

Zaštita bilja
Vol. 65 (1), №287, 15–26, 2014, Beograd
Plant Protection
Vol. 65 (1), №287, 15–26, 2014, Belgrade

UDK: 635.128–295.2;
632.952.2
Naučni rad
Scientific paper

MORFO-FIZIOLOŠKA PROUČAVANJA IZOLATA *ALTERNARIA SPP.* POREKLOM SA CELERA

JOVANA BLAGOJEVIĆ¹, VIOLETA ORO², IVAN NIKOLIĆ², TATJANA POPOVIĆ²,
GORAN ALEKSIĆ², VELJKO GAVRILOVIĆ², ŽARKO IVANOVIĆ²

¹Stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

²Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

e-mail:kipepeo11@gmail.com

REZIME

Vrste roda *Alternaria* predstavljaju jedne od najznačajnijih gljiva patogena familije *Apiaceae*. Promene koje izazivaju na biljkama domaćinima su mrka trulež korena, pegavost lišća, sušenje listova i lisnih preteljki. Tokom 2012. i 2013. godine na teritoriji Srbije, prikupljeni su uzorci celera sa karakterističnim simptomima pegavosti lišća i sušenja listova. Identifikacija izolata je izvršena analizom morfoloških karakteristika spora gljive. Nakon identifikacije izvršena su uporedna proučavanja uticaja različitih hranljivih podloga, temperatura, pH vrednosti podloga i kvaliteta svetlosti na morfološke karakteristike izolata, porast kolonija i morfologiju spora.

Ključne reči: celer, *Alternaria*, morfologija, fiziologija, porast micelije, sporulacija

UVOD

Familija *Apiaceae* Lindl. (familija šargarepa i peršuna, ranije poznata pod nazivom *Umbelliferae* Juss. ili štitonoše) je karakteristična po cvasti ma koje se grupišu podsećajući na kišobran ili štit. Zbog odsustva opšte prihvaćene klasifikacije može se reći da obuhvata oko 300–455 rodova i do 3750 vrsta (Constance, 1971; Downie, 2000). Ova familija predstavlja vrlo značajnu grupu začinske i lekovitim biljaka koje se gaje širom sveta. Najznačajniji predstavnici su: šargarepa (*Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang), celer (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) DC), paštrnak (*Patinaca sativa* L.), peršun (*Petroselinum crispum* L.), kim (*Carum carvi* L.), mirođija (*Anethum graveolens* L.), komorač (*Foenicum vulgare* Mill.), anis (*Pimpinella anisum* L.), korijander (*Coriandrum sativum* L.) i angelika (*Angelica archangelica* L.) (Koike, 2006). Celer (*Apium graveolens* ver. *rapaceum*) je

dvogodišnja biljka koja se gaji zbog hranljivog korena, sočnog lista i lisne drške. Proizvodi se širom sveta, a najviše u Americi (Nonnecke, 1989).

Brojne patogene gljive ugrožavaju gajenje i proizvodnju biljaka iz familije *Apiaceae*, a među njima poseban značaj imaju gljive iz roda *Alternaria*. Najveći broj predstavnika ovog roda su saprobi koji se mogu naći u biljnim ostacima ili u zemljištu, ali mogu biti i patogeni za ekonomski vrlo značajne biljke kao što su šitarice, uljarice, povrće, voće i različito ukrasno bilje (Jolly, 1964; Ellis, 1971; Simmons and Roberts, 1993; Strandberg, 1992; Rotem, 1994; Thomma, 2003; Peever et al., 2004). Taksonomija roda *Alternaria* se bazira na morfološkoj i razvoju konidija i konidiofora gljive (Elliot, 1917; Wiltshire, 1947; Simmons, 1967) koji mogu biti vrlo varijabilni, što stvara velike poteškoće prilikom identifikacije. Za većinu vrsta gljiva iz roda *Alternaria* teleomorfni stadijum nije poznat (Ellis, 1971).

Simptomi koje ovi patogeni mogu izaziva-

ti na biljkama familije Apiaceae su lisna pegavost (Netyer and Kenneth, 1969; Pryor and Standberg, 2002; Pryor, 2003), sušenje listova, nekroza lisnih peteljki i crna trulež (Ellis and Holliday, 1972; Pryor, 2002; Farrar et al., 2004). Među najznačajnijim vrstama roda *Alternaria* patogenima familije Apiaceae mogu se svrstati sledeće:

- *Alternaria dauci* (J. G. Kuhn) J. W. Groves & Skolkose, patogen celera, šargarepe, paštrnka i peršuna (Farrar et al., 2004), prouzrokuje crnu lisnu pegavost i lisnu palež (Pryor and Standberg, 2002). Početni simptomi se javljaju na ivicama listova u vidu pega koje se šire i spajaju, lišće dobija crnu boju i počinje da se suši. Takođe je zabeleženo da može doći do propadanja klijanaca, truleži plodova, pegavosti krtola i stabljika (Strandberg, 1988);

- *Alternaria radicina* Meser, Drechsler and Eddy, pathogen celera, šargarepe, peršuna, paštrnka i kima (Ellis and Holliday, 1972; Wearing, 1980; Farrar et al., 2004; Pryor, 2002). Prouzrokuje sušenje klijanaca, sušenje krune i listova i crnu trulež korena. Simptomi se najčešće ispoljavaju u vidu sítinih braonastih lezija sa hlorotičnim oreolom koje se spajaju obrazujući crne lezije, posebno u korenju lisne peteljke šireći se dalje prema korenju (Koike, 2006);

- *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, patogen 300 različitih vrsta biljaka. Prouzrokuje lisnu pegavost, trulež i propadanje klijanaca kod biljaka familije Apiaceae (Solfrizzo, 2005);

- *Alternaria petroselini* (Neerg.) E. G. Simmons, patogen celera, peršuna, kima i anisa. Prouzrokuje lisnu pegavost koja dovodi do sušenja celih listova i lisnih peteljki. Ova vrsta je često pogrešno klasifikovana, kao *A. radicina* (Pryor and Gilberston, 2002);

Od drugih vrsta roda *Alternaria*, patogena familije Apiaceae pominju se i *Alternaria carotinoculateae* (Simmons, 2007), *Alternaria selini* (Simmons, 2007) i *Alternaria smyrnii* (Simmons, 2007).

S obzirom na značaj fitopatogenih gljiva iz roda *Alternaria*, cilj ovog rada je bio da se izvrši identifikacija *Alternaria* spp. patogena celera i da se izvrše uporedna morfološko-fiziološka proučavanja karakteristika dobijenih izolata.

MATERIJAL I METODE

Prikupljanje materijala

U toku 2012. i 2013. godine prikupljene su obolele biljke celera sa karakterističnim simptomima lisne pegavosti i sušenja listova poreklom sa pet lokaliteta na teritoriji Srbije (Tabela 1.).

Tabela 1. Geografsko poreklo izolata sa celera, simptomi i godine izolacije.

Table 1. Geographical origin of the isolates from celery, symptoms and the year of isolation.

Izolat Isolate	Simptom Symptom	Lokalitet Locality	Godina Year
IZB 1c	Sušenje listova	Horgoš	2013
IZB 2c	Sušenje listova	Horgoš	2013
IZB 3c	Lisna pegavost	Negotin	2013
IZB 4c	Lisna pegavost	Negotin	2013
IZB 5c	Sušenje listova	Negotin	2013
IZB 6c	Lisna pegavost	Borča	2012
IZB 7c	Sušenje listova	Borča	2012
IZB 8c	Sušenje listova	Loznica	2012
IZB 9c	Lisna pegavost	Novi Pazar	2013
IZB 10c	Sušenje listova	Novi Pazar	2013

Izolacija patogena iz biljnog materijala i dobijanje monosporijalnih izolata

Izolacija patogena je vršena prema metodi Dhingra i Sinclair (1986). Oboljelo lišće sa simptomima je površinski dezinfikovano u 3% rastvoru natrijum-hipohlorita (NaOCl) u trajanju od 30 sekundi. Sitni lisni fragmenti uzimani su sa prelaza obolelog i zdravog tkiva i zasejavani u Petri kutije sa sterilnim krompir dekstroznim agarom (PDA, Dhingra and Sinclair, 1986). Petri kutije su postavljene na inkubaciju u termostat na temperaturu od 24 °C. Nakon 3 dana razvoja, deo micelije presejavan je na novu PDA podlogu i inkubiran na 24 °C 5 dana čime su dobijeni čisti izolati gljive. Za dalji rad odabran je deset reprezentativnih izolata. Za dobijanje monosporijalnih izolata, u Petri kutije je dodavano 10 ml sterilne vode i blagim utrljavanjem pomoću staklenog štapića skidana micelija sa konidijama kako bi se odvojila od podloge. Nakon toga pripremljena su razredjenja od 10^{-1} i 10^{-2} iz kojih je po 0.1 ml zasejavan na vodenim agar (WA, Dhingra and Sinclair, 1986). Nakon inkubacije u trajanju od 12 h, pojedinačne proklijale konidije zasejavane su na PDA podlogu i postavljene u termostat na temperaturu od 24 °C. Monosporijalni izolati su presejavani u epruvete sa zakošenom PDA podlogom i na taj način je formirana kolekcija izolata koja je čuvana u frižideru na temperaturi od 4 °C.

Ispitivanje morfoloških osobina konidija izolata

Ispitivanje morfoloških osobina konidija izolata vršeno je posmatranjem privremenih mikro-

skopskih preparata (Muntanola-Cvetković, 1987). Pasterovom pipetom su na predmetno staklo postavljene 1-2 kapi sterilne vode u koju je iglom našešen fragment micelije izolata gajenog 7 dana na podlozi od šargarepe i krompira (PCA, Dhingra i Sinclair, 1986). Ispitivani su izgled i dimenzije konidija, širina, dužina, broj transverzalnih i longitudinalnih septi i dužina vrata konidije (Simmons, 2007). Konidije su slučajno odabirane u vidnom polju mikroskopa i za svaki izolat odabirano je 100 konidija. Ogled je postavljen u 3 ponavljanja.

Ispitivanje uticaja ekoloških faktora

Ispitivanje uticaja ekoloških faktora obuhvatiло је испитивање пораста micelije и интензитета спорулације на разлиčitim врстама хранљивог медијума, на разлиčitim pH вредностима подлоге, на разлиčitim температурама и у условима разлиčитог квалитета светlosti.

Uticaj hranljivih podloga na morfologiju, porast i sporulaciju izolata

Ispitivanje uticaja hranljivih podloga na morfologiju, porast i sporulaciju izolata vršeno je na 5 različitim podlogama: V8 podloga (Simmons, 1992), podloga od šargarepe i krompira (Simmons, 2007), podloga od vodenog agara (Dhingra and Sinclair, 1986), podloga od krompir-dekstroznog agara (Dhingra and Sinclair, 1986) i podloga od sladog agara (MA, Sheppard and Maddox, 2001).

Fragmenti micelije izolata (prečnika 5 mm) gajenih 7 dana na PDA podlozi, zasejavani su u centar Petri kutije i postavljeni na inkubaciju u termostat na temperaturu od 25 °C. Eksperiment je postavljen u tri ponavljanja. Porast izolata je određivan petog dana od datuma zasejavanja merenjem prečnika kolonija. Opisivani su boja, izgled i tekstura micelije, ivice kolonije, izgled naličja micelije, pojava segmenata i zoniranost micelije.

Intenzitet sporulacije, određivan je pomoću hemocitometra, merenjem koncentracije konidija u suspenziji (Muntanola- Cvetkovic, 1987). Pet dana nakon zasejavanja izolata na različite podlove, dodavano je po 2 ml sterilne vode. Staklenim štapićem micelija sa konidijama je odvajana od podlove. Voda sa suspenzijom je presipana u tubice i vorteksovana, kako bi se što efikasnije konidije odvojile od micelije. Suspenzija je dalje filtrirana kroz sterilnu pamučnu gazu, radi odstranjivanja micelije. Potom je kap suspenzije nanošena na hemocitometarsku pločicu. Pločica je

posmatrana pod mikroskopom na uvećanju 100x. Prebrojavanjem spora unutar polja na hemocitometru i korišćenjem odgovarajuće formule utvrđivana je gustina spora. Merenja su vršena u tri ponavljanja.

Uticaj kiselosti podlove na morfologiju, porast i sporulaciju izolata

Ispitivanje uticaja kiselosti podlove na morfologiju, porast i sporulaciju izolata vršeno je na PDA podlozi. Kiselošć podlove je podešavana sa 1M HCl i 1M NaOH na pH vrednosti od 3, 6 i 9. Uticaj kiselosti podlove na izolate je praćen posmatranjem morfologije kolonije izolata, merenjem porasta i intenziteta sporulacije. Ogled je postavljen u tri ponavljanja.

Uticaj temperature na morfologiju, porast i sporulaciju izolata

Ispitivanje uticaja temperature na porast i sporulaciju izolata posmatrano je na PDA podlozi pri temperaturama 5°C, 13°C, 20°C, 23°C, 25°C, 30°C i 35°C. Ogled je postavljen u tri ponavljanja.

Uticaj svetlosti na morfologiju, porast i sporulaciju izolata

Uticaj svetlosti na morfologiju kolonija, porast i sporulaciju izolata ispitivan je na PDA podlozi u različitim uslovima osvetljenja pri temperaturi 24°C tokom 5 dana. Izolati su izlagani stalnoj veštačkoj svetlosti, stalnom mraku i smeni svetlost-mrak 8-16h. Ogled je postavljen u tri ponavljanja.

REZULTATI

Prikupljanje materijala

Obolele biljke celera sa karakterističnim simptomima lisne pegavosti i sušenja listova sakupljene su sa 5 različitim lokaliteta na teritoriji Srbije (Tabela 1). Iz prikupljenih biljaka sa simptomima, dobijeno je 10 monosporijalnih izolata *Alternaria* spp. koji su korišćeni za dalja istraživanja.

Ispitivanje morfoloških osobina konidija i preliminarna identifikacija izolata

Na osnovu proučavanja morfoloških osobina konidija (boja, oblik, dužina i širina tela konidije, prisutnost i dužina vrata konidija, broj longitudinalnih i transverzalnih septi) izdvojene su tri grupe izolata.

Prva grupa obuhvata izolate IZB 3c, IZB4c, IZB7c, IZB9c i IZB10c, kod kojih su konidije elipsoidne, u lančanim nizovima i do 15 u nizu. Dimenzije konidiospora u proseku za ovu grupu izolata na V8 podlozi iznosile su $20\text{--}45 \times 5\text{--}14 \mu\text{m}$, a na PCA podlozi $12\text{--}25 \times 5\text{--}12 \mu\text{m}$. U proseku ove konidije su imale 3-4 transverzalne septe i 1-3 longitudinalne septe. Kljun odnosno sam vrh konidija je bio kratak ovalnog oblika ili se nije ni formirao. Boja konidija je braonkasta. Prema literaturnim podacima veličina i struktura ovih konidija odgovara vrsti *Alternaria alternata* (Simmons, 2007).

Druga grupa izolata obuhvata izolate pod šiframa IZB1c, IZB2c, i IZB5c, kod kojih se mogu uočiti znatno okruglastije konidiospore nego što je to slučaj kod *Alternaria alternata*. Veličina konidiospora je u proseku bila $15\text{--}75 \times 10\text{--}50 \mu\text{m}$. Kod ove grupe moguće su se uočiti 2-8 transverzalnih i 1-3 longitudinalnih septi u proseku. Boja spora je braonkasta. Izolati iz ove grupe nisu mogli biti identifikovani prema ključu Simmons (2007).

Treću grupu čine izolati IZB 6c i IZB 8c, kod kojih su se spore značajno razlikovale od prve dve grupe. Oblik spora je izdužen elipsoidan, sa vrlo dugačkim vratom koji je značajno premašivao dimenzije tela spore. Spore su tamnomaslinaste, a vratovi su svetlije boje i suženi na vrhu. Prosečne dimenzije spora iznosile su $43\text{--}100 \times 16\text{--}27 \mu\text{m}$. Broj transverzalnih septi je veći nego što je to slučaj kod prethodnih grupa i maksimalno je iznosio 15, dok je longitudinalnih septi bilo do 3. Prema literaturnim podacima veličina i struktura ovih konidija odgovara vrsti *Alternaria dauci* (Simmons, 2007).

Ispitivanje uticaja ekoloških faktora

Uticaj hranljivih podloga na morfologiju, porast i sporulaciju izolata

Morfološke odlike kolonija su posmatrane na podlogama V8, PCA i PDA. Proučavani izolati na ovim podlogama formiraju tri grupe koje se podudaraju sa grupama dobijenim preliminarnom identifikacijom konidiospora.

Prvu grupu čine izolati IZB 3c, IZB 4c, IZB 7c, IZB 9c i IZB 10c, kod kojih je micelija vazdušaste teksture, tamnosive boje, pravilnih ivica, ivičnih linija oko 5 mm, sa blago ispušćenim centralnim delom micelije. Na ovim podlogama moguće je uočiti koncentrične krugove koji zapravo predstavljaju zone sporulacije. Na PCA podlozi, micelija je nešto slabija nego što je to slučaj na V8 podlozi. Sektori na miceliji nisu uočeni kod pod-

loga PCA i V8. Sa naličja micelija je mrka, ravna i ne uočavaju se promene u boji podloge.

Drugu grupu čine izolati IZB 1c, IZB 2c, i IZB 5c, kod kojih je micelija vazdušaste teksture svetlobraon sa centrom tamnije braon boje. Ivica kolonije je žućkaste boje, talasasta, debljine oko 7 mm. Na miceliji nisu uočeni sektori i zone.

Treću grupu čine izolati IZB 6c i IZB 8c koji su na podlozi V8 formirali maslinastobraon mice-liju, vazdušaste teksture pravilnog kružnog oblika, sa jasno izraženim koncentričnim krugovima sa lica i naličja. Ivica je beličasta i pravilna, debljine oko 3 mm. Nije uočeno formiranje sektora, niti je dolazilo do promene boje podloge.

Prema rezultatima ispitivanja uticaja 5 različitih hranljivih podloga (Tabela 2), može se istaći da je najveći porast izolata beležen na podlozi V8, a najslabiji na podlozi MA. Najveći porast na V8 podlozi je bio kod izolata IZB 4c, a najmanji kod izolata IZB 2c. Na podlozi PCA najveći porast je kod izolata IZB 4c, a najmanji kod izolata IZB 5c. Na podlozi WA maksimalan porast je beležen kod izolata IZB 10c, a najmanji kod izolata IZB 2c. Na PDA maksimalan porast je bio kod izolata IZB 9c, a najmanji kod IZB 2c. Kod MA podloge najveći porast je zabeležen kod izolata IZB 10c, a najmanji kod IZB 5c. S obzirom da se intenzitet porasta kolonija izolata nije dovoljno razlikovalo na ispitivanim podlogama nisu se mogli izdvojiti pojedine grupe.

Nakon 5 dana intenzitet sporulacije (spore/ml suspenzije) određen pomoću hemocitometra (Tabela 3). Utvrđeno je da je V8 podloga najpogodnija za sporulisanje izolata, a najveća sporulacija je kod izolata IZB 9c. Intenzitet sporulacije izolata je manji na PCA podlozi, zatim na WA i PDA, dok je najmanja gustina spora zabeležena na podlozi MA gde izolati IZB 6c i IZB 8c nisu sporulisali. Intenzitet sporulacije ne može biti značajan taksonomski kriterijum jer se na osnovu ovog kriterijuma grupe izolata ne mogu jasno razdvojiti.

Uticaj kiselosti podloge na porast i sporulaciju izolata

Uticaj kiselosti PDA podloge na porast i sporulaciju izolata ispitivan je kod tri različite pH vrednosti podloge: 3, 6 i 9. Peti dan nakon zasejanja posmatrane su karakteristike formiranih kolonija, porast i sporulacija izolata (Tabela 4).

Na podlozi pH 3, micelija je uglavnom pamučasta, beličaste boje i slabe bujnosti. Ivice micelije su nepravilne, mada jasno izražene. Najve-

Tabela 2. Prečnik kolonija proučavanih izolata na hranljivim podlogama (mm).
Table 2. Diameter of the studied colonies on nutrition media (mm).

Izolat Isolate	Hranljive podloge Nutrition media				
	V8	PCA	WA	PDA	MA
IZB 1c	55.7 ±0.21*	49.0 ±0.23	44.2 ±0.33	32.7 ±0.13	25.3 ±0.23
IZB 2c	41.9 ±0.32	43.7 ±0.54	40.2 ±0.21	23.6 ±0.10	21.2 ±0.55
IZB 3c	65.5 ±0.24	58.1 ±0.26	57.1 ±0.63	53.5 ±0.47	50.1 ±0.31
IZB 4c	70.4 ±0.34	67.3 ± 0.35	64.4 ± 0.47	56.1 ± 0.15	53.4 ± 0.30
IZB 5c	43.5 ±0.19	43.1 ±0.73	40.3 ±0.47	24.7 ±0.25	20.4 ±0.20
IZB 6c	58.5 ±0.21	44.3 ±0.5	45.4 ±0.30	26.4 ± 0.11	24.2 ±0.13
IZB 7c	67.4 ±0.21	62.3 ±0.15	59.5 ± 0.52	55.5 ±0.47	50.3 ±0.10
IZB 8c	57.3 ±0.17	46.2 ± 0.39	48.2 ±0.21	32.5 ±0.54	21.7 ±0.71
IZB 9c	67.5±0.28	63.3±0.12	60.9±0.72	61.6±0.42	52.9 ± 0.42
IZB 10c	66.6 ±0.27	65.8 ±0.21	67.1 ±0.65	60.4 ±0.34	56.4 ± 0.86

*standardna devijacija

Tabela 3. Intenzitet sporulacije na različitim hranljivim podlogama (konidije/ml).
Table 3. Sporulation intensity on different nutrition media (conidia/ml).

Izolat Isolate	Hranljive podloge Nutrition media				
	V8	PCA	WA	PDA	MA
IZB 1c	249±0.33*	115±0.36	37±0.47	67±0.40	14±0.22
IZB 2c	219±0.24	161±0.29	34±0.15	70±0.31	13±0.39
IZB 3c	237±0.48	163±0.17	136±0.22	109±0.37	31±0.51
IZB 4c	174±0.28	151±0.23	153±0.21	93±0.41	27±0.49
IZB 5c	304±0.26	176±0.19	52±0.38	52±0.48	23±0.34
IZB 6c	123±0.38	35±0.44	7±0.40	19±0.18	0.0
IZB 7c	283±0.44	178±0.48	124±0.20	97±0.35	24±0.17
IZB 8c	98±0.61	17±0.39	6±0.14	13±0.39	0.0
IZB 9c	320±0.34	183±0.47	107±0.28	173±0.24	35±0.50
IZB 10c	262±0.36	133±0.28	168±0.38	163±0.51	38±0.41

*standardna devijacija

ći porast zabeležen je za izolate IZB 9c i IZB 10c. Najslabiji porast pokazao je izolat IZB 8. Izolati se na osnovu zabeleženog porasta ne mogu diferencirati u grupe.

Kiselost podloge pH 6 je znatno povoljnija za rast od pH 3 i 9. Na osnovu izgleda kolonija moguće je diferencirati 3 grupe izolata. Izolati IZB 3c, IZB 4c, IZB 7c, IZB 9c i IZB 10c obrazovali su vazdušastu miceliju tamnosive boje, ravnih ivica. Drugu grupu čine izolati IZB 1c, IZB 2c i IZB 5c kod kojih je micelija tamna, nepravilnih ivica. Izolati IZB 6 i IZB 8 obrazovali su beličastu miceli-

ju sa jasnim ivičnim linijama.

Na pH 9 se prema morfologiji može razlikovati prva grupa izolata, ali druge dve ne mogu. Najveći porast je bio kod izolata IZB 9c, a najmanji kod izolata IZB 5c.

Provera intenziteta sporulacije na različitim pH vrednostima podloge je pokazala da se ne mogu izvojiti posebne grupe izolata. Najveći intenzitet sporulacije pokazao je izolat IZB 9c za sve pH vrednosti. Takođe, može se uočiti da je pH 9 povoljnija za porast i sporulaciju za sve ispitivane izolate od pH 3 (Tabela 5).

Tabela 4. Porast izolata na različitim pH vrednostima podloge (mm).

Table 4. Isolates growth rate on different pH values of nutrition media (mm).

Izolat Isolate	pH 3	pH 6	pH 9
IZB 1c	23 ± 0.33*	30 ± 0.53	28 ± 0.41
IZB 2c	20 ± 0.51	24 ± 0.47	27 ± 0.38
IZB 3c	33 ± 0.51	54 ± 0.55	49 ± 0.13
IZB 4c	37 ± 0.62	57 ± 0.28	45 ± 0.23
IZB 5c	21 ± 0.62	25 ± 0.14	23 ± 0.33
IZB 6c	20 ± 0.15	27 ± 0.21	25 ± 0.24
IZB 7c	36 ± 0.53	54 ± 0.43	45 ± 0.54
IZB 8c	19 ± 0.17	33 ± 0.31	27 ± 0.56
IZB 9c	39 ± 0.43	65 ± 0.65	50 ± 0.17
IZB 10c	39 ± 0.45	62 ± 0.59	49 ± 0.73

*standardna devijacija

Tabela 5. Intenzitet sporulacije na različitim pH vrednostima podloge (konidije/ml).

Table 5. Sporulation intensity on different pH values of nutrient media (conidia/ml).

Izolat Isolate	pH 3	pH 6	pH 9
IZB 1c	17 ± 0.33*	50 ± 0.53	26 ± 0.41
IZB 2c	23 ± 0.51	25 ± 0.47	25 ± 0.38
IZB 3c	23 ± 0.51	53 ± 0.55	38 ± 0.13
IZB 4c	31 ± 0.62	57 ± 0.28	40 ± 0.23
IZB 5c	29 ± 0.62	37 ± 0.14	31 ± 0.33
IZB 6c	7 ± 0.15	15 ± 0.21	10 ± 0.24
IZB 7c	23 ± 0.53	53 ± 0.43	22 ± 0.54
IZB 8c	5 ± 0.17	20 ± 0.31	7 ± 0.56
IZB 9c	35 ± 0.43	97 ± 0.65	41 ± 0.17
IZB 10c	25 ± 0.45	69 ± 0.59	30 ± 0.73

*standardna devijacija

Tabela 6. Uticaj različitih temperatura na porast izolata (mm).

Table 6. Influence of different temperatures on the growth of isolates (mm).

Izolat Isolate	5°C	13°C	20°C	25°C	30°C	35°C
IZB 1c	21.3 ± 0.27*	23 ± 0.34	26 ± 0.25	30 ± 0.26	32 ± 0.56	28 ± 0.33
IZB 2c	19.3 ± 0.56	21 ± 0.56	22 ± 0.23	26 ± 0.33	27 ± 0.37	23 ± 0.66
IZB 3c	14.3 ± 0.23	22 ± 0.98	38 ± 0.98	52 ± 0.64	47 ± 0.53	37 ± 0.13
IZB 4c	16.7 ± 0.14	27 ± 0.53	38 ± 0.67	54 ± 0.51	49 ± 0.72	39 ± 0.27
IZB 5c	19.2 ± 0.25	21 ± 0.23	23 ± 0.16	24 ± 0.34	26 ± 0.35	24 ± 0.22
IZB 6c	20.1 ± 0.38	25 ± 0.14	38 ± 0.15	53 ± 0.11	54 ± 0.36	40 ± 0.38
IZB 7c	18.4 ± 0.43	25 ± 0.86	43 ± 0.38	58 ± 0.79	52 ± 0.22	45 ± 0.57
IZB 8c	20.5 ± 0.25	24 ± 0.45	39 ± 0.27	51 ± 0.56	56 ± 0.30	40 ± 0.36
IZB 9c	22.1 ± 0.49	30 ± 0.56	42 ± 0.55	60 ± 0.56	55 ± 0.35	44 ± 0.62
IZB 10c	20.7 ± 0.30	31 ± 0.67	41 ± 0.36	60 ± 0.63	52 ± 0.74	44 ± 0.58

*standardna devijacija

Tabela 7. Uticaj temperature na intenzitet sporulacije (konidija/ml).

Table 7. Effect of temperature on the sporulation intensity (conidia/ml).

Izolat Isolate	5°C	13°C	20°C	25°C	30°C	35°C
IZB 1c	11.4±0.24*	17.3±0.23	43.9±0.28	67.2±0.47	50.4±0.25	9.1±0.33
IZB 2c	9.6±0.19	23.5±0.47	52.8±0.51	60.7±0.90	57.5±0.19	11.8±0.28
IZB 3c	0.0	5.9±0.38	26.5±0.24	69.3±0.27	57.5±0.23	0.0
IZB 4c	0.0	9.3±0.33	32.5±0.33	73.6±0.22	59.9±0.24	0.0
IZB 5c	8.1±0.43	20.5±0.25	40.5±0.27	52.4±0.38	46.1±0.48	4.7±0.58
IZB 6c	0.0	0.0	5.3±0.48	15.7±0.41	7.5±0.56	0.0
IZB 7c	7.4±0.45	15.5±0.34	37.0±0.21	78.1±0.28	59.0±0.78	3.4±0.39
IZB 8c	0.0	2.0±0.38	7.3±0.34	14.8±0.46	5.6±0.52	0.0
IZB 9c	8.2±0.29	14.6±0.29	39.5±0.12	133.3±0.17	78.7±0.26	6.6±0.39
IZB 10c	6.7±0.41	12.9±0.38	40.5±0.37	150.8±0.44	107.3±0.48	7.5±0.25

*standardna devijacija

Tabela 8. Uticaj različitog osvetljenja na porast izolata (mm).
Table 8. The effect of lighting on the growth of isolates (mm).

Izolat Isolate	Smena svetlost-mrak 8-16h Light – Dark period 8-16h	Veštačka svetlost Artificial conditions	Potpuni mrak Complete darkness
IZB 1c	27.4 ± 0.19*	23.9 ± 0.59	25.1 ± 0.18
IZB 2c	21.6 ± 0.39	20.5 ± 0.26	20.3 ± 0.16
IZB 3c	57.6 ± 0.40	57.9 ± 0.45	54.3 ± 0.23
IZB 4c	58.7 ± 0.40	59.7 ± 0.65	56.5 ± 0.44
IZB 5c	19.8 ± 0.13	20.3 ± 0.37	20.0 ± 0.31
IZB 6c	37.7 ± 0.60	34.9 ± 0.39	33.5 ± 0.30
IZB 7c	63.4 ± 0.20	60.3 ± 0.22	62.6 ± 0.45
IZB 8c	30.5 ± 0.38	39.9 ± 0.21	31.6 ± 0.21
IZB 9c	61.0 ± 0.22	65.3 ± 0.39	62.4 ± 0.90
IZB 10c	68.5 ± 0.43	67.7 ± 0.52	61.7 ± 0.22

*standardna devijacija

Tabela 9. Uticaj različitog osvetljenja na intenzitet sporulacije izolata (konidija/ml).
Table 9. The effect of lighting on the sporulation intensity (conidia/ml).

Izolat Isolate	Smena svetlost-mrak 8-16h Light – dark period 8-16h	Veštačka svetlost Artificial light	Potpuni mrak Complete darkness
IZB 1c	80.5 ± 0.49*	71.5 ± 0.26	70.4 ± 0.67
IZB 2c	70.3 ± 0.56	57.2 ± 0.76	57.7 ± 0.73
IZB 3c	80.4 ± 0.20	72.3 ± 0.33	69.3 ± 0.56
IZB 4c	99.6 ± 0.30	70.4 ± 0.70	73.6 ± 0.78
IZB 5c	55.9 ± 0.74	57.9 ± 0.37	60.5 ± 0.70
IZB 6c	14.4 ± 0.23	9.4 ± 0.89	7.5 ± 0.27
IZB 7c	120.8 ± 0.40	73.5 ± 0.27	78.1 ± 0.34
IZB 8c	15.1 ± 0.11	9.5 ± 0.30	10.3 ± 0.43
IZB 9c	160.1 ± 0.32	140.6 ± 0.39	133.3 ± 0.13
IZB 10c	180.3 ± 0.73	160.3 ± 0.62	150.8 ± 0.45

*standardna devijacija

Uticaj temperature na morfologiju porast i sporulaciju izolata

Uticaj temperature na porast i sporulaciju izolata proučavan je na podlozi PDA i to na 6 različitim temperaturama: 5°C, 13°C, 20°C, 25°C, 30°C i 35°C. Nakon 5 dana porasta ispitivane su morfološke karakteristike izolata i intenzitet sporulacije.

Prema dobijenim rezultatima, pokazalo se da su niske temperature najnepovoljnije za porast izolata. Na temperaturi 5°C najveći porast je bio kod izolata IZB 9c (Tabela 6). Svi izolati na ovoj temperaturi su obrazovali beličastu miceliju, sa jasnom ivicom. Micelija je u centru naborana, što se može videti i sa naličja. Četiri izolata na ovoj temperaturi nisu sporulisala i to IZB 3c, IZB 4c, IZB 6c, i IZB 8c. Najveći intenzitet sporulacije je kod izolata IZB 1c (Tabela 7).

Na temperaturi 13°C, porast i sporulacija su

nešto intenzivniji. Najveći porast je bio kod izolata IZB 10c, a najveća sporulacija kod IZB 2c. Morfološka kolonija je vrlo slična prethodno opisanoj.

Temperature 20°C, 25°C i 30°C su se pokazale najoptimalnije za porast i sporulaciju svih izolata. Najveći porast je kod izolata IZB 9c, a najmanji kod IZB 5c. Najveći intenzitet sporulacije je kod izolata IZB 10c.

Na temperaturi 35°C, porast kolonija i sporulacija su znatno manji. Najveće vrednosti su zabeležene kod izolata IZB 7c, a najveći intenzitet sporulacije kod IZB 10c. Četiri izolata nisu sporulisala i to IZB 3c, IZB 4c, IZB 6c i IZB 8c. Boja micelija je kod svih izolata na ovoj temperaturi bila tamnija.

Na osnovu gore navedenog se može zaključiti da temperatura nije dovoljan taksonomski kriterijum na osnovu koga bi se izdvojile određene grupe izolata.

Uticaj svetlosti na porast i sporulaciju ispitivanih izolata

Rezultati ispitivanja uticaja svetlosti su pokazali da režim svetlosti nije značajno uticao na morfologiju i porast ispitivanih izolata (Tabela 8). Različiti uslovi osvetljenja nisu značajnije uticali na izgled, boju i strukturu kolonija. Na osnovu rezultata nije se moglo sa sigurnošću utvrditi koji uslovi osvetljenja i kog trajanja stimulativno deluju na sporulaciju, ali je primećeno da je smena veštačke svetlosti i mraka intenzivnije indukovala sporulaciju (Tabela 9). Razlika u porastu i sporulaciji između uslova mraka i svetlosti se nije mogla precizno utvrditi. Najveća gustina spora utvrđena je kod IZB 10c u uslovima smene svetlosti, a najmanja kod IZB 6c u uslovima potpunog mraka.

DISKUSIJA

U cilju proučavanja varijabilnosti patogenih vrsta roda *Alternaria* izolovanih sa celera, tokom 2012. i 2013. godine sakupljane su biljke sa područja Horgoš, Novi Pazar, Loznica, Borča i Negotin. Odabirane biljke celera su imale jasne simptome lisne pegavosti i sušenja listova, koji odgovaraju simptomima koje izazivaju patogene gljive iz roda *Alternaria* (David, 1988; Strandberget et al., 1998; Raid and Roberts, 2004; Davieset et al., 2005; Pryor and Strandberg, 2002; Fararet et al., 2004; Marthe et al., 2002).

Vrste roda *Alternaria* su široko rasprostranjenje i mogu inficirati do 4000 različitih domaćina (Pryor, 2003). Zbog nedovoljno jasnih kriterijuma i velike varijabilnosti ove grupe fitopatogena, klasifikacija ovog roda je u mnogim slučajevima nejasna (Rotem, 1994; Simmons, 1992; Simmons, 2007). Najčešći i najpouzdanije korišćeni morfološki karakteri za identifikaciju ovih gljiva su konidije i njihove dimenzije, broj transverzalnih i longitudinalnih septi i načini granjanja konidiofora. U velikom broju slučajeva postojala su velika slaganja ovako dobijenih morfo grupa sa molekularnim filogenetskim analizama (Pryor, 2002; Hong, 2005; Lawrence, 2012), mada se u određenim slučajevima pokazalo da rezultati dobijeni na osnovu morfologije nisu bili filogenetski informativni. Lawrence et al. (2012) navode da su morfološki karakteri vrlo korsni i neophodni za razdvajanje najvećeg broja vrsta roda *Alternaria*.

U ovom radu proučavana je morfologija izolata gajenih na različitim hranljivim podlogama, pri različitim temperaturama, različitim pH vrednostima

ma podloge i različitim svetlosnim režimima.

Proučavanjem morfoloških karakteristika spora izdvojile su se tri grupe izolata. Kod prve grupe izolata (IZB 3c, IZB 4c, IZB 7c, IZB 9c i IZB 10c), uočene su elipsoidne konidije, u nizovima, zelenobraon boje. U skladu sa podacima Simmons (2007) veličina i struktura ovih konidija odgovarala je vrsti *A. alternata*. Kod druge grupe izolata (IZB 1c, IZB 2c i IZB 5c) spore su okruglastije, prosečnih dimenzija na V8 podlozi 15-75 x 10-50 µm sa 2-7 transverzalnih i 1-3 longitudinalnih septi. Na osnovu osobina spora, ova grupa se nije mogla jasno identifikovati. Kod treće grupe (izolati IZB 6c i IZB 8c) oblik spora je izduženo elipsoidan, dimenzija 43-100 x 16-27 µm, sa vratovima koji su bili dužine do 300 µm. Broj transverzalnih septi je bio veći nego kod prethodnih grupa i maksimalno je iznosio 15, dok je broj longitudinalnih septi do 3. Prema Simmons (2007) navedene osobine odgovaraju vrsti *Alternaria dauci*.

Dalja ispitivanja uticaja hranljivih podloga su pokazala da su se izolati razlikovali po porastu i boji micelije, boji i širini ivične linije kao i po intenzitetu sporulacije. Najveći porast izolati su pokazali na podlozi V8 (izolat IZB 4c), zatim na podlogama PCA (izolat IZB 4c), WA (izolat IZB 10c), PDA (izolat IZB 9c), a najslabiji porast za sve izolate beležen je na podlozi MA (izolat IZB 5c). Na podlozi V8 izdvojile su se 3 grupe izolata, identične raspodeli koju su pružila proučavanja morfologije spora. Prva grupa izolata se izdvojila na osnovu vazdušaste micelije svetlosive boje, ravnih ivica; druga grupa na osnovu pamučaste micelije mrke boje, talasastih ivica, a treća grupa je sa beličastom micelijom vazdušaste strukture sa izdignutim centrom. Ovi rezultati su u saglasnosti sa navodima Simmons (2007). Porast kolonija izolata se nije razlikovao dovoljno da bi se moglo izdvojiti grupe izolata. Takođe je utvrđeno da je V8 hranljiva podloga najpogodnija za sporulisanje svih izolata. Zbog razlika u gore navedenim vrednostima, uticaj hranljivih podloga ne može biti značajan samostalni taksonomski kriterijum jer se ne mogu jasno izdvojiti grupe izolata.

Uticaj kiselosti PDA podloge na porast i sporulaciju izolata ispitivan je na 3 različite pH vrednosti podloge: 3, 6 i 9. Najpovoljnija za porast i sporulaciju izolata je pH 6 gde se mogu izdvojiti grupe koje su i ranije uočene. Na osnovu izgleda kolonija na pH 6 moguće je diferencirati tri grupe izolata. Izolati prve grupe, IZB 3c, IZB 4c, IZB 7c, IZB 9c i IZB 10c su obrazovali vazdušastu miceliju tamnosive boje, ravnih ivica; izolati druge grupe IZB 1c, IZB 2c i IZB 5c su sa tamnom micelijom, nepravilnih ivica i slabog porasta i intenziteta sporulacije; treća grupa izolata IZB 6 i IZB 8 obrazovala je beličastu miceli-

ju sa jasnim ivicama. Ovakav opis kolonija navode i drugi autori (Pryor, 2002; Yu, 1992). Prema našim rezultatima i Ellis (1971) navodi da je pH 9 povoljnija za porast i sporulaciju izolata od pH 3.

Rezultati ispitivanje uticaja temperature na porast, sporulaciju i morfologiju izolata nisu pokazali značajne razlike u karakterima da bi se na osnovu njih izvršila identifikacija. Optimalne temperature su bile od 20°C, 25°C i 30°C, što je bilo u skladu sa navodima Mogan and Lacey (1984). Sporulacija i porast su bili znatno smanjeni na temperaturama 35°C, 13°C i 5°C. Na osnovu temperature kao ekološkog faktora nije moguće izdvojiti grupe izolata, stoga ova ispitivanja nisu bila pouzdan kriterijum za taksonomiju.

Ispitivanja uticaja svetlosti su pokazali da režim svetlosti ne utiče značajno na morfologiju, porast i sporulaciju ispitivanih izolata. Pod uticajem svetlosti izdvojili su se izolati IZB 6c i IZB 8c koji su prethodno identifikovani kao *A. dauci*. Što je u skladu sa navodima Strandberg (1977), dok se ostali izolati nisu značajnije razlikovali.

Svi ispitivani izolati su ispoljili porast i spo-

rulaciju na svim ispitivanim uslovima u ovom radu, što ukazuje na njihovu veliku prilagodljivost ekološkim faktorima, a to može biti posledica njihove varijabilnosti i široke rasprostranjenosti u različitim klimatskim i ekološkim uslovima (Thomma, 2003). Proučavanje uticaja hranljivih podloga, temperature, kiselosti i svetlosti kao posebnih taksonomske kriterijuma nisu dovoljna za identifikaciju, razlikovanje i grupisanje gljiva unutar roda *Alternaria*. Kako bi se razumelo poreklo velike varijabilnosti i bolje upoznala genetička struktura populacije gljiva iz roda *Alternaria* poreklom sa celera, moraju se izvršiti dalja molekularna istraživanja. U svakom slučaju, rezultati pokazuju da je ispitivanje morfoloških karakteristika izolata neophodno za identifikaciju, klasifikaciju i procenu genetičke raznovrsnosti vrsta roda *Alternaria*.

ZAHVALNICA

Rad je realizovan u okviru projekta TR31018 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- Constance, L. (1971): History of the classification of Umbelliferae (Apiaceae). Heywood, V. H. Sed. Ć. The biology and chemistry of the Umbelliferae, 1–11. Academic Press, London.
- Downie, S. R., D. S. Katz-Downie, and M. F. Watson (2000): A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rpl16 and rpoC1 intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae. American Journal of Botany, 87: 273–292.
- David, J. C. (1988): *Alternaria dauci*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey England., No. 951.
- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. (1986): Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA, pp. 1–355.
- Farrar, J., Pryor, B., A., and Davis, R. M. (2004): Alternaria diseases of carrot. Pl. Dis., 88: 776–784.
- Elliot, J. A. (1917): Taxonomic characters of the genera *Alternaria* and *Macrosporium*. American Journal of Botany, 4: 439–476.
- Ellis, M. B. (1971): Demataceous hyphomycetes. CAB International, Wallingford, Oxon, England. 608 pp. Sinclair, W. A., Lyon, H. and Johnson, W. T. 1987. Diseases of Trees and Shrubs. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. 575 pp.
- Elis, M. B. and Holliday, P. (1972): *Alternaria radicina*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey England. No. 346.
- Hong, S. G. and Pryor, B. M. (2005): Development of selective media for the isolation and enumeration of *Alternaria* species from soil and plant debris. Can. J. Microbiol / Rev. Can. Microbiol., 50: 461–468.

- Joly, P. (1964): Le genre *Alternaria*. Recherches physiologiques, biologiques et systematiques. Encyclopedie Mycologique, No. 33. P. Chevalier, Paris.
- Koike, S. T., Gladders, P., and Paulus, A. O. (2006): Vegetable diseases: A color handbook. Boston: Academic Press.
- Marthe, F., Scholze, P., Kramer, R., Proll, E., Hammer, K. (2002): Evaluation of parsley for resistance to the pathogens *Alternaria radicina*, *Erysiphe heraclei*, *Fusarium oxysporum* and celery mosaic virus (CeMV). Plant Breeding, 122: 3.
- Muntanola-Cvetković, M. (1987): Opšta mikologija, Niro Književne novine, Beograd, pp. 13-320.
- Mogan, N., Lacey, J. (1984): Effects of temperature and pH on water relations of field and storage fungi. Transaction of the British Mycological Society, 82(1): 71-82.
- Nonnecke, I. L. (1989): Vegetable production. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Peever, T. L., Ibanez, A., Akimitsu, K. and Timmer, L. W. (2004): World wide phylogeography of the citrus brown spot pathogen, *Alternaria alternata*. Phytopathology, 92: 794-802.
- Pryor, B. M. and Gilbertson, R. L. (2002): Relationships and taxonomic status of *Alternaria radicina*, *A. carotiincultae* and *A. petroselini* based upon morphological, biochemical andmolecular characteristics. Mycologia, 94 (1): 49-61.
- Pryor, B. M. (2002): *Alternaria* Leaf Blight of Cumin. In Compendium of Umbelliferous Crop.
- Pryor, B. M. and Michailides, T. J. (2002): Morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with alternaria late blight of pistachio. Phytopathology, 92: 406-416.
- Pryor, B. M. and Strandberg, J. O. (2002): Alternaria Leaf Blight of Carrot. In Compendium of Umbelliferous Crop Diseases, Edited by Davis, R. M. and Raid, R. N., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 15-16.
- Pryor, B. M., Strandberg, J. O., Davis, R. M. Nunez, J. J. and Gilbertson, R. L. (2002): Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping systems. Plant. Dis., 86: 1115-1122.
- Pryor, B. M. (2002): *Alternaria* Leaf Blight of Parsley. In Compendium of Umbelliferous Crop Diseases, Edited by Davis, R. M. and Raid, R. N., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 17.
- Pryor, B. M. (2002): Black Rot. In Compendium of Umbelliferous Crop Diseases, Edited by Davis, R. M. and Raid, R. N., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 25-27.
- Pryor, B. (2003): *Alternaria* online. Alternaria on line, University of ArizonaDiseases, Edited by Davis, R. M. and Raid, R. N., The American Phytopathological Society,St. Paul, Minnesota, pp. 16.
- Raid, R. and Roberts, P. (2004): Alternaria leaf spot (*Alternaria radicina*). Specific common diseases.in 2004 Florida Plant Disease Management Guide: Parsley.
- Raid, R. N. (2002): Early Blight of Celery. In Compendium of Umbelliferous Crop Diseases, Edited by Davis, R. M. and Raid, R. N., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 20-21.
- Rotem, J. (1994): The genus *Alternaria*, Biology, Epidemiology and Pathogenicity. APS Press, St Paul, Minnesota, pp. 1-325.

- Sheppard, J. and Maddox, D. (2001): Detection of *Alternaria dauci* and *Alternaria radicina* on Carrot (*Daucus carota*). International seed health Initiative-Vegetables, pp 1-14.
- Simmons E.G. (1967): Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. Mycologia, 59:67–92.
- Simmons, E. G. (1992): *Alternaria* Taxonomy: Current Status, Viewpoint, Challenge. In *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites, Topics in Secondary Metabolism – Volume 3, ed. by Chelkowski, J. and Visconti, A., Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, pp: 1-35.
- Simmons, E.G., Roberts, R.G. (1993): *Alternaria* themes and variations (73). Mycotaxon 48, 109-140.
- Simmons, E.G, (2007): Alternaria. An identification manual. Utrecht, the Netherlands: CBS Biodiversity Series 6. pp. 1-775.
- Solfrizzo, M., De Girolamo, A., Vitti, C., Visconti, A. and van den Bulk, R. (1992): Liquid Chromatographic Determination of *Alternaria* Toxins in Carrots. PMID: 15084092 (PubMed – indexed for MEDLINE).
- Strandberg, J. O. (1977): Spore Production and Dispersal of *Alternaria dauci*. Phytopathology, 67: 1262-1266.
- Strandberg, J. O. (1987): Isolation, storage and inoculum production methods for *A. dauci*. Phytopathology, 77: 1008-1012.
- Strandberg, J. O. (1992): *Alternaria* Species that Attack Vegetable Crops: Biology and Options for Disease Management. In *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites, Topics in Secondary Metabolism – Volume 3, ed. by Chelkowski, J. and Visconti, A., Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, pp: 175-208.
- Strandberg, J. O. (2002): A selective medium for the detection of *Alternaria dauci* and *Alternaria radicina*. Phytoparasitica 30: 269-284.
- Thomma, B. P. H. J. (2003): *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology, 4: 225-236.
- Wiltshire S.P. (1947): Species of *Alternaria* on brassicae. Mycolog Paper, 20: 1 – 15.
- Wearing, A. H. (1980): *Alternaria radicina* on celery in South Australia. APP Aust Plant Pathology, Melbourne: Australian Plant Pathology Society, 9: 116.
- Yu, H. S. (1992): Occurrence of *Alternaria* species in Counties of the Far East and Their Taxonomy. In *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites, Topics in Secondary Metabolism – Volume 3, ed. by Chelkowski, J. and Visconti, A., Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, pp: 37-62.

(Primljeno: 20.01.2014.)
(Prihvaceno: 19.03.2014.)

MORPHO-PHYSIOLOGICAL STUDY OF *ALTERNARIA* SPP. ISOLATES FROM CELERY

JOVANA BLAGOJEVIĆ¹, VIOLETA ORO², IVAN NIKOLIĆ², TATJANA POPOVIĆ²,
GORAN ALEKSIĆ², VELJKO GAVRILOVIĆ², ŽARKO IVANOVIĆ²

¹Scholar of Ministry of Education, Science and Technological Development
of the Republic of Serbia

²Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia
e-mail:kipepeo11@gmail.com

SUMMARY

Genus *Alternaria* represents one of the most important pathogens of Apiaceae family. Alternariose symptoms may develop on foliage causing leaf spot, necrosis and eventually drying and black root. Celery plants with characteristic symptoms were collected during 2012 and 2013 in Serbia. The preliminary identification was done by analysis of morphological characteristics of conidia. After identification cultural characteristics, growth rate and spore morphology were examined and compared based on influence of ecological factors such as nutrient medium, temperature, pH value of the medium and light quality.

Key words: celery, *Alternaria*, morphology, physiology, mycelial growth, sporulation

(Received: 20.01.2014.)

(Accepted: 19.03.2014.)