

Zaštita bilja
Vol. 55 (1-4), No 247-250, 75-86, 2004
Beograd

UDK 534.22-24
Naučni rad

RAZVOJ MIKOPARAZITA STROMA *POLYSTIGMA RUBRUM* SUBSP. *RUBRUM IN-VITRO*

SAŠA STOJANOVIĆ, MIRA STAROVIĆ, ALEKSIĆ GORAN, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
SLOBODAN KUZMANOVIĆ
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Uticaj temperature, sunčeve i veštačke svetlosti, pH podloge i raznih podloga na razvoj mikoparazita (*Colletotrichum gloeosporioides*) izolovanog sa stroma *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum* ispitivan je *in-vitro*. Optimalna temperatura za porast kolonije mikoparazita je 20-25°, minimalna ispod 5°C i maksimalna 30-35°C. Obilna sporulacija gljive je na temperaturama između 20-30°C. Sunčeva, fluorescentna i UV svetlost utiču na smanjenje porasta kolonija, ali stimulišu fruktifikaciju gljive. Najbolji porast kolonija i najobilnija fruktifikacija dobivena je pri pH podloge 6-7, mada je obilna sporulacija ostvarena na svim testiranim pH vrednostima podloge. Ispitivane podloge, osim podloge od kukuruznog brašna i podloge od krompira i mrkve, bile su pogodne za razvoj mikoparazita.

Ključne reči: šljiva, plamenjača, *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*, mikoparazit, *Colletotrichum gloeosporioides*, porast, sporulacija

UVOD

Polystigma rubrum subsp. *rubrum* je od velikog ekonomskog značaja u Srbiji i Bugarskoj, gde se uglavnom gaje sorte osetljive prema ovom patogenu šljive (Yossifovich, 1937). Mikoparazit stroma je prvobitno opisan kao *Gloeosporium polystigmaticolum* Bondar., a kasnije je svrstana kao jedan od brojnih sinonima za vrstu *Colletotrichum gloeosporioides* Sacc. (Arx, 1957). Ova gljiva je kao mikoparazit prisutna na Balkanu i u nekim delovima Istočne i Srednje Evrope (Trifonova, 1934, Stojanović i Kostić, 1956, Lehoczky, 1957, Beserescu et al., 1959).

Biologija i ekologija mikoparazita već je proučena kod nas (Stojanović, 1997, Stojanović et al., 1999). Kao dopunu proučavanju ovog mikoparazita u ovom radu dati su rezultati istraživanja uticaja faktora spoljne sredine na razvoj *C. gloeosporioides in vitro*.

MATERIJAL I METODE

Izolacija mikoparazita. Parazitirane stromate sa lista šljive sorte požegača, prikupljene u više lokaliteta, isprane su česmenskom vodom u toku 2 sata, površinski sterilisane u 0,5% NaOCl tokom 30 sec, i dva puta isprane sterilnom destilovanom vodom. Ovako dezinfikovane stromate su postavljene u Petri kutije sa navlaženim filter papirom i inkubirane 24 h u laboratorijskim uslovima. Masa konidija mikoparazita izbačena iz acervula je prihvatana sterilnom iglom i razblažena u sterilnoj destilovanoj vodi, tako da je dobivena suspenzija koncentracije oko 10^4 konidija/ml. Kapi od 0,1 ml suspenzije razlivane su na vodeni agar (VA). Nakon 12 h inkubacije pri 20°C, pojedinačne iskljajale konidije prebacivane su na krompir dekdsroznu podlogu (KDA). Kulture su inkubirane 7 dana na 25°C i čuvane na 5°C do upotrebe. Od brojnih dobivenih izolata, za ova istraživanja odabrana su tri poreklom iz okoline Valjeva, Čačka i Ljubovije, koji su obeleženi kao Cg-4, Cg-17 i Cg-24.

Porast i sporulacija mikoparazita. Petri kutije su zasejavane delovima micelije od svakog izolata prečnika tri mm uzetih sa kolonija starih 7-10 dana gajenih na KDA. Zasejane podloge držane su jedan dan na 25°C, pre nego što su podvrgnute uticaju spoljnih faktora. Broj konidija po ml suspenzije određen je pomoću hemocitometra, pri čemu je posmatrano svih 16 polja. Suspenzija konidija je dobivena prelivanjem pet ml sterilne destilovane vode preko površine kolonija uz blago grebanje sa sterilnim staklenim štapićem. Nivo sporulacije je određivan po skali Quesada and Lopez (1980). Iskazani podaci predstavljaju srednje vrednosti dva ponovljena ogleđa.

Uticaj temperature. Porast i sporulacija izolata mikoparazita proučavana je na KDA u mraku pri temperaturama od 5°C do 35°C, sa intervalom 5°C. Prečnik obrazovanih kolonija meren je devet dana od zasejavanja.

Uticaj svetlosti. Ispitivan je uticaj sunčeve i veštačke svetlosti. Izvori veštačke svetlosti bile su tri fluorescentne cevi (Osram, Nemačka) od po 40 W. U odvojenom ogledu korišćene su dve UV lampe od 366 nm (Desaga, Heidelberg, Germany). Lampe su bile postavljene 50 cm iznad kultura izolata Cg-4 na KDA u plastičnim Petri posudama. Kulture su izlagane uticaju veštačke svetlosti tokom

11 dana po 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h dnevno pri sobnoj temperaturi. Takođe, kulture istog izolata izlagane su uticaju direktne sunčeve svetlosti tokom šest dana po 4, 6 i 8 h dnevno. Ovi ogledi su obavljeni u proleće kada je spoljna temperatura vazduha iznosila između 20-25°C. Kulture gajene u mraku služile su kao kontrola.

Uticaj pH podloge. Po tri izolata su gajeni na Richard-ovoj podlozi sa dodatkom 20 g agara, koja je podešena do pH 5-9 sa 0.1N HCl nakon sterilizacije. Ista podloga bez dodavanja agara podešena na pH 4-9 je korišćena za ispitivanje težine suve mase. Mikoparazit je gajen u Erlenmajer kolbama zapremine 250 ml u kojima je dodano 40 ml tečne podloge. Nakon 13 dana micelijska masa je odstranjena, isprana destilovanom vodom, prosušena tokom 24 h pri temperaturi 75-80°C a zatim merena. Za svaku varijantu različite pH vrednosti korišćeno je po tri Erlenmajer kolbe. Vrednosti pH obe podloge podešavane su nakon sterilizacije pomoću 0,5N NaOH ili 0,5N HCl i proveravane pH-metrom (TOA Electronics, Japan). Zasejane kulture na tečnoj i čvrstoj podlozi u inkubirane je u tami pri 25°C tokom 11 dana.

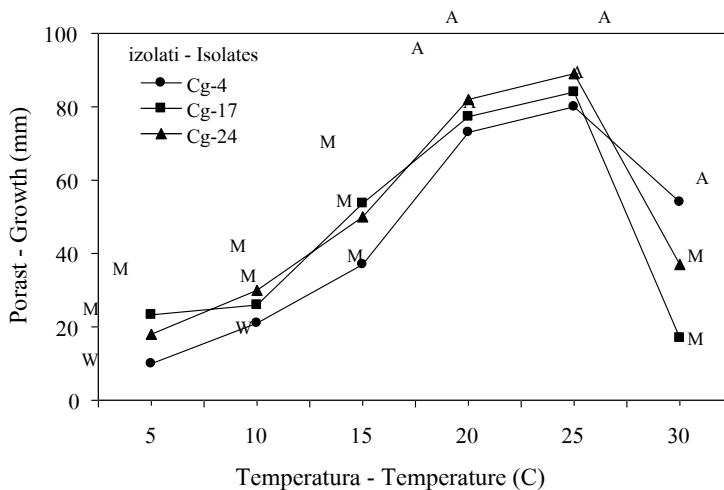
Uticaj raznih podloga. Razvoj mikoparazita ispitivan je na krompir dekstroznoj podlozi sa agarom (KDA), podlozi od krompira i mrkve sa agarom (KMA) (Onion and Smith, 1983), podlozi od soka mrkve sa agarom (MJA) (Baxter and Fagan, 1974), podlozi od kukuruznog brašna (KBA) (Manandhar et al., 1986), podlozi od slada (SA) i Čapekovej podlozi (ČA) (Baxter et al., 1983). Kulture su inkubirane pet dana u tami na 20°C, a zatim šest dana na pod laboratorijskim uslovima.

REZULTATI

Temperatura. Mikoparazit se razvija u širokom temperaturnom intervalu. Minimalna temperatura za njegov porast je ispod 5°C, maksimalna između 30-35°C. Svi ispitivani izolati imali su dobar porast na temperaturama od 15°C do 25°C. Optimalna temperatura za porast kolonija je 25°C za izolate Cg-4 and Cg-17, odnosno 20-25°C za izolat Cg-25 (Sl. 1). Nema porasta mikoparazita na 35°C. Značajne razlike u pogledu nivoa porasta ispoljile su se između izolata na pojedinim temperaturama. Prosečni porast izolata Cg-4 je značajno niži u odnosu na ostala dva izolata na 5°, 10° i 15°C, ali je bio viši na 30°C.

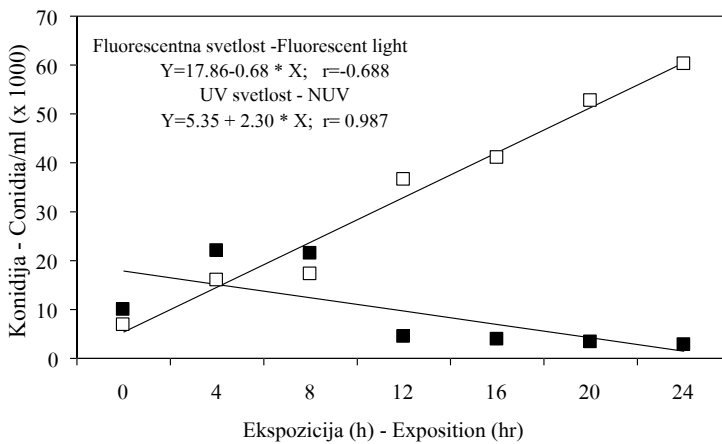
Optimalna temperatura za sporulaciju mikoparazita je ista kao i za porast. Najobilnija sporulacija dobivena je na 20-25°C (Sl. 1). Mala količina konidija je obrazovana kada su kulture gajene pri 5°C.

Svetlost. Svetlost redukuje porast mikoparazita. Direktna sunčeva svetlost redukuje radijalni porast za 40-80% u zavisnosti od dužine ekspozicije u poređenju



SI. 1 – Porast i sporulacija kolonija tri izolata mikoparazita na raznim temperaturama. (sporulatija: A=oblina, M=srednja, W=slaba).

Colony growth and sporulation of three mycoparasite isolates affected by temperature (sporulation: A=abundant, M=medium, W=weak).



SI. 2 – Uticaj fluorescentne (-■-) i UV (-□-) svetlosti na sporulaciju *C.gloeosporioides*
Effect of fluorescent (-■-) and NUV (-□-) light on sporulation of *C.gloeosporioides* (islate Cg-4).

sa kontrolnim kulturama gajenim u mraku (Tab. 1). Slična inhibicija porasta pojavljuje se pri izlaganju kultura uticaju veštačke svetlosti. Prosečan radijalni porast kolonija koje su izlagane uticaju fluorescentne svetlosti tokom 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h dnevno je 64.5, 58.5, 58.0, 52.25, 50.0 i 46.0 mm, dok je u kontroli iznosio 66.25 mm, odnosno porast je bio redukovano za 2.64-30.57%. Značajna inhibicija porasta pod uticajem fluorescentne svetlosti bila je uočljiva već nakon osmočasovne ekspozicije. Porast kolonija izloženih delovanju UV svetlosti je niži u poređenju sa kontrolom, ali dužina ekspozicije nije imala značajnijeg uticaja (Tab. 2).

Tab. 1 – Uticaj direktne sunčeve svetlosti na porast i sporulaciju *C.gloeosporioides*
Effect of direct sunlight on radial colony growth and sporulation of *C.gloeosporioides*

Ekspozicija (h) Exposition (hr)	Porast kolonija (mm) Colony growth (mm) ¹	Smanjenje porasta (%) Growth depressed (%) ²	Sporulacija Sporulation ³
4	25.0 b ⁴	39.8	+++
6	18.0 bc	56.6	++
8	8.0 c	80.8	+
Kontrola– Control ⁵	41.5 a	-	-

¹ Izolat Cg-4 gajen je na KDA jedan dan na 25°C u mraku, a zatim izlagani 4, 6, and 8 h/dan uticaju direktne sunčeve svetlosti tokom šest dana. – Isolate Cg-4 were grown on PDA one day at 25°C in dark, and then exposed to the direct sunlight 4, 6, and 8 hr/day for 6 days.

² Smanjenje porasta kultura u odnosu na kontrolu (kontrola = 100%) – Colony growth depressed comparing with control (control = 100%).

³ Sporulacija (Quesada et Lopez, 1980): += slaba (< 5 x 10³ conidija/ml), ++ = srednja (5 x 10³–10⁴ conidija/ml) i +++ = obilna (>10⁴ conidija/ml) – Sporulation (Quesada and Lopez, 1980): += weak (< 5 x 10³ conidia/ml), ++ = medium (5 x 10³–10⁴ conidia/ml), and +++ = abundance (>10⁴ conidia/ml)

⁴ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite (P=0.05) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

⁵ Kontrolne kulture gajene u mraku pri sobnoj temperaturi. – Control cultures grown in dark at ambient temperature

Sunčeva i veštačka svetlost stimulišu sporulaciju mikoparazita. Obilje konidija se obrazuje kada su kolonije izlagane direktnoj sunčevoj svetlosti tokom 4 h, ali sa dužinom fotoperioda sporulacija se smanjuje (Tab. 2). Optimalni fotoperiod za sporulaciju mikoparazita pri fluorescentnoj svetlosti je 8 h. Duži fotoperiodi rezultiraju u rapidnom smanjenju sporulacije. Nasuprot tome, pod UV svetlošću formiranje konidija je bilo najobilnije pri dužim ekspozicijama (Sl. 2).

Tab. 2 – Utica veštačke svetlosti na radijalni porast kolonija *C.gloeosporioides*
Effect of artificial light on radial colony growth of *C.gloeosporioides*

Ekspozicija (h) Exposition (hr)	Fluorescentna svetlost Fluorescent light ¹		Ultra ljubičasta svetlost NUV light ²	
	Porast kolonija Colony growth (mm) ³	Smanjenje porasta Growth depressed (%) ⁴	Porast kolonija Colony growth (mm)	Smanjenje porasta Growth depressed (%)
4	64.5 a ⁵	2.6	63.2 b	12.5
8	58.5 b	11.7	63.0 b	12.8
12	58.0 b	12.4	62.2 b	13.8
16	52.2 c	21.1	62.2 b	13.8
20	40.0 c	24.5	62.2 b	13.8
24	46.0 d	30.6	61.0 b	15.6
Kontrola- Control ⁶	66.2 a	-	72.2 a	-

¹ Izvor fluorescentne svetlosti = tri fluorescentne cevi od 40 W koje daju dnevnu svetlost (Osram, Germany) postavljene 50 cm iznad kultura – Fluorescent light source = three 40 W daylight fluorescent tubes (Osram, Germany) placed 50 cm above the cultures

² Izvor ultra ljubičaste svetlosti = dve UV lampe (Deasaga, Germany) koje daju dnevnu svetlost talasne dužine 366 nm postavljene 50 cm iznad kultura. – Near ultra violet light source = two near-UV lamps (Deasaga, Germany) of 366 nm placed 50 cm above the cultures.

³ Izolat Cg-4 gajen je na KDA jedan dan na 25°C u mraku, a zatim izlagani 4, 8, 12, 16, 20 i 24 h/dan uticaja veštačke tokom 11 dana na sobnoj temperaturi (podaci predstavljaju srednje vrednosti od četiri ponavljanja po tretmanu). – Isolate Cg-4 were grown on PDA one day at 25°C in dark, and then exposed to artificial light 4, 8, 12, 16, 20, and 24 hr/day for 11 days at room temperature (data represent average values of four replicates).

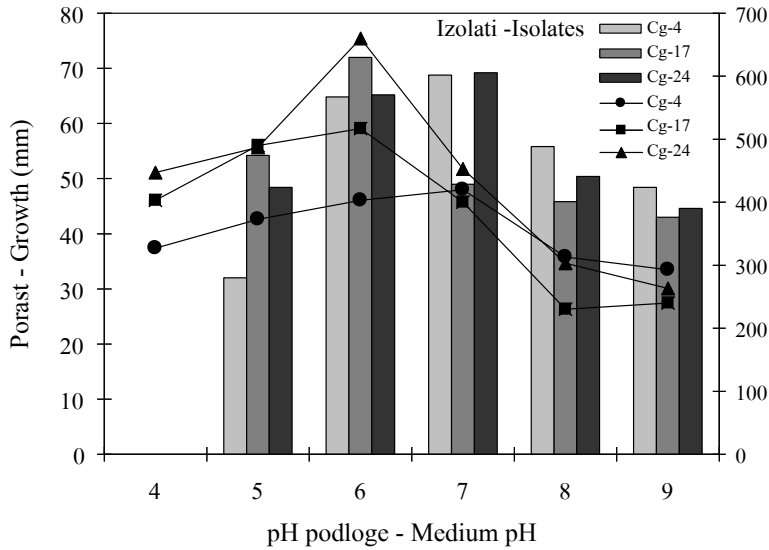
⁴ Smanjenje porasta kultura u odnosu na kontrolu (kontrola = 100%) – Colony growth depressed comparing with control (control = 100%).

⁵ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite (P=0.05) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

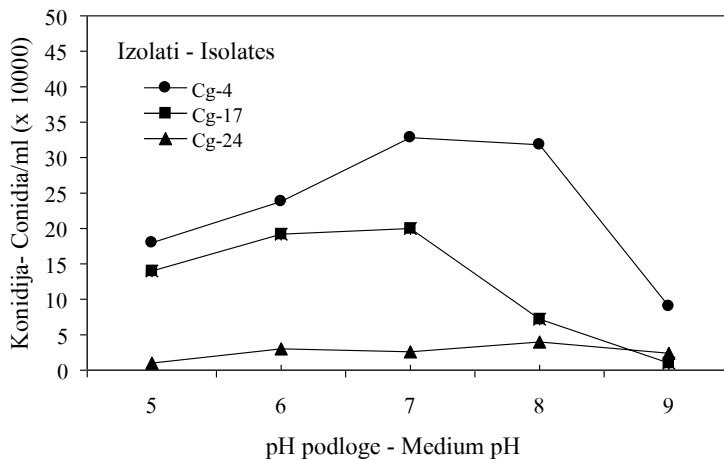
⁶ Kontrolne kulture gajene u mraku pri sobnoj temperaturi. – Control cultures grown in dark at ambient temperature

pH podloge. Izolati mikoparazita rastu na svim testiranim pH vrednostima podloge. Optimalna pH bila je između 6-7, 6, i 7 za izolate Cg-4, Cg-17 i Cg-24 (Sl. 3). Porast je bio značajno redukovan na pH preko 7 i ispod 6. Težina suve mase micelije najveća na pH od 4 do 7 za izolate Cg-4 i Cg-17, i na pH 7 za izolat Cg-24.

Sporulacija mikoparazita je bila obilna pri svim pH vrednostima, ali je broj obrazovanih konidija bio najveći pri pH 6-7 i 5-7 za izolate Cg-17 i Cg-24, dok pH podloge nije imao uticaja na sporulaciju izolata Cg-4 (Sl. 4).



Sl. 3 – Uticaj pH podloge na radijalni porast kolonija i težinu suhu mase micelije tri izolata mikoparazita.
Effect of pH of medium on colony radial growth and mycelial dry mass weight of three mycoparasite isolates.



Sl. 4 – Sporulacija tri izolata mikoparazita pri raznim pH podloge.
Sporulation of three mycoparasite isolates at different medium pH.

Podloga. Sve podloge, osim KBA i KMA, su bile pogodne za razvoj mikoparazita (Tab.3). Nakon 11 dana porasta pri 20°C kolonije sva tri izolata mikoparazita slični su jedan drugom, njihov prečnik dostizao je u proseku od 34 mm (na KMA) do 67.5 mm (na ČA). Izolati Cg-4 i Cg-17 najbolje rastu na PDA, dok izolat Cg-24 podjednako je dobro rastao na CJA i CA. Postojale su izvesne razlike u nivou porasta između izolata na svim podlogama, osim na SMA.

Sporulacija je zavisila od korišćene podloge (Tab. 3). Podjednako dobri rezultati su dobijeni kada su kolonije gajene na ČA, SA i KMA. Krompir dekstroza i podloga od krompira i mrkve su manje pogodne za sporulaciju mikoparazita.

Tab. 3 – Porast i sporulacija tri izolata mikoparazita gajeni na raznim hranljivim podlogama
Radial growth and sporulation of three mycoparasite isolates grown on different media

Podloga Medium ¹	Porast kolonija – Colony growth (mm) ²			Sporulacija – Sporulation ³		
	Cg-4	Cg-17	Cg-24	Cg-4	Cg-17	Cg-24
KDA-PDA	65.5 a ⁴	62.5 a	54.5 ab	++	++	++
KMA-PCA	56.5 bc	34.0 c	64.5 a	+	+	+
SMA-CJA	62.5 ab	59.0 ab	63.5 a	+++	+++	+++
KBA-CMA	57.5 bc	57.5 ab	63.5 a	+	+	+
SA-MA	60.5 b	51.0 b	63.5 a	+++	+++	+++
ČA-CA	60.0 b	54.5 ab	67.5 a	+++	+++	+++

¹ KDA = podloga od krompira i dekstroze – PDA = potato dextrose agar; KMA = podloga od krompira i mrkve – PCA = potato carrot agar (Onion and Smith, 1983); SMA = podloga od soka mrkve – CJA = carrot juice agar (Baxter and Fagan, 1974); KBA = podloga od kukuruznog brašna – CMA = corn meal agar (Manandhar et al., 1986); SA = podloga od slada – MA = malt agar; ČA = Čapekova podloga – CA = Czapek's agar (Baxter et al., 1983).

² Porast kolonija meren nakon pet dana inkubiranja pri 20°C u mraku. – Radial colony growth measured five days after incubation at 20°C in dark

³ Sporulacija određena nakon šest dana inkubiranja kultura pod laboratorijskim uslovima, koje su predhodnih pet dana gajene u mraku, po skali Quesada et Lopez (1980): + = slaba sporulacija (< 5 x 10³ conidija/ml), ++ = srednja (5 x 10³–10⁴ conidija/ml) i +++ = obilna sporulacija (>10⁴ conidija/ml) – Sporulation determined after 11 days (cultures grown five days in dark and then six days at laboratory condition) according to scale of Quesada and Lopez (1980): + = weak sporulation (< 5 x 10³ conidia/ml), ++ = medium (5 x 10³–10⁴ conidia/ml), and +++ = abundance sporulation (>10⁴ conidia/ml)

⁴ U svakoj koloni, srednje vrednosti obeležene istim slovom nisu značajno različite (P=0.05) na osnovu Duncan-ovog testa. – Within each columns, means followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

Tokom ovih eksperimenata primećene su izvesne promene u karakteristikama micelije kolonija pod uticajem spoljnih faktora. Tako, pri temperaturama preko

20°C, sivkasta ne zonirana micelija postaje zonirana, tamno siva, maslinasto siva ili sivkasto mrka. Kada su kolonije bile izlagane sunčevoj svetlosti tokom četiri časa dnevno došlo je do formiranja brojnih, crnih, rasutih ili koncentrično raspoređenih acervula u centralnom delu kolonija. Pri veštačkoj svetlosti formiraju se koncentrični prstenovi, koji sa produžavanjem perioda ekspozicije postaju tamniji, sa jasnom razlikom između centralnog i perifernog dela kolonija. Pod uticajem NUV svetlosti centralni delo kolonija postaje tamno obojen, skoro crn. Pri višim vrednostima pH podloge kolonije, takođe, postaju zonirane sa smenom prstenova svetlo i tamno maslinasto sive boje.

DISKUSIJA

Temperатурne potrebe za razvoj mikoparazita bile su skoro iste kao kod *C.gloeosporioides* izolovane sa drugih domaćina (Stretch and Cappellini, 1963; Wastie, 1972; Hartung et al., 1981; Ivanović and Ivanović, 1992). Mnogo veći porast mikoparazita pri temperaturama između 20-25°C, kao i visoki procenat klijanja konidija na ovim temperaturama (Stojanović et al., 1999), dokazuju činjenicu da je jaka pojava mikoparazita uslovljena povišenim temperaturama tokom proleća (Trifonova, 1934; Stojanović, 1997). Nema razvoja mikoparazita na temperaturi od 35°C. Ova je temperatura takođe nepovoljna za klijanje konidija mikoparazita (Stojanović et al., 1999). Isto tako, ovo može biti razlog niske pojave mikoparazita koje se javlja tokom dužeg sušnog perioda praćen ekstremno visokim temperaturama tokom leta (Stojanović, 1997).

Svetlost je najvažniji faktor za značajno izazivanje sporulacije mikoparazita. Sunčeva i veštačka svetlost redukuju porast kolonija mikoparazita, ali stimulišu formiranje konidija mikoparazita. Sporulacija *C.gloeosporioides* izolovanog sa kamelije je bio takođe stimulisan svetlošću (Brown and Baxter, 1968; Miller and Baxter, 1970; Baxter and Fagan, 1974).

Kolonije mikoparazita rastu u širokom intervalu pH podloge. Optimalni porast je ostvaren (dobiven) pri rasponu pH 6-7, a prirast težine suve mase pri pH od 4 do 7. Izolati poreklom sa višnje najbolje rastu pri pH 5-8 (Ivanović and Ivanović, 1992), sa mangoa pri pH 6 (Quesada and Lopez, 1980), a sa kamelije pri pH 5,5 (Miller and Baxter, 1970). Pri svim pH mikoparazit obilno sporuliše, ali je broj konidija po ml suspenzije bio najveći na pH 6-7. Miller and Baxter (1970) su ustanovili da sporulacija izolata poreklom sa kamelije na podlozi od krompira i mrkve opada sa porastom pH podloge iznad 6 ili smanjenjem pH ispod 5.

Sve podloge, osim KBA i KMA, bile su pogodne za porast mikoparazita. Najbolja sporulacija je dobivena na podlogama SMA, SA i ČA. Podloga od kukuruznog brašna (KBA) je manje pogodna i za porast izolata sa kamelije (Baxter

and Faga, 1974). Porast izolata sa borovnice, jabuke i kamelije je bio najbolji na KDA (Streach and Cappellini, 1963). Miller and Baxter (1970) su ustanovili da sporulacija izolata sa kamelije bila najbolja na SMA pri svetlosti i na podlozi od ovsenog brašna u tami.

LITERATURA

- Arx J. A. von (1957): Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Z.*, 29 (4): 413-468.
- Baxter L. W. Jr. and Fagan S.G. (1974): A simplified method of inducing asexual sporulation in *Glomerella cingulata*. *Plant Dis. Repr.*, 58:300-303.
- Baxter Alice P., Van der Westhuizen G. C. A. and Eicker A. (1983): Morfology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. *South African Journal of Botany*, 2: 250-289.
- Beserescu D., Ducur Elena, Lazar I. and Vasilev L. (1959): Cercetari asupra agentilor patogeni care produã ciuruirea frunzelorla simbuoroase. *Comun. Acad. Rep. pop. Rom.*, 9:253-258.
- Brown S. and Baxter L. W. Jr. (1968): Some factors influencing conidial production of *Glomerella cingulata* pathogenic to camellias (Abstr.). *Phytopathology*, 58: 726.
- Hartung J. S., Burton C. L. and Ramsdell D. C. (1981): Epidemiological aspects of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*, 71: 449-453.
- Ivanović M. i Ivanović Dragica (1992): Proučavanje *Colletotrichum gloeosporioides*, proizvodivača antraknose višnje i efikasnost nekif fungicida "in vitro". *Zaštita bilja*, vol. 43, No 201: 211-218.
- Lehoczky J. (1957): Néhány gazdaságilag jelentős parazita mikrogamba hazai előfordulása. I. Kertész. Szlsz (*Annale Academiae Horticulture et Viticulture*), 21:3-14.
- Miler L. W. and Baxter S. C. Jr. (1970): Some factors influencing asexual sporulation in a strain of *Glomerella cingulata* pathogenic to camellias. *Phytopathology*, 60:743-744.
- Quesada G. L. and Lopez H. E. (1980): Forma sexual y medios de cultivo para *Colletotrichum gloeosporioides*, patogeno del mango en Cuba. *Ciencias de la Agricultura*, 7:11-17.
- Smith D. and Onions Agnes H. S. (1983): Preservation and maintenance of living fungi. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
- Stojanović D. i Kostić B. (1956) Parazitiranost stroma *Polystigma rubru* sa *Gloeosporium polystigmaticolum* u 1955. godini. *Zaštita bilja*, No 37: 91-92.
- Stojanović S. (1997): Pojava mikoparazita *Colletotrichum gloeosporioides* i njegov uticaj na razvoj *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*. *Zaštita bilja*, vol. 48, No 221: 189-202.

- Stojanovic S., Starovic Mira and Matijevic D. (1999): Factors affecting conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum* stromata. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 34:65-75.
- Stretch A. W. and Cappellini R. A. (1963): Effect of various factors on the growth and sporulation of *Glomerella cingulata*. *Phytopathology* (abstract), 53: 352.
- Trifonova Vera (1934): Die Rotfleckenkrankheit def Pflaume *Polystigma rubrum* (Pers.) D.C. *Phytopathologische Zeitschrift*, 7:73-92.
- Wastie R. L. (1972): Secondary leaf fall of *Havea brasiliensis* factors affecting the production, germination and viability of spores of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Annales of Applied Biology*, 72:273-282.
- Yossifovich M. (1937): Contribution a l'etude de la protection du prunier contre *Polystigma rubrum* (Pers.) D.C. *Revue de pathologie vegetale et d'entomologie agricole se France*, tome XXIV, 18-31.

(*Primljeno*: 14.06.2007.)

(*Prihvaćeno*: 08.08.2007)

**DEVELOPMENT OF *POLYSTIGMA RUBRUM* SUBSP. *RUBRUM*
STROMATA MYCOPARASITE *IN-VITRO***

SASA STOJANOVIĆ, MIRA STAROVIĆ, ALEKSIĆ GORAN, SVETLANA ŽIVKOVIĆ,
SLOBODAN KUZMANOVIĆ
Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

Summary

The effects of temperature, sun- and artificial light, pH-value and different media on development of *Colletotrichum gloeosporioides*, isolated from stromata of *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*, were studied *in-vitro*. Colonies of mycoparasite grew in wide range of temperature at the minimum beneath 5°C and maximum at 30-35°C. Abundant sporulation was at 20-30°C. Sun light, as well as fluorescent and near-UV light, decreased colony growth, but stimulated sporulation. The best colony growth and more abundant sporulation were obtained at pH 6-7, although there was abundant sporulation on all medium pH tested. The most media were suitable for mycoparasite development, except corn meal agar (CMA) and potato carrot agar (PCA).

Key words: Plum, red blotch, *Polystigma rubrum* subsp. *rubrum*, mycoparasite, *Colletotrichum gloeosporioides*, growth, sporulation

(Received: 14.06.2007)

(Accepted: 08.08.2007)