzyły się na pożywce brzeckowej, w kulturach na pożywce mineralnej były znacznie rzadziej ułożone.

Podwyższenie temperatury ponad optymalną dla liniowego wzrostu grzybni wyraźnie wpływało na zmianę charakteru wzrostu kolonii. Następuje jak gdyby zagęszczenie wzrostu — maleją przyrosty dobowe. Grzybnia powietrzna stawała się coraz bardziej zbita i zatracala swoje charakterystyczne cechy gatunkowe. Wreszcie w temperaturze 30°C dla *A. brassicae*, 35°C dla *A. brassicicola* i 38°C dla *A. tenuis* kolonie nie różniły się wyglądem, były bardzo zbite, o prostych, szczeciniastych strzępkach.

Wzrost liniowy. Wszystkie badane gatunki rozpoczęły wzrost na obydwu pożywkach w temperaturze zbliżonej do 0°C. W badanym przedziale niskiej temperatury od 0,5 do 1,5°C wzrost początkowo był bardzo słaby i mógł być sprawdzony tylko za pomocą mikroskopu. W temperaturze tej zarodniki zaczynały kiełkować wytwarzając krótkie strzępki grzybni. Widoczne ślady wzrostu można było najszybciej zauważyć u *A. tenuis* szczep C — po upływie 3 dni na pożywce brzeckowej, a po 4 dniach na pożywce mineralnej, następnie u *A. tenuis* szczep B — odpowiednio po 4 i 5 dniach, u *A. brassicicola* i *A. tenuis* szczep A — po 5 dniach na obydwu pożywkach, a najpóźniej u *A. brassicae* — dopiero po 6 dniach na pożywce brzeckowej i po 7 dniach na pożywce mineralnej (tab. 1, ryc. 1). W temperaturze minimalnej wszystkie gatunki wytwarzały wyłącznie grzybnię pożywkową, a tylko *A. tenuis* szczep C po 5 dniach wytworzył wyraźną grzybnię powietrzną, chociaż jeszcze bardzo słabo rozwiniętą — średnica kolonii po 7 dniach wynosiła około 1,5 mm. W temperaturze 5°C u wszystkich gatunków rozwinięła się grzybnia powietrzna, tworząc na obydwu pożywkach wyraźne kolonie: u *A. tenuis* szczep B w 3 dniu obserwacji, po 4 dniach u *A. tenuis* szczep A i C oraz *A. brassicae*, a po 7 dniach u *A. brassicicola*, ale tylko na pożywce brzeckowej. W wyższej temperaturze zwiększało się tempo wzrostu kolonii osiągając maksymalny przyrost dobowy w tem-

Tabela 1 — Table 1

Wpływ temperatury na wzrost 7-dniowych kultur 5 gatunków i szczepów *Alternaria* w różnych temperaturach na pożywkach agarowo-brzezkowej i agarowo-mineralnej

Effect of temperature on the growth of 7-day-old cultures of some *Alternaria* species and strains in different temperatures on MA and SA

Gatunek Species	Pożywka Medium	Przeciętna średnica kolonii, w mm (średnie), temperatura °C (średnie) Average colony diameter, in mm (above), temperature °C (below)										Najmniejszy Istotny rozstęp graniczny wg Duncana przy 0,05 Smallest signif- icant range after Duncan at 0,05	
		0 34	ślod 0,5-1,5 33	1,1 32	2,3 30	3,1 5	13,8 12	17,2 27	23,0 25	24,5 17	30,8 20		45,5 23
<i>A. brassicicola</i>	MA	0 34	ślod 0,5-1,5 33	1,1 32	2,3 30	3,1 5	13,8 12	17,2 27	23,0 25	24,5 17	30,8 20	45,5 23	1,4 - 1,7
	SA	0 34	ślod 0,5-1,5 33	2,6 5	2,7 32	3,9 30	11,4 12	13,8 27	14,3 17	20,4 20	21,3 25	28,5 23	0,7 - 0,8
<i>A. brassicicola</i>	MA	0 40	ślod 0,5-1,5 38	0,9 35	2,4 12	3,0 30	36,2 17	42,4 20	53,1 27	55,2 23	63,8 25		1,8 - 2,1
	SA	0 40	ślod 0,5-1,5 38	0,1 35	1,7 12	2,1 30	31,0 11	34,3 20	39,7 27	48,1 23	57,3 25		1,6 - 1,9
<i>A. tenuis</i> szczep A strain A	MA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	4,3 38	20,2 35	31,0 12	47,3 17	57,2 20	64,0 23	67,5 30	71,6 27	72,1 25	1,8 - 2,1
	SA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	3,1 38	19,0 35	25,6 12	42,9 17	44,0 20	46,4 23	50,5 30	51,0 25	59,6 27	2,2 - 2,6
<i>A. tenuis</i> szczep B strain B	MA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	1,3 38	14,2 35	32,0 12	33,2 30	38,6 17	44,1 20	52,8 23	54,3 27	57,7 25	1,7 - 2,0
	SA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	2,2 38	14,7 12	18,1 35	32,5 17	34,8 30	36,3 20	43,9 27	44,3 23	50,7 25	1,5 - 1,8
<i>A. tenuis</i> szczep C strain C	MA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	5,1 38	14,9 35	22,6 12	35,9 17	42,3 20	53,0 23	55,8 30	61,8 25	64,6 27	1,7 - 2,0
	SA	0 42	ślod 0,5-1,5 40	4,4 38	20,0 35	21,9 12	33,0 17	40,5 20	44,4 23	45,3 30	48,3 25	57,3 27	2,5 - 2,9

MA — pożywka agarowo-brzezkowa (beer-wort-agar); SA — pożywka agarowo-mineralna (Neergaard's standard nutrient agar). Połączono takie temperatury, w których średnice kolonii nie różnią się od siebie istotnie. (There were connected those temperatures by which colonies diameters hadn't significant differences). Podkreślono temperatury minimalne i maksymalne dla liniowego wzrostu kolonii grzyba. (These were underlined minimal, optimal and maximal temperatures of the linear growth of the fungus cultures).

Tabela 2 — Table 2

Przeciętny dzienny przyrost średnicy kolonii 5 gatunków i szczepów *Alternaria* w zależności od temperatury na pożywce agarowo-brzezkowej i agarowo-mineralnej (w mm)

Average daily increase of the colony diameter of some *Alternaria* species and strains on MA and SA in dependence of temperature (in mm)

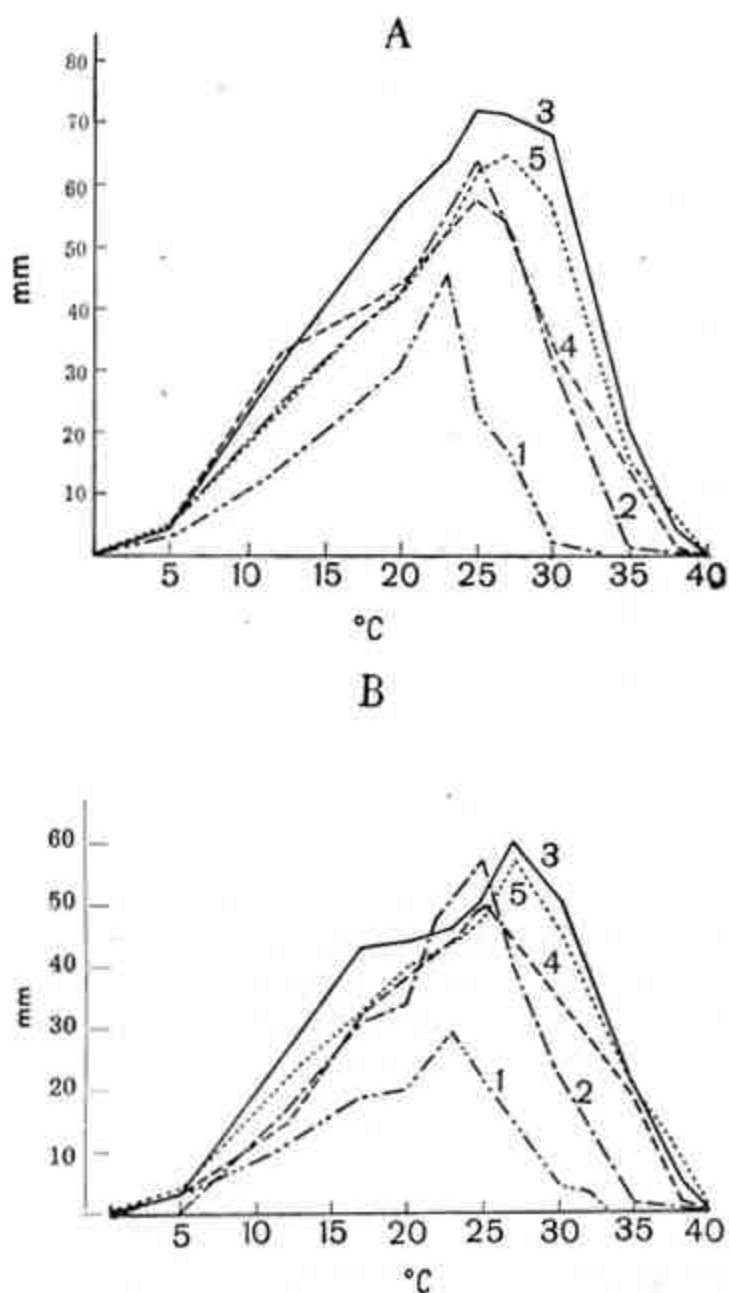
Gatunki Species	Pożywka Medium	Temperatura °C — Temperature °C													
		0,5—1,5°	5°	12°	17°	20°	23°	25°	27°	30°	32°	33°	35°	38°	40°
<i>A. brassicae</i>	MA	śląd	0,4	2,0	3,5	4,4	7,5+	3,3	2,5	0,3	0,1	śląd	—	—	—
	SA	tracce	0,4	1,6	2,8	2,9	4,1+	3,0	2,0	0,3	0,4	tracce	—	—	—
<i>A. brassicicola</i>	MA	"	0,5	3,4	5,2	6,1	7,6	9,1+	7,6	4,5	—	—	0,1	śląd	—
	SA	śląd tracce	"	2,4	4,4	4,9	6,8	8,2+	5,5	3,1	—	—	0,1	tracce	—
<i>A. tenuis</i> szczep A strain A	MA	"	0,7	4,6	6,8	8,2	9,1	10,0+	10,3+	9,6	—	—	2,9	0,6	śląd
	SA	"	0,4	3,7	6,1	6,3	6,6	7,2+	8,5+	7,2	—	—	2,7	0,6	tracce
<i>A. tenuis</i> szczep B strain B	MA	"	0,7	4,6	5,4	6,3	7,5	8,2+	7,8	4,7	—	—	2,0	0,2	"
	SA	"	0,5	2,1	4,6	5,5	6,3	7,2+	6,3	5,0	—	—	2,5	0,3	"
<i>A. tenuis</i> szczep C strain C	MA	0,2	0,7	3,2	5,1	6,0	7,6	8,8	9,2+	8,0	—	—	2,1	0,8	—
	SA	0,1	0,6	3,1	4,7	5,8	6,3	6,9	8,2+	6,6	—	—	2,9	1,1	—

MA — pożywka agarowo-brzezkowa (beer-wort-agar).

SA — pożywka agarowo-mineralna (Neergaard's standard nutrient agar).

+ — Optymalna temperatura dla liniowego wzrostu grzybni (optimal temperature for the lineal growth of the mycellium).

peraturze optymalnej dla wzrostu liniowego. W temperaturze tej największe przyrosty dobowe wykazywała *A. tenuis* szczep A — 10,3 mm na pożywce brzeczkowej i 8,5 mm na pożywce mineralnej, następnie kolejno — szczep C — 9,2 mm i 8,2 mm, potem szczep B — 7,8 mm



Ryc. 1. Wzrost liniowy siedmiodniowych kultur kilku gatunków i szczepów *Alternaria* w różnych zakresach temperatury, A — na pożywce agarowo-brzeczkowej i B — na pożywce agarowo-mineralnej. (Średnica kultur w mm)

Fig. 1. Influence of the temperature on the rate of growth 7-day-old cultures of some *Alternaria* species and strains on various media: A — MA medium, B — SA medium. (Diameter of cultures in mm)

1 — *A. brassicae*, 2 — *A. brassicicola*, 3 — *A. tenuis* szczep (strain) A, 4 — *A. tenuis* szczep (strain) B, 5 — *A. tenuis* szczep (strain) C

i 6,3 mm, którego szybkość wzrostu była zbliżona do *A. brassicicola* — 7,6 mm i 5,5 mm; najwolniej rosła *A. brassicae* — 2,5 i 2,0 mm (tab. 2).

Po osiągnięciu maksymalnych przyrostów następuje szybkie zmniejszenie tempa wzrostu i na ogół przyrosty osiągnięte w 7 dniu, w temperaturze 38°C dla wszystkich szczepów *A. tenuis*, 35°C dla *A. brassicicola* i 30°C dla *A. brassicae* nie różniły się istotnie od przyrostu dla tych grzybów w niskiej temperaturze, a więc 5°C (tab. 1). Jednakże w temperaturze wyższej od optymalnej wszystkie gatunki wcześniej rozpoczynały wzrost. W temperaturze maksymalnej, podobnie jak w minimalnej, brak było grzybni powietrznej, a występowało tylko kiełkowanie zarodników w inokulum i nieznaczny rozwój strzępek widoczny tylko pod mikroskopem.

Podczas badań stwierdzono pewne różnice w zakresie temperatury dla wzrostu badanych gatunków. Chociaż wszystkie grzyby zaczynały rosnąć na obydwu pożywkach w temperaturze zbliżonej do 0°C, to jednak nastąpiło pewne zróżnicowanie w temperaturze optymalnej i maksymalnej dla wzrostu liniowego (tab. 1, ryc. 1). Na obydwu pożywkach w najmniejszym zakresie rozwijała się *A. brassicae* (od 0,5 do 33°C, opt. 23°C), następnie *A. brassicicola* (od 0,5 do 38°C, opt. 25°C), a wreszcie w jednakowych granicach (od 0,5 do 40°C) rosły wszystkie szczepy *A. tenuis*. Temperatury optymalne wszystkich szczepów *A. tenuis* różniły się tylko nieznacznie i wynosiły na obydwu pożywkach: 25°C dla szczepu B, 27°C dla szczepu C oraz 27°C dla szczepu A na pożywce mineralnej i 25 do 27°C na pożywce brzezczkowej. W temperaturze wyższej od maksymalnej (1—2°C) nie występowało już kiełkowanie zarodników.

Pewien wpływ na wzrost liniowy grzybni miał rodzaj pożywki; grzyby lepiej rosły na pożywce zawierającej organiczne składniki — większe były dobowe przyrosty, ale w zasadzie pożywka nie spowodowała zmiany w wyznaczaniu temperatury granicznej dla rozwoju wszystkich badanych gatunków (tab. 1, ryc. 1).

Przyrost suchej masy grzybni. Temperatura wywierała zasadniczy wpływ na wytworzenie się masy grzybni (grzybni pożywkowa i powietrzna wraz z zarodnikami). W temperaturze minimalnej i maksymalnej, w której wystąpił tylko ślad wzrostu, nie określano ciężaru suchej masy grzybni. Dane otrzymane przy badaniu ciężaru wytworzonej grzybni w ogólnych zarysach pokrywają się z wynikami dla wzrostu liniowego grzybni (ryc. 1 i 2). Na ogół badane grzyby najwięcej suchej masy grzybni wytworzyły w temperaturze optymalnej dla wzrostu liniowego grzybni, względnie w temperaturze zbliżonej. Wyniki te są różne dla poszczególnych gatunków. Największy przyrost suchej masy w temperaturze optymalnej dla wzrostu liniowego wykazały — *A. brassicae* na pożywce brzezczkowej, *A. brassicicola* na obydwu pożywkach,

A. tenuis szczep A na pożywce brzezkowej, a szczep C na pożywce mineralnej. Natomiast największy przyrost suchej masy w temperaturze poniżej optymalnej dla wzrostu liniowego wykazały: *A. brassicae* na pożywce mineralnej, *A. tenuis* szczep B na obydwu pożywkach i szczep C na pożywce brzezkowej. Tylko w jednym wypadku (*A. tenuis* szczep B) otrzymano najwyższy przyrost suchej masy w temperaturze wyższej od optimum dla wzrostu liniowego.

Reasumując można powiedzieć, że przyrost suchej masy był najwyższy u *A. tenuis* szczep A, następnie kolejno u *A. tenuis* szczep C, oraz gatunków *A. brassicicola* i *A. tenuis* szczep B, które wytworzyły zbliżoną pod względem ciężaru masę grzybni; a najmniejszym przyrostem charakteryzowała się *A. brassicae*. Było to w ogólnych zarysach zgodne z danymi uzyskanymi dla wzrostu liniowego.

Stosunkowo duży przyrost suchej masy w granicach temperatury od 12 do 30°C wykazały wszystkie badane gatunki z wyjątkiem *A. brassicae*, która rozwijała się dobrze w mniejszym zakresie temperatury od 17 do 24°C.

Przyrost suchej masy grzybni wszystkich gatunków wyraźnie zależał od rodzaju pożywki — był on zdecydowanie wyższy na pożywce brzezkowej. Ciężar suchej masy grzybni na ogół był dwu- do trzykrotnie większy na pożywce brzezkowej u wszystkich badanych gatunków, z wyjątkiem *A. brassicae*, która na tej pożywce w temperaturze optymalnej dla wzrostu charakteryzowała się 10-krotnie wyższą wartością suchej masy grzybni (ryc. 2).

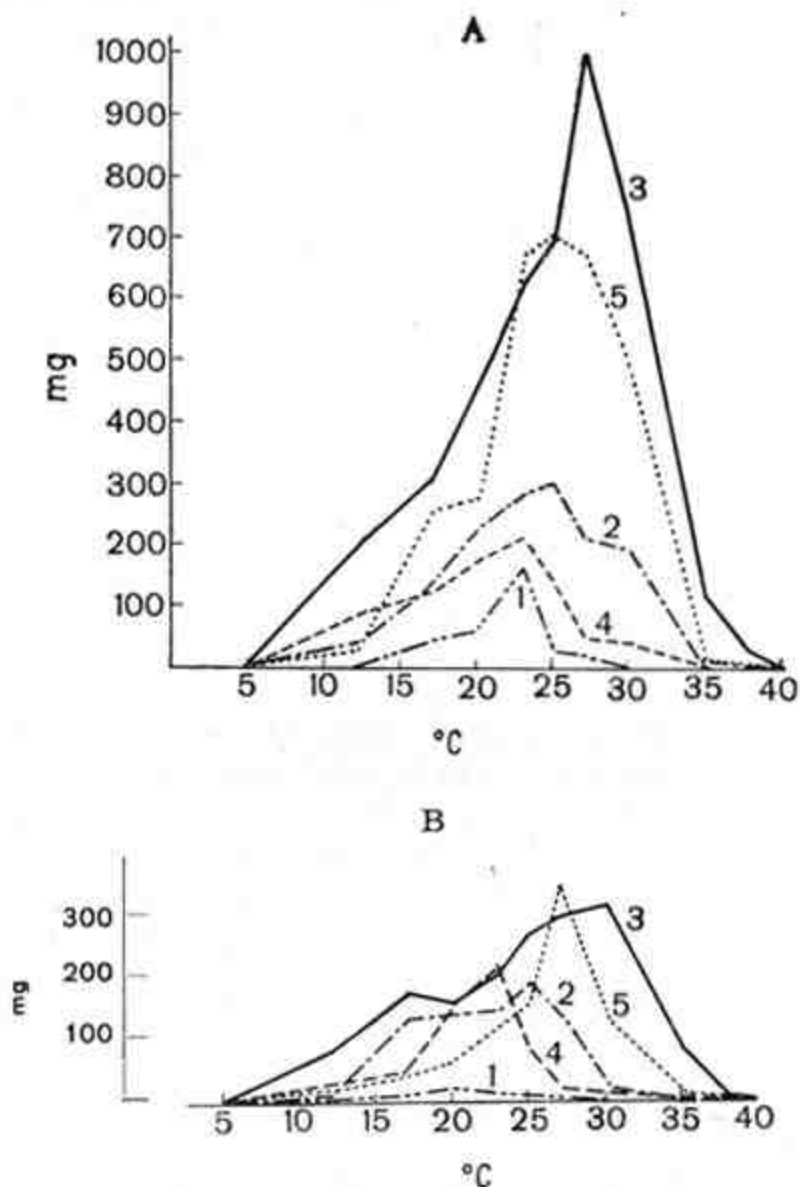
Wpływ temperatury na zarodnikowanie. Stwierdzono bardzo wyraźny wpływ temperatury na wytwarzanie zarodników przez wszystkie badane grzyby, przy czym dla poszczególnych gatunków zależność ta w ogólnych zarysach była jednakowa. Grzyby nie zarodnikowały w temperaturze minimalnej i maksymalnej dla liniowego wzrostu grzybni. Pierwsze zarodniki zaczęły powstawać w temperaturze 5°C: najwcześniej — po upływie 113 godzin na pożywce mineralnej w kulturze *A. tenuis* szczep C, po upływie 146 godzin na obydwu pożywkach — szczep A oraz po upływie 168 godzin na obydwu pożywkach w kulturze grzybów — szczep B, na pożywce mineralnej — szczep C, a na pożywce brzezkowej — *A. brassicae* (tab. 3). Natomiast *A. brassicicola* na obydwu pożywkach i *A. brassicae* na pożywce mineralnej zaczęły zarodnikować w nieco wyższej temperaturze (tab. 3).

Powstające zarodniki przeważnie były zdeformowane, co najwyraźniej było widoczne u *A. brassicae*. Zarodniki tego grzyba były wówczas mniejsze, o słabo zaznaczonych lub też niewykształconych przegrodach, o bardzo słabo rozwiniętych i niewykształconych dziobkach.

Zarodniki w wyższej temperaturze powstawały szybciej, przy czym okres powstawania ich był najkrótszy w temperaturze optymalnej (lub

niedco wyższej) dla wzrostu liniowego danego gatunku (tab. 3). W temperaturze powyżej 30°C następowało u wszystkich gatunków wyraźne zwolnienie tempa wytwarzania zarodników. W temperaturze maksymalnej dla wzrostu liniowego nie występowało już zarodnikowanie.

Wyraźne różnice wystąpiły w szybkości wytwarzania się zarodników u poszczególnych gatunków i szczepów. Najszybciej, bo już po 18 godzinach w temperaturze 27°C (temperatura optymalna dla wzrostu liniowego) i 30°C, a także we wszystkich pozostałych badanych zakresach



Ryc. 2. Ciężar suchej masy grzybni pięciu gatunków i szczepów *Alternaria* w zależności od temperatury, po 8 dniach; A — na pożywce agarowo-brzeczkowej, B — na pożywce agarowo-mineralnej. (Objaśnienia jak na ryc. 1)

Fig. 2. Effect of temperature on the weight of dry mass of mycelium of some *Alternaria* species and strains on various media after 8 days. A — MA medium, B — SA medium. (Descriptions as in fig. 1)

Tabela 3 — Table 3

Czas potrzebny do rozpoczęcia zarodnikowania 5 gatunków i szczepów *Alternaria* w zależności od temperatury i pożywki
(w godzinach)

Time necessary to start of the sporulation of some *Alternaria* species and strains in dependence of temperature and medium
(in hours)

Gatunki Species	Pożywka Medium	Temperatura °C — Temperature °C												
		5°	12°	17°	20°	23°	25°	27°	30°	32°	35°	38°		
<i>A. brassicae</i>	MA	168	99	77	49	49+	42	48	48	65	—	—		
	SA	—	99	77	50	49+	42	48	48	65	—	—		
<i>A. brassicicola</i>	MA	—	69	40	36	24	23+	22	40	—	—			
	SA	—	76	44	38	27	26+	22	40	168	168			
<i>A. tenuis</i> szczep A strain A	MA	146	72	44	38	34	30+	30+	30	40	49			
	SA	146	76	48	42	38	32	32+	34	42	49			
<i>A. tenuis</i> szczep B strain B	MA	162	73	63	49	28	24+	20	25	62	—			
	SA	168	81	66	60	38	32+	30	39	64	—			
<i>A. tenuis</i> szczep C strain C	MA	113	28	26	24	20	20	18+	18	76	47			
	SA	168	28	26	24	20	20	18+	18	78	47			

Objaśnienia jak na tab. 2.
Explanation see Table 2.

temperatury zarodnikowała *A. tenuis* szczep C. Nieco wolniej powstawały zarodniki w kulturze *A. brassicicola*, następnie *A. tenuis* szczep B, potem szczep A, a najwolniej wytwarzały się zarodniki w kulturach *A. brassicae*, u której najszybsze zarodnikowanie nastąpiło dopiero po upływie 42 godzin.

Wystąpiły również różnice w obfitości zarodnikowania u poszczególnych gatunków. Najobficiej zarodnikowała *A. brassicicola*, nieco słabiej, chociaż również jeszcze bardzo obficie, zarodnikowała *A. tenuis*, zwłaszcza szczep B, znacznie słabiej szczep A oraz szczep C. Natomiast najmniej zarodników powstawało w kulturze *A. brassicae*.

Obfite zarodnikowanie występowało w szerokim, różnym dla poszczególnych gatunków zakresie temperatury. Zakres temperatury dla obfitego zarodnikowania był następujący: *A. brassicae* od 20 do 30°C, *A. brassicicola* od 17 do 30°C, *A. tenuis* szczep A od 17 do 35°C, szczep B od 20 do 30°C, szczep C od 12 do 30°C.

Zaznaczył się również wpływ pożywki na szybkość i obfitość zarodnikowania. Na pożywce brzeźkowej grzyby zarodnikowały wcześniej i obficiej. Zróznicowany wpływ rodzaju pożywki na długość okresu potrzebnego do wykształcenia zarodników zaznaczył się najwyraźniej u *A. tenuis* szczep B (tab. 3).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone badania wykazały, że wszystkie omawiane gatunki *Alternaria* rozpoczynały wzrost w tej samej temperaturze, nieco wyższej od 0°C, ale ich tempo wzrostu oraz temperatura, w której osiągały maksymalny przyrost grzybni, jak również maksymalna temperatura dla wzrostu różniły się między sobą.

W najmniejszym zakresie temperatury rozwijała się *Alternaria brassicae* (0,5—33°C), w szerszym o 5° *A. brassicicola* (0,5—38°C), a w największym wszystkie szczepy *A. tenuis* (0,5—40°C). Wyniki te są zbliżone do danych uzyskanych z literatury dla izolatów otrzymanych z innych roślin krzyżowych odnoszących się do *A. brassicae* (Neergaard 1945; Anja i Prasada 1952; Report Annuel de l'Institut..., 1955; Changsri i Weber 1960, 1963; Taber i inni 1968) i *A. brassicicola* (Weimer 1924; Neergaard 1945; Hemmi i Ishigami 1953; Changsri i Weber 1960, 1963; Taber i inni 1968). Na ogół jednak izolaty otrzymane z modraka abisyńskiego rozwijały się w szerszym zakresie temperatury — wcześniej zaczynały rosnąć wykazując wyższą temperaturę maksymalną. Obydwa gatunki cechował węższy zakres temperatury dla optymalnego wzrostu grzybni niż to podaje literatura.

Natomiast brak jest równorzędnych badań nad *A. tenuis* wyizolo-

waną z roślin krzyżowych. Jednakże temperatura optymalna dla wzrostu, ustalona dla badanych izolatów *A. tenuis*, jest zbliżona w ogólnych zarysach do stwierdzonej dla izolatów tego gatunku pochodzących z innych roślin (Neergaard 1945; Dorn 1955; Kapoor i Hingoram 1958; Pestinskaja 1959; Ashour i El-Kadi 1959; Hasija 1970).

Wydaje się jednak, że te różnice mogą być spowodowane różnorodnością pożywek stosowanych przez różnych badaczy. W naszych badaniach na ogół na obydwu pożywkach stwierdzono u grzybów jednakowe punkty kardynalne, pomimo że wyraźnie lepiej rozwijały się na pożywce agarowo-brzeczkowej niż na agarowo-mineralnej i wytwarzały większe liniowe przyrosty grzybni oraz większą masę grzybni.

Przeprowadzone badania pozwoliły również na stwierdzenie wyraźnych różnic w szybkości i obfitości zarodnikowania wszystkich badanych gatunków grzybów — najobficiej zarodnikowała *A. brassicicola*, nieco słabiej, ale również bardzo obficie *A. tenuis* szczep B, znacznie słabiej szczep A, słabo szczep C, a najslabiej *A. brassicae*.

Na podstawie przeprowadzonych badań można więc ustalić występowanie różnic między omawianymi gatunkami zarówno we wzroście, jak i zarodnikowaniu. *A. brassicae* charakteryzowała się najwęższym zakresem temperatury dla wzrostu liniowego oraz najniższą temperaturą optymalną dla rozwoju, najmniejszym przyrostem suchej masy oraz najwolniejszym i najmniej obfitym zarodnikowaniem. Na fakt słabego zarodnikowania tego gatunku zwrócił uwagę również Billotte (1963).

A. brassicicola odznaczała się szerszym zakresem temperatur dla wzrostu liniowego, większymi przyrostami suchej masy oraz najobfitym zarodnikowaniem.

Natomiast wszystkie szczepy *A. tenuis* były również zróżnicowane fizjologicznie — różniły się tempem wzrostu grzybni, przyrostem suchej masy, szybkością i obfitością zarodnikowania. Dane te dla wydzielonych szczepów były następujące:

- szcep A — wykazywał największe tempo wzrostu grzybni oraz przyrostu suchej masy, zarodnikował średnio obficie, ale najwolniej;
- szcep B — wykazywał najslabsze tempo wzrostu grzybni i przyrostu suchej masy grzybni, najobficiej zarodnikował i względnie szybko rozpoczynał zarodnikowanie;
- szcep C — wykazywał pośrednie przyrosty suchej masy i tempa wzrostu grzybni, zarodnikował najszybciej, ale najmniej obficie.

Różnice, jakie wystąpiły wśród badanych gatunków *Alternaria* w zakresie rozwoju w różnych zakresach temperatury, a przede wszystkim w szybkości i obfitości zarodnikowania, mogą w bardzo istotny

sposób wpływać na wystąpienie i rozwój wywoływanej przez nie choroby modraka abisyńskiego. W związku z tym, że w wywołaniu choroby większe szanse ma grzyb chorobotwórczy, szybciej i obficie zarodnikujący, gdyż w krótszym czasie po wywołaniu infekcji pierwotnej, wytwarza większą ilość inokulum zdolnego wywoływać dalsze infekcje wtórne, wydaje się że rola gatunku *A. tenuis* w wywoływaniu alternariozy modraka jest bardzo duża, znacznie większa niż pozostałych gatunków, a szczególnie *A. brassicae*. Wskazują na to wyniki izolacji z naturalnie porażonego materiału — gatunek ten był najczęściej izolowany z roślin, natomiast *A. brassicae* — najrzadziej (Czyżewska 1969).

WNIOSKI

1. Temperatura wpływała na charakter wzrostu wszystkich badanych grzybów, obfitość wytworzonej grzybni pożywkowej i powietrznej, zabarwienie kultur, na szybkość i obfitość zarodnikowania, przy czym dla poszczególnych gatunków wpływ ten w ogólnych zarysach był jednaki.

2. Badane gatunki różniły się: charakterem wzrostu, zabarwieniem oraz obfitością wytwarzanej grzybni pożywkowej i powietrznej, graniczną i optymalną temperaturą dla wzrostu liniowego, przyrostami suchej masy grzybni, szybkością i obfitością zarodnikowania.

3. Szczepy *A. tenuis* różniły się morfologicznie — wielkością i kształtem zarodników, charakterem wzrostu i wyglądem kultur oraz fizjologicznie — tempem wzrostu grzybni, przyrostem suchej masy, szybkością i obfitością zarodnikowania.

4. Rodzaj pożywki bardzo wyraźnie wpływał na wzrost i zarodnikowanie grzybów: na pożywce agarowo-brzeczkowej grzyby lepiej się rozwijały oraz szybciej i obficie zarodnikowały niż na pożywce agarowo-mineralnej.

SUMMARY

The influence of the temperatures on the growth and sporulation of species *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc., *A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire, *A. tenuis* auct strains A, B, C isolated from natural infected plants of *Cramble abyssinica* Hochst. was investigated. Those investigations were carried on MA and SA media in those temperatures: 0,5—1,5, 5, 12, 17, 20, 23, 25, 27, 30, 32, 33, 35, 38, 40, 42°C. In those investigations the lineal growth of mycelium, the increase of weight dry mass of mycelium, the rate and abundance of sporulation of those species were investigated.

All investigated species were differentiated on the base growth, kind, colour and abundance produced air and submerged mycelium, the range of temperature

for the lineal growth, the increase of dry mass of mycelium, the rate and abundance of sporulation.

The strains of *A. tenuis* differentiated morfological (the sizes and shapes of spores, growth, kind and appearance of cultures) and physiological (the rate of growth of mycelium, the increase of the weight of dry mass of mycelium and the rapidity and abundance of spores produce).

The lineal growth of mycelium of the examined species was found to be in this range of temperatures (table 1, fig. 1):

A. brassicae 0,5—33°C, opt. 23°C (MA and SA); *A. brassicicola* 0,5—38°C, opt. 25°C (MA and SA); *A. tenuis* strain A 0,5—40°C, opt. 25—27°C on MA and 27°C on SA; *A. tenuis* strain B 0,5—40°C, opt. 25°C (MA and SA); *A. tenuis* strain C 0,5—40°C, opt. 27°C (MA and SA).

The increase of dry mass of mycelium of those examined species was depending from temperature and the most was in optimal temperature of lineal growth of mycelium or in temperatures close to optimal. It was different for various species — the highest of *A. tenuis* strain A, next for *A. tenuis* strain C and species *A. brassicicola* and *A. tenuis* strain B, the lowest of *A. brassicae* (Fig. 2).

The temperature influenced on the beginning and abundance of sporulation of all investigated species very strongly. The temperature closed to optimal for the growth or a little higher was also the best for the beginning of sporulation and the number of spores produced. Those species didn't sporulated in the minimal or maximal temperatures (table 3). The range of the temperatures in which there were the abundanced sporulation were following — *A. brassicae* from 20 to 30°C, *A. brassicicola* from 17—30°C, *A. tenuis* strain A from 17—35°C, *A. tenuis* strain B from 20—30°C, *A. tenuis* strain C from 12—30°C. The species *A. brassicicola* produced the largest number of spores. The species *A. tenuis* also strain B produced large number of spores but less two other strains A and specially C were sporulated not so abundantly. The lowest number of spores was produced by the species *A. brassicae*. Growth and sporulation of those fungi were influenced strongly by the kind of medium. Those fungi were grown much better on the MA than SA medium and started also quicker sporulation and produced more spores.

LITERATURA

- Ashour N. E., El-Kady M. M., 1959, Cultural studies on *Fusarium semitectum*, *Alternaria tenuis* and *Rhizoctonia solani* which cause damping — off of Tomato seedlings A'in Shoms sci, bull. 1958 (3): 57—68.
- Billotte J. M., 1963, Une methode d'induction de la sporulation de l'*Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. du colza en culture pure, Comptes Rendus Acad. Agr. de France 1963, 49 (12): 1056—1058.
- Changsri W., Weber G. F., 1960, Studies of *Alternaria* spp. pathogenic on *Cruciferae*, Abs. in Phytopathology 50 (9): 631.
- Changsri W., Weber G. F., 1963, Three *Alternaria* species pathogenic on certain cultivated crucifers, Phytopathology 53 (6): 643—649.
- Czyżewska S., 1969, Alternarioza modraka abisyńskiego (*Crambe abyssinica* Hochst.), Acta mycologica 5: 173—211.
- Hasija S. K., 1970, Physiological studies of *Alternaria citri* and *A. tenuis*, Mycologia 62 (2): 289—295.

- Neergaard P., 1945, Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium* taxonomy, parasitism, economical significance, London Oxford.
- Pestinskaja T. V., 1959, Izmenenie antagoničeskich svojstv gribov pod vlijaniem temperatury, Botan. Ž. ZSRR 44 (7): 1007—1009.
- Taber Ruth Ann, Vanterpool T. C., Taber W. A., 1968, A comparative nutritional study of *Alternaria raphani*, *A. brassicae* and *A. brassicicola* with special reference to *A. raphani*, Phytopathology 58: 609—616.
- Weimer J. L., 1924, *Alternaria* leafspot and brownrot of cauliflower, Jour. Agric. Research 29 (9): 421—441, Washington.
- The Review of Applied Mycology; t. 33: 82; Anja, Prasada 1952; t. 35: 418, Report Annuel de l'Institut National de la Recherche Agronomique 1952, 3 Marts 1955; t. 35: 500, Hemmi, Ishigami 1955; t. 35: 627, Dorn 1955; t. 39: 145, Kapoor, Hingorami 1958.