

# Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. na suncokretu

---

Posavac, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:002430>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-10**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivana Posavac, apsolvent

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. na  
suncokretu

Diplomski rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ivana Posavac, apsolvant

Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. na  
suncokretu

Diplomski rad

Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:

Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik

Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor

Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

Osijek, 2014.

## SADRŽAJ

1.	UVOD .....	1
2.	PREGLED LITARATURE .....	2
3.	VAŽNIJE BOLESTI SUNCOKRETA .....	8
3.1.	<i>Septoria helianthi</i> Ell i Kell. - uzročnik pjegavosti lišća .....	8
3.2.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib) De Bary (sin. <i>Sclerotinia libertiana</i> Fuckel) - uzročnik bijele truleži .....	9
3.3.	<i>Alternaria helianthi</i> (Hansf.) Tubaki i Nishih. (sin. <i>Helminthosporium helianthi</i> Hansf.) - smeđe-crna koncentrična pjegavost .....	14
3.4.	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. Fr. (telemorf <i>Botriotinia fuckeliana</i> (De Bary ex De Bary) Wetzd.) - uzročnik sive pljesni .....	15
3.5.	<i>Phomopsis helianthi</i> Munt.-Cvet., Mihaljč. i M. Petrov (telemorf <i>Diaporthe helianthi</i> Munt.-Cvet., Mihaljč. i M. Petrov) – siva pjegavost stabljike. ....	17
3.6.	<i>Phoma macdonaldii</i> Boerema (telemorf <i>Leptosphaeria lindquisti</i> Frezzi) – crna pjegavost stabljike .....	19
3.7.	<i>Plasmopara halstedii</i> (Farl.) Berl. i De Toni – plamenača suncokreta .....	21
3.8.	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. – suha trulež suncokreta .....	23
4.	MATERIJAL I METODE .....	25
4.1.	Priprema hranjive podloge .....	26
4.2.	Postavljanje istraživanja .....	27
4.3.	Statistička analiza rezultata .....	27
5.	REZULTATI I RASPRAVA .....	28
5.1.	Analiza <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	29
5.2.	Analiza <i>Phomopsis helianthi</i> .....	31
5.3.	Utjecaj eteričnih ulja na rast micelija gljive <i>Macrophomina phaseolina</i> ...	32
5.4.	Zdravstvena analiza sjemena .....	36

<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČAK .....</b>	<b>37</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>38</b>
<b>8.</b>	<b>SAŽETAK .....</b>	<b>43</b>
<b>9.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>44</b>
<b>10.</b>	<b>POPIS TABLICA .....</b>	<b>45</b>
<b>11.</b>	<b>POPIS SLIKA .....</b>	<b>46</b>
	<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA .....</b>	<b>48</b>
	<b>BASIC DOCUMENTATION CARD .....</b>	<b>49</b>



*Zahvaljujem se mojoj mentorici prof. dr. sc. Karolini Vrandečić i prof. dr. sc. Jasenki Čosić koje su mi omogućile izradu diplomskog rada na njihovoj velikoj pomoći, stručnom vodstvu i neizmjerne susretljivosti.*

*Zahvaljujem se mojoj obitelji i prijateljima koji su bili uz mene tijekom studiranja, a posebice Martini Ivković i Tomislavu Prusu.*

*Ovaj rad posvećujem svome ocu.*

## 1. UVOD

Suncokret (*Helianthus annuus* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice Asteraceae. U Republici Hrvatskoj svake se godine više od 30 000 ha zasije suncokretom koji ima najznačajniju ulogu u proizvodnji jestivog ulja, a prosječan prinos po hektaru iznosi oko 2,3 tone. Kao i mnoge kulturne biljne vrste, suncokret je sklon napadu biljnih bolesti posebno u vlažnim godinama i područjima s učestalim oborinama. Najznačajnije bolesti suncokreta nastaju infekcijom gljivičnih parazita. Bakterije i virusi također mogu uzrokovati bolesti koje nisu zanemarive, jer umanjuju optimalan razvoj biljaka i kakvoću sjemena. Pojava bolesti ne ovisi samo o otpornosti genotipa, nego i o uvjetima u okolišu (temperatura zraka, relativna vlažnost zraka i količina oborina) te o stupnju zakorovljenosti usjeva. Na području istočne Hrvatske važniji uzročnici bolesti suncokreta su *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet., Mihaljč. i M. Petrov, *Phoma macdonaldi* Boerema, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki i Nishih., *Botrytis cinerea* Pers. Fr. i *Septoria helianthi* Ell i Kell. (Ćosić i sur. 2005.; Jurković i Culek 1997.). Navedeni patogeni mogu dovesti do gubitaka prinosa od 10% do 50% i više. U borbi protiv biljnih bolesti koriste se različite mjere: agrotehničke, mehaničke i kemijske.

### 1.1. Cilj istraživanja

Tijekom jednogodišnjeg praćenja pojave bolesti na suncokretu (lokacija Ivanovac) cilj istraživanja bio je:

- Utvrditi pojavu važnijih bolesti suncokreta;
- Provesti zdravstvenu analizu sjemena;
- Ispitati utjecaj jedanaest eteričnih ulja na porast micelija *Macrophomina phaseolina*.



## 2. PREGLED LITERATURE

Prema trogodišnjem istraživanju utvrđeno je kako su najučestalije bolesti stabljike suncokreta na području Slavonije u Hrvatskoj *S. sclerotiorum* i *P. helianthi*. Svi genotipovi bili su više ili manje osjetljivi na navedene patogene. Intenzitet zaraze je ovisio o otpornosti genotipa, ali i o okolišnim čimbenicima koji su mogli pogodovati pojavi određene bolesti (Ćosić i sur. 2005.).

Harveson (2011.) opisuje tipove bolesti *S. sclerotiorum* i simptome koji se pojavljuju. Infekcija korijena prvo se očituje u venjenju biljke bez ikakvih vidljivih lezija ili pjega na samoj biljci. Bijela trulež korijena je tip bolesti koji se prvi javlja tijekom cvjetanja suncokreta. Tulež stabljike je drugi tip bolesti kojeg uzrokuju askospore koje kliju na sklerocijama zaostalima u tlu. Trulež glave je treći tip bolesti koji nastaje pred kraj cvjetanja ili nešto kasnije. *S. sclerotiorum* nepovoljne uvjete okoliša preživi u obliku sklerocija u tlu, a infekcija biljke se odvija na dva načina: sklerocije kliju u micelij koji zaražava korijen i sklerocije kliju u askuse sa askosporama koje zaražavaju stabljiku i glavu.

Prema Ćosić i sur. (2012.) sklerocije koje su stavljene u tlo na tri različite dubine (5, 10 i 30 cm) pokazale su mogućnost preživljavanja patogena u tlu tijekom nekoliko godina. Zbog prevelike vlage tla sklerocije koje se bile na 5 cm dubine potpuno su uništene, dok su one na dubinama od 10 i 30 cm ostale kljavije duže vrijeme. Nakon tri godine sklerocije na dubini od 30 cm imale su veći postotak kljavosti u apotecije od sklerocija na dubini od 10 cm.

McCartney i Lacey (1991.) istraživali su kada počinje produkcija askospora *S. sclerotiorum* i koliko se njih oslobađa iz apotecija. Obje godine produkcija askospora započela je u lipnju, vrhunac je bio sredinom srpnja i u kolovozu je došlo do opadanja. Koncentracija askospora bila je u korespodenciji s brojem apotecija. Simptomi bolesti nisu bili zabilježeni sve do srpnja što je 25 do 40 dana nakon početka produkcije askospora. Pojava bolesnih biljaka počela je opadati nakon sredine kolovoza što se povezuje s prestankom produkcije askospora.

*S. sclerotiorum* izolirana je s dva korovna alternativna domaćina (*Abutilon theophrasti* Medik. i *Ambrosia artemisiifolia* L.) kako bi se laboratorijski testirala njezina patogenost na drugim biljkama. Testiranje je pokazalo kako *S. sclerotiorum* s alternativnih domaćina može uzrokovati infekcije i na kulturnom bilju (Vrandečić i sur. 2003.).

Prema Masirević i Gulya (1992.) *S. sclerotiorum* i *P. helianthi* su najvažniji patogeni koji uzrokuju bolest na suncokretu. Kako *S. sclerotiorum* ima veliki broj domaćina i mogućnost dormancije sklerocija u tlu do 10 godina, vrlo je teško kontrolirati pojavu bolesti. Najučinkovitija metoda je plodored od više godina, tolerantni hibridi i zdravo sjeme. *P. helianthi* može se djelomično kontrolirati folijarnim fungicidima, ali najbolja mjera je razvoj rezistentnih hibrida.

Prema Huszár (2011.) patogeni *S. sclerotiorum* i *P. helianthi* osim suncokreta imaju mogućnost infekcije nekih korovnih vrsta. Istraživanje je potvrdilo infekciju *S. sclerotiorum* na *Iva xanthiifolia* Nutt. na tri lokacije i *P. helianthi* na jednoj lokaciji. Infekcija je uzrokovana sekundarnim askosporama koje se razvijaju na suncokretu, a omogućuje širenje i održavanje patogena što predstavlja opasnost infekcije za naredne kulture.

Jocić i sur. (2004.) zabilježili su različite izolate *P. helianthi* (Yu 4 i Yu 12) na visoko tolerantnom hibridu suncokreta na dva različita područja. Testovi u laboratoriju pokazali su kako nema značajne razlike između dva izolata te da je jači napad na jednom od dva područja uzrokovan vremenskim uvjetima koji su pogodovali razvoju patogena.

*A. helianthi* predstavlja vrlo ozbiljnu bolest u sjeverno-istočnoj Australiji. Tijekom ljeta uvjeti su idealni za razvoj ovog patogena i klijanje konidija. *A. helianthi* ima najbolji razvoj na temperaturnom rasponu od 25 do 28°C te uz prisutnost vode na površini biljke. U laboratorijskim uvjetima *A. helianthi* pokazala je najbolji rast na PDA podlozi pri temperaturi od 25°C. Uzastopno pojavljivanje rose i visoka vlaga zraka pogoduje širenju lezija. Gubici prinosa zbog infekcije *A. helianthi* ovise o vremenu njezina pojavljivanja (Allen i sur. 1982.).

Lezije na listovima suncokreta uzrokovane *A. helianthi* razvijaju se brže tijekom cvjetanja i za vrijeme formiranja zrna. Klorotične promjene izražajnije su na mlađim biljkama suncokreta, dok ih na starijim biljkama gotovo nema. Prisutnost umjetno stvorenih oštećenja na lisnoj površini biljaka povećava broj lezija izazvanih *A. helianthi* čiji broj odgovara broju umjetno stvorenih oštećenja (Allen i sur. 1983.).

Istraživanje u Italiji temeljilo se je na 64 izolata *M. phaseolina* koji su skupljeni na suncokretu na 4 različite klimatske regije (sjever, istok, jug i zapad) i podvrgnuti su testiranju rasta na 5 različitih temperatura (15, 25, 30, 35 i 40°C). Patogenost 64 izolata je testirana na sadnicama kukuruza, šećerne trske, soje, suncokreta, šafranike, šećerne repe,

kenafa i dinje. Rezultati su pokazali kako je temperatura od 30°C optimalna za rast 62 izolata i 35°C za dva izolata. Izolati sa sjevernog područja pokazali su bolji rast na nižim temperaturama, ali i brzu prilagodbu na više temperature (40°C). Izolati sa zapada imali su bolji porast na 40°C, a slabiji porast na nižim temperaturama. Izolati s juga i istoka imali su najbolji porast na temperaturnom optimumu od 30 do 35°C i pokazali su slabu prilagodbu na temperature od 15°C i 40°C. Izolati su također testirani na kloride gdje je 95% izolata pokazalo tolerantnost, 2% izolata su pokazala osjetljivost i 3% izolata bila su rezistentna. Izolati *M. phaseolina* pokazali su se vrlo patogeni za soju, umjereno patogeni za suncokret, šafraniku, šećernu trsku i dinju, slabo patogeni za šećernu repu i kenaf te ne patogeni za kukuruz u *in vitro* uvjetima (Manici i sur. 1995.).

*Serratia plymuthica* je gram-negativna bakterija koja je izolirana iz tla oko korijena dinje. Ovaj soj bakterija pokazao je inhibitorna svojstva za fitopatogene gljive u uvjetima *in vitro*. Folijarna aplikacija sredstva na bazi *S. plymuthica* za suzbijanje *B. cinerea* i *S. sclerotiorum* u zatvorenom prostoru pokazala je redukciju bolesti za 76 do 84%. Soj posjeduje citolitička i proteolitička svojstva te bi se mogao koristiti kao biokontrola za bolesti uzrokovane fitopatogenim gljivama (Kamensky i sur. 2003.).

Eterična ulja najčešće se dobivaju procesom destilacije vodenom parom. Svako eterično ulje sadrži glavne i sporedne komponente koje određenom ulju daju svojstva zbog kojih se upotrebljava.

Glavna komponenta eteričnog ulja anisa (*Pimpinella anisum* L.) je trans-anetol (76,9 – 93,7%). Ostale komponente su  $\gamma$ -himahalen (0,4 – 8,2%), p-anisaldehyd (5,4%) i metilkavikol (0,5 – 2,3%) (Orav i sur. 2008.).

Glavne komponente eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris* L.) su timol (48,9%) i p-cimen (19,0%) (Soković i sur. 2009.).

Glavne komponente eteričnog ulja mente (*Mentha piperita* L.) su mentol (37,4%), mentil acetat (17,4%) i metone (12,7%) (Soković i sur. 2009.).

Glavne komponente eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) su  $\alpha$ -pinen, 1,8-cineol, borneol, camfor, verbenone i bornil-acetat (Angioni i sur. 2004.; Santoyo i sur. 2005.).

Glavne komponente eteričnog ulja cimeta (*Cinnamomum zeylanicum* Bl.) eugenol (76,6%), linalol (8,5%) i piperiton (3,31%) (Raina i sur. 2001.).

Glavne komponente eteričnog ulja kima (*Carum carvi* L.) su karvon (76,78 – 80,53%) i limonen (13,05 – 20,29%) (Laribi i sur. 2009.).

Glavne komponente eteričnog ulja češera običnog bora (*Pinus sylvestris* L.) su  $\alpha$ -pinen (49,2%), sabinen (30,1%),  $\beta$ -pinen (14,9%) i limonen (7,9%), dok iglice sadrže  $\alpha$ -pinen (69,5%), kamfen (14,9%),  $\beta$ -pinen (9,1%), sabinen (3,6%) i limonen (2,8%) (Zafra i García-Peregrín 1976.).

Glavne komponente eteričnog ulja kadulje (*Salvia officinalis* L.) su 1,8-cineol (33,27%),  $\beta$ -tujon (18,40%),  $\alpha$ -tujon (13,45%), borneol (7,39%) (Hayouni i sur. 2008.). Eterična ulja kadulje mogu se klasificirati prema ukupnom udjelu tujona koji ima antimikrobno djelovanje. S obzirom na to postoji ulje s visokim udjelom tujona (39-44%), srednjim (22-28%) i niskim (9%). Ukupni udio tujona je najniži za vrijeme cvjetanja u proljeće i ljeto. Cvjetovi imaju veći udio ulja i  $\beta$ -pinena nego lišće, ali manje tujona. Stoga je najbolje ubirati kadulju tijekom jeseni i zime kada ima najviše tujona (Perry i sur. 1999.).

Glavne komponente eteričnog ulja klinčićevca (*Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock i S. G. Harrison)) su eugenol (76,8%),  $\beta$ -kariofilen (17,4%),  $\alpha$ -humulen (2,1%) i eugenil acetat (1,2%) (Jirovetz i sur. 2006.).

Glavne komponente eteričnog ulja lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) su linalil acetat (47,56%), linalon (28,06%), lavadulil acetat (4,34%) i  $\alpha$ -terpineol (3,75%) (Verma i sur. 2010.).

Glavne komponente eteričnog ulja gorke naranče (*Citrus aurantium* L. var. *amara*) su linalol (23,2-32,2%), linalil acetat (33,2-41,6%),  $\alpha$ -terpineol (7,3-9%), geraniol (4,9-6,4%) i geranil acetat (4,5-6,4%) (Boussaada i Chemli 2007.).

Prema Ćosić i sur. (2010.) eterična ulja klinčićevca, ružmarina, cimeta, kadulje, metvice, anisa, kima, lavande i timijana pokazala su inhibitorno djelovanje prema nekim od dvanaest ispitivanih fitopatogenih gljiva (*Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *F. subglutinans* (Wollenw. i Reink.) Nelson, Toussoun i Marasas, *F. oxysporum* Schlecht. emenf Snyder i Hansen, *F. avenaceum* Fr. Sacc., *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet. i

sur., *D. phaseolorum* var. *caulivora* (Lehmann) Wehmeyer, *Phomopsis longicolla* Hobbs., *P. viticola* (Sacc.) Sacc., *Helminthosporium sativum* Pamm., King i Bakke, *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Huges, *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk). Eterično ulje gorke naranče i bora nije pokazalo nikakvo inhibitorno svojstvo prema navedenim fitopatogenim gljivama, a u usporedbi s kontrolom (vodom) pozitivno je utjecalo na porast micelija fitopatogenih gljiva. Najbolje inhibitorno svojstvo imala su eterična ulja timijana, cimeta, klinčićevca i anisa.

U istraživanju provedenom u Turskoj (Toroglu, 2007.) ispitivan je utjecaj eteričnih ulja dobivenih iz *Cupressus sempervirens* L., *Thymus eigi* (M. Zohary i P.H. Davis) Jelas i *Pinus nigra* Am. sub sp. *pallasiana* na mikroorganizme (bakterije: *Micrococcus luteus* (Schroeter) Chon, *Bacillus megaterium* de Bary, *Bacillus brevis* Migula, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas pyocyaneus* (Zopf) Migula, *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann i Neumann, *Escherichia coli* T. Escherich, *Aeromonas hydrophila* (Chester) Stanier, *Yersinia enterocolitica* Schleifstein i Coleman, *Staphylococcus aureus* Rosenbach, *Streptococcus faecalis*; gljive: *Saccharomyces cerevisiae* (Scop, Fr.) Sing. i *Kluyveromyces fragilis*). Eterično ulje *Thymusa* pripravljeno je u dvije koncentracije (0,5  $\mu$ L i 1  $\mu$ L), a ulja *Cupressusa* i *Pinusa* u tri koncentracije (1  $\mu$ L, 2  $\mu$ L i 4 $\mu$ L). Istraživanje je pokazalo da eterično ulje *Thymusa* ima antimikrobno svojstvo na sve ispitivane mikroorganizme u obje koncentracije. Eterično ulje *Cupressusa* i *Pinusa* u koncentraciji 1  $\mu$ L nije pokazalo nikakva antimikrobna svojstva. U druge dvije koncentracije zabilježeno je antimikrobno svojstvo, ali zona inhibicije je manja od zone inhibicije *Thymusa* pri koncentraciji 0,5  $\mu$ L.

Prema Suhr i Nielsen (2003.) inhibicija eteričnog ulja ovisi o načinu primjene. Eterična ulja koja sadrže velike fenolne spojeve (timol i eugenol) imat će bolji utjecaj ako se primjene direktno. Ulja s hlapljivim spojevima (cital i limonen) trebaju se primjenjivati na način da se gljiva izloži isparavanju eteričnog ulja.

Ashraf i Javaid (2007.) istraživali su fungicidna svojstva vodenog ekstrakta lišća *Azadirachta indica* A. Juss., *Melia azedarach* L. i *Toona ciliata* Roxb. na *M. phaseolina*. Od svake biljke pripremljeno je četiri različite koncentracije (1%, 2%, 3% i 4%). Vodeni ekstrakti *A. indica* i *M. azedarach* pokazali su značajna inhibitorna svojstva na *M. phaseolina* od 34-85%, a ekstrakt *T. ciliata* pokazao je stimulativni učinak na rast gljive u svim koncentracijama koje su bile testirane.

Anitmikrobna svojstva eteričnog ulja sjemenki *Carum carvi* L. testirana su na 10 patogenih bakterija (*Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, *B. cereus* Frankland i Frankland, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Schröter) Migula, *Shigella dysenteriae* (Shiga) Castellani i Chalmers, *S. sonnei*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Staphylococcus aureus* i *Vibrio cholerae* Pacini) i šest fitopatogenih gljiva (*Alternaria alternaria* (Fr.) Keissl., *Botryodiplodia theobromae* Pat., *Colletotrichum corchori* Pavgi i U.P. Singh, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Fusarium equiseti* (Corda) Saccardo, *M. phaseolina*). Eterično ulje pokazalo je inhibitorna svojstva na svih 10 bakterija u koncentraciji od 2 µL/disk i za rast micelija kod svih fitopatogenih gljiva u koncentraciji od 100 ppm. Minimalna inhibitorna koncentracija (50 ppm) bila je dovoljna za inhibiciju rasta *A. alternaria*, *C. lunata*, *B. theobromae* i *M. phaseolina*. Eterično ulje izolirano je vodenom destilacijom od sjemena *C. carvi* i analizirano je plinskom kromatografijom i masenom spektrometrijom (GC-MS). Glavna i najvažnija komponenta je timol (48,20%), a ostale komponente su o-cimen (19,29%), γ-terpinen (17,61%), trimetilen diklorid (8,81%), β-pinen (3,08%), 2-(1-cikloheksenil) cikloheksanon (0,68%), β-felandren (0,67%), 3-karen (0,57%), α-tujen (0,55%) i linalol (0,54%) (Begum i sur. 2008.).

Eterično ulje dobiveno od lišća *Chenopodium ambrosioides* Linn. korišteno je u ispitivanju rasta micelija *Aspergillus flavus* Link.. Ulje je u koncentraciji od 100 µg/mL inhibiralo rast micelija. Ispitana je i toksičnost ulja na *A. niger* van Tieghem, *A. fumigatus* Fresenius, *Botryodiplodia theobromae*, *F. oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *M. phaseolina*, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Helmonthosporium oryzae* Breda de Hann i *Pythium debaryanum* Hesse u koncentraciji od 100 µg/mL. Inhibicija rasta micelija iznosila je 85% za *A. niger*, 51,5% za *C. cladosporioides*, 75,5% za *H. oxysporum*, 68,2% za *M. phaseolina*, a za sve ostale vrste gljiva 100% (Kumar i sur. 2007.).

### 3. VAŽNIJE BOLESTI SUNCOKRETA

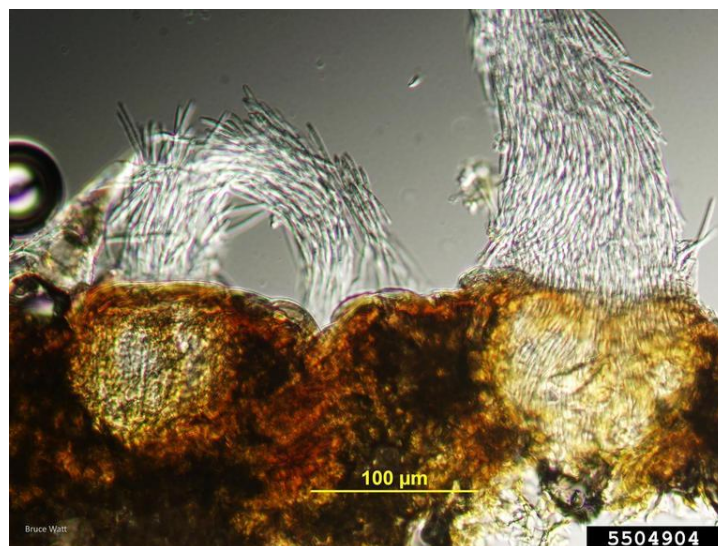
#### 3.1. *Septoria helianthi* Ell i Kell. - uzročnik pjegavosti lišća

*S. helianthi* je patogen koji uzrokuje sivu pjegavost lišća. Nije ekonomski štetna bolest, ali se javlja svake godine u različitim intenzitetima ovisno o okolišnim uvjetima i otpornosti genotipa. Najznačajniji simptom su pjege koje se uočavaju na listovima. U početku zaraze pjege su klorotične, a zatim poprimaju tamniju boju (slika 1).



Slika 1. *Septoria* sp. na listu suncokreta (originalna fotografija)

Nisu pravilnog oblika i javljaju se u velikom broju što dovodi do sušenja listova odnosno nekroze što je posljedica spajanja pjega. Na glavama i stabljici rijetka je pojava bolesti no ukoliko se pojavi ostaje lokalizirana. *S. helianthi* ima višestanični micelij na kojem se razvijaju loptasti piknidi s piknosporama (konidije). Piknidi, plodišta koja nastaju nespolnim načinom, smješteni su u lisnom tkivu tako da na površinu lista izlaze kratki vratovi. Na vrhu plodišta nalazi se ostiolum (otvor) kroz koji izlaze pikonospore (slika 2) (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 2. *S. helianthi*, piknidi s piknosporama (<http://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5504904>)

Piknospore su hijaline, izdužene, s 3 do 4 septe (pregrade), a za klijanje je dovoljna kap vode. Na miceliju dolazi do formiranja sekundarnih konidija koje čine sekundarne zaraze. Optimalni uvjeti za razvoj bolesti su visoka relativna vlažnost zraka i temperatura između 22°C i 25°C. Inkubacija traje od 7 do 14 dana, ovisno o okolišnim čimbenicima. Glavni izvor zaraze su zaraženi ostaci suncokreta iz prethodne vegetacije, a gljiva se u okolišnim uvjetima može održati više godina u obliku piknida. Moguća je i infekcija sjemena na kojem se razvijaju piknidi s piknosporama te se na taj način parazit može prenijeti na druga područja. Mjere za suzbijanje patogena su plodored, zdravo sjeme, otporni hibridi i duboko zaoravanje ostataka suncokreta (Jurković i Ćosić, 2004.).

### **3.2. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary (sin. *Sclerotinia libertiana* Fuckel) - uzročnik bijele truleži**

*S. sclerotiorum* je uzročnik bijele truleži suncokreta. Polifagna je gljiva i osim suncokreta ima još niz domaćina kao što su uljana repica, duhan, grah, soja, leća, krastavci, rajčica, salata, nekoliko vrsta cvijeća, ali i korovne vrste (Bolland i Hall, 1994.). U istočnoj Hrvatskoj utvrđena je pojava *S. sclerotiorum* na vrstama *Amaranthus theophrasti* i *Artemisia artemisiifolia* (Jurković i Culek 1997., Vrandečić i sur. 2003.).

Ukupna šteta ovisi o otpornosti hibrida, postotku zaraženih biljaka, tipu bolesti i okolišnim uvjetima. Bijela trulež suncokreta je problem u svim zemljama gdje se uzgaja suncokret.



Postoje četiri tipa bolesti:

- a) truljenje sjemena i propadanje mladih biljaka
- b) korijenski tip bolesti i venuće biljaka
- c) truljenje srednjeg dijela stabljike
- d) truljenje glave

Truljenje sjemena javlja se zbog inficiranog sjemena i zbog napada patogena iz tla. U oba slučaja neće doći do klijanja sjemena, a ukoliko i dođe klica trune u tlu prije nicanja. Venuće mladih biljaka može se pojaviti, ali uglavnom se radi o vrlo malom broju.

Korijenski tip bolesti prepoznaje se po uvenulim biljkama koje se uočava prije cvjetanja, ali biljke venu i nakon cvjetanja. Iznad razine tla na stabljici uočavaju se sivkaste pjege koje prstenasto obuhvaćaju stabljiku (slika 3). Stabljika je razmekšana i njezina srž propada. Tijekom vlažnog vremena na zaraženom dijelu, u srži i vanjskom dijelu, dolazi do razvoja bijelog gustog micelija i na njemu se razvijaju sklerocije crne boje, veličine od 3 do 10 mm (Jurković i Culek 1997., Vrandečić i sur. 2003.).



Slika 3. *S. sclerotiorum* – korijenski tip bolesti (originalna fotografija)

Truljenje na srednjem dijelu stabljike javlja se od cvjetanja do zriobe. Bolesno tkivo je izbjeljeno i razmekšano. U unutrašnjosti stabljika koje se lako lome nalaze se crne

sklerocije koje ispadaju na tlo što omogućava održavanje parazita za sljedeće vegetacijske godine (slika 4).



Slika 4. *S. sclerotiorum* – truljenje srednjeg dijela stabljike (originalna fotografija)

Zaraza na glavama suncokreta lako se uočava zbog razmekšanog tkiva prekrivenog bijelim micelijem i tamnim sklerocijama. Prvi simptom su vlažne zelenkaste pjege na dorzalnoj strani glave (slika 5). S ventralne strane se formira gusti bijeli micelij na kojem kasnije dolazi do razvoja sklerocija (slika 6). Sjeme može biti inficirano, a sklerocije mogu nastati unutar sjemena iako je češća situacija da nastaju između sjemena (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 5. *S. sclerotiorum* – zaraza na glavi (originalna fotografija)



Slika 6. *S. sclerotiorum* – zaraza na glavi (originalna fotografija)

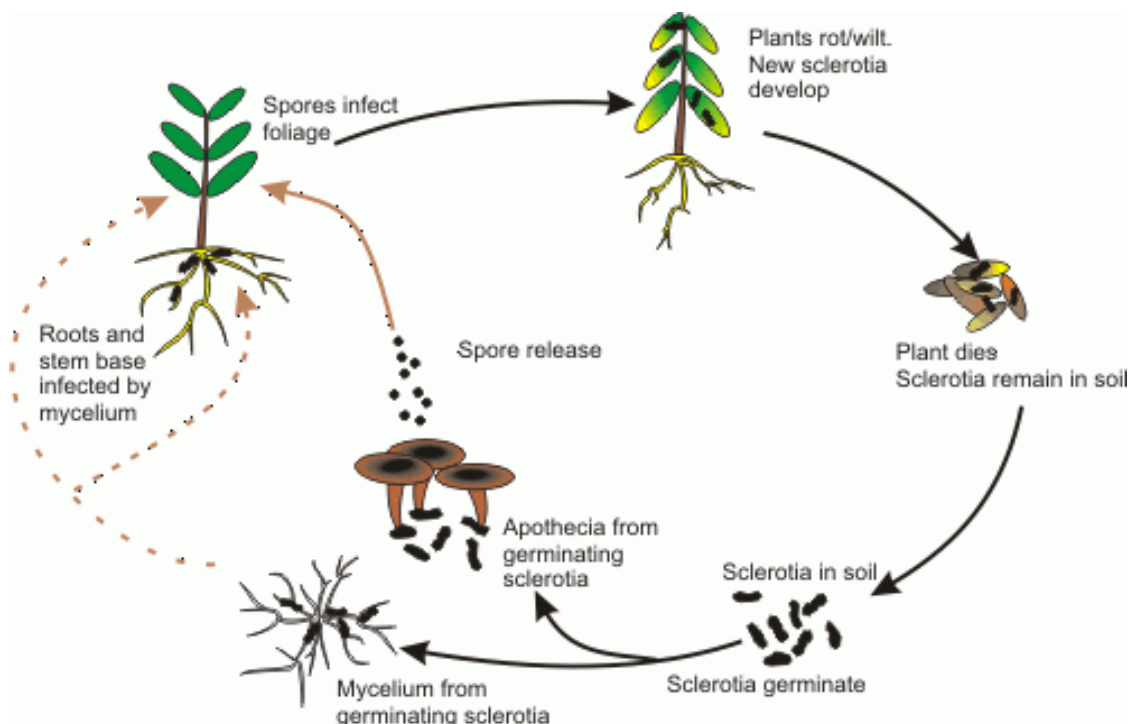
Osnovni izvor zaraze su sklerocije koje prezimljuju u tlu ili na biljnim ostacima, a vitalne su 4 do 6 godina (slika 7). Što su dublje zakopane u tlu brže propadaju (Lukashevich 1966. cit. Aćimović 1997.).



Slika 7. Sklerocije na donjem dijelu stabljike (originalna fotografija)

Sklerocije kliju u micelij koji u dodiru s korijenom suncokreta ostvaruje infekciju mehaničkim prodiranjem u rizodermu. Micelij se širi u stabljiku, tkivo propada i biljka vene. Sklerocije smještene blizu površine tla kliju karpogeno u apotecije. Optimalna temperatura za klijanje je od 11°C do 15°C, a vlažnost treba biti blizu saturacije. Na apotecijima dolazi do razvoja askusa sa askosporama. Askospore bivaju izbačene u zrak iz askusa i zračnim strujama dospjevaju na površinu biljnih organa (slika 8). Za klijanje askospora potrebna je voda koja se mora zadržati na biljnim organima 48 do 72 sata. Vitalnost spora je velika, pa tako one na temperaturama od 19°C do 24°C i pri niskoj

vlažnosti zraka ostanu klijave oko 45 dana, a na 5°C do 7°C i do nekoliko mjeseci (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 8. Životni ciklus *S. sclerotiorum* ([http://info.metos.at/tiki/tiki-index.php?page=White+Leg+Disease+\(Sclerotinia+sclerotiorum\)](http://info.metos.at/tiki/tiki-index.php?page=White+Leg+Disease+(Sclerotinia+sclerotiorum)))

Učinkovite mjere za suzbijanje uzročnika bijele truleži nema. Najbolje mjere zaštite za sada su sjetva zdravog dezinficiranog sjemena, višegodišnji plodored, sjetva manje osjetljivih hibrida, uništavanje korova i samoniklog suncokreta. Za zaštitu glave mogu se primjenjivati fungicidi, ali nije učinkovito za korijenski tip bolesti (Jurković i Ćosić, 2004.).

### 3.3. *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki i Nishih. (sin. *Helminthosporium helianthi* Hansf.) - smeđe-crna koncentrična pjegavost

*A. helianthi* rasprostranjena je na suncokretu u svim područjima gdje se on uzgaja, ali za sada ne uzrokuje velike ekonomske štete iako postoje podatci o gubicima od 15-90% (Lipps i sur. 1986.). *A. helianthi* izaziva pojavu pjega na svim nadzemnim dijelovima suncokreta. Pjege mogu biti različitih veličina i oblika što ovisi o reakciji genotipa. Najčešći simptom su pjege na lišću koje su rasute bez reda, okruglog do poligonalnog oblika i veličine do 3 cm (slika 9). Koncentrični prsteni su glavna karakteristika *A.*



*helianthi*. U središtu pjege nalazi se tamna točka (mjesto infekcije), a okružena je klorotičnom zonom koja se sa starošću pjege gubi. Jake zaraze rezultiraju spajanjem pjega i nekrozom lisne površine što dovodi do prijevremenog sušenja listova. Na peteljkama pjege su ovalne, tamne boje koje svojim razvojem uzrokuju venuće listova. Na stabljikama i glavama pjege su ovalne, smeđe do crne boje, a na glavama još dodatno udubljene. *A. helianthi* uzrokuje slabiji razvoj biljaka, lomljenje zaraženih stabljika, deformaciju glave i crnjenje biljaka uslijed jake zaraze (Jurković i Čosić, 2004.).



Slika 9. *A. helianthi* (<http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6althel.htm>)

*A. helianthi* je fakultativni parazit koji stvara višestanični micelij (u početku svjetlo smeđe, a kasnije tamno smeđe boje). Infekciju obavljaju konidije koje su različitih veličina. Imaju karakterističan oblik u kojem prevladavaju poprečne septe (2-12) dok uzdužnih ima 0-3 (slika 10). Temperaturni raspon za razvoj *A. helianthi* je od 1 – 33°C (optimum 23-25°C) (Islam 1977.). Konidije kliju u kapi vode, a optimalna temperatura klijanja je od 25-28°C. Za infekciju je potrebna visoka relativna vlažnost zraka, navlaženost biljnih organa vodom i temperatura pogodna za klijanje konidija. Konidija klije u infektivnu hifu koja zarazu ostvaruje ulazeći u biljku kroz prirodne otvore (puči), kroz ozlijeđeno tkivo ili probijajući kutikulu i epidermu (Allen i sur. 1983.). Na zaraženim dijelovima i u povoljnim uvjetima gljiva stvara obilje konidija koje se raznose vjetrom i vodom.



Slika 10. Konidije *Alternaria* sp. (originalna fotografija)

Osjetljivost suncokreta na zarazu s *A. helianthi* raste s njegovom starošću i s izloženošću stresnim uvjetima (suša). Zbog toga se bolest češće javlja u drugom dijelu vegetacije. Gljiva se održava na ostacima suncokreta i na sjemenu.

Za suzbijanje preporuča se sjetva tolerantnih hibrida, iako ne postoje u potpunosti otporni hibridi. Korištenje zdravog i dezinficiranog sjemena za sjetvu, plodored do 4 godine, međuredni razmak i razmak između biljaka u redu kako bi se smanjilo dugotrajno zadržavanje vlage te suzbijanje korova pomaže u smanjenju pojave bolesti.

### **3.4. *Botrytis cinerea* Pers. Fr. (telemorf *Botriotinia fuckeliana* (De Bary ex De Bary) Wetzd.) - uzročnik sive pljesni**

*B. cinerea* je polifagna i fakultativna fitopatogena gljiva. Najveći broj domaćina je u uvjetima umjerene klime (suncokret, soja, uljana repica, vinova loza, hmelj, grah, grašak, rajčica, mrkva, luk, brojni korovi). Zaražava suncokret u svim područjima njegova uzgoja, a najviše se javlja u godinama s češćim kišnim periodima, naročito u drugom dijelu vegetacije. Suncokret može biti zaražen od sjemena do sjemena, a broj zaraženih biljaka i intenzitet bolesti ovisi o tolerantnosti biljke, količini oborina, relativnoj vlažnosti zraka i temperaturi.

Patogen zaražava lišće, peteljke, stabljiku i glavu suncokreta. Simptomi su tamne pjegice na kojima se nakon 5-7 dana razvijaju guste sive prevlake. Razvoj sive pljesni na

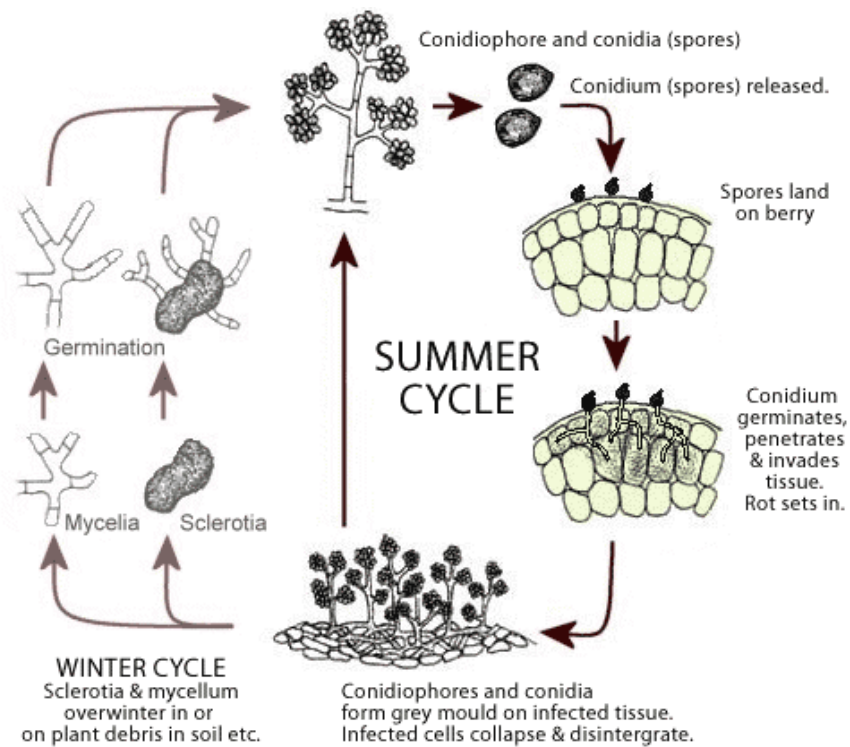
glavama suncokreta je vrlo štetno jer smanjuje prinos i kakvoću sjemena za proizvodnju ulja. Rijetko se može javiti truljenje sjemena, palež klijanaca i propadanje mladih biljaka.

Infekcija se ostvaruje kroz oštećena tkiva na biljci, ali i kroz neoštećenu kutikulu i epidermu biljke. Zaraženo tkivo se razmekšava, lišće i peteljke venu, a stabljike se lako lome. Glave suncokreta inficiraju se s ventralne strane (od ruba prema sredini) (slika 11). Tijekom vlažnog vremena zaražene glave se raspadaju, a sjeme se inficira (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 11. *B.cinerea* na glavi suncokreta (<http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6botci6.htm>)

Gljiva formira višestanični micelij sive boje na kojem se u uvjetima visoke vlage i u tami formiraju dugi konidiofori s puno hijalinih, jednostaničnih konidija. Konidije se raznose vjetrom na veće udaljenosti i kliju u kapi vode ili pri visokoj relativnoj vlažnosti zraka (>90%) (slika 12). Na sivim prevlakama ponekad se stvaraju crne, nepravilne sklerocije veličine 1-2 mm. Karpogeno klijanje sklerocija u apotecije s askusima i askosporama je slabije poznato. Minimalna temperatura za razvoj parazita je 2-5°C, optimalna 20-25°C i maksimalna 39-41°C (Jurković i Ćosić, 2004.).



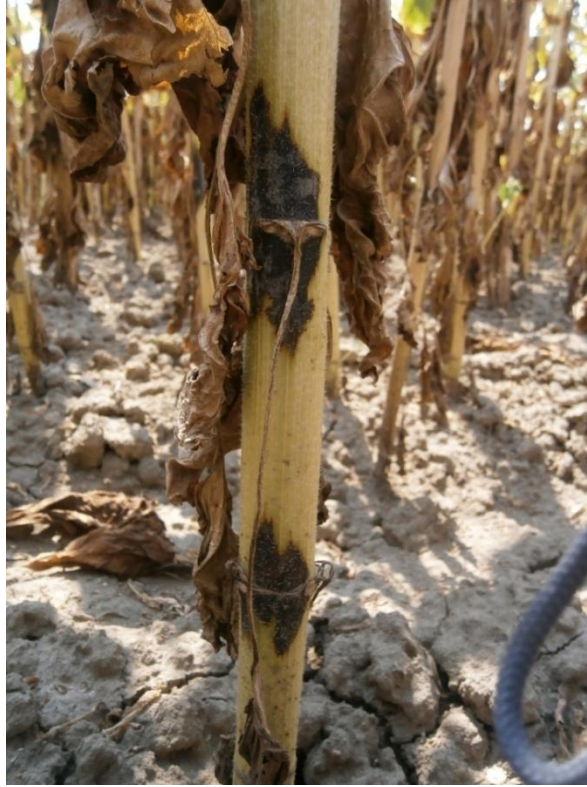
Slika 12. Životni ciklus *B. cinerea* (<http://www.nicks.com.au/vintage-school/vintage-school-2-12-76.1417>)

Od mjera zaštite preporuča se sjetva otpornih genotipa, zdravo i certificirano sjeme, višegodišnji plodored, duboko zaoravanje žetvenih ostataka, uništavanje korova i desikacija biljaka u vrijeme fiziološke zrelosti sjemena (kod sjemenskog usjeva).

### 3.5. *Phomopsis helianthi* Munt.-Cvet., Mihaljč. i M. Petrov (telemorf *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvet., Mihaljč. i M. Petrov) – siva pjegavost stabljike

*P. helianthi* uzrokuje sivu pjegavost na stabljikama, ali osim ovog simptoma javljaju se nekrotične pjege na vrhu ili uz rub lista. Infekcija na listovima javlja se krajem cvjetanja i to na donjim listovima. Pjege često imaju oblik slova V. Nekroza se širi uz glavnu lisnu žilu do peteljke, a preko nje dolazi do stabljike. Zaraženo lišće brzo nekrotira i ostaje suho visjeti na stabljici do kraja sezone. Na spoju peteljke i stabljike pjege su u samom početku svjetlo smeđe, a s vremenom postaju tamnije i povećavaju se i do 20 cm u dužinu (slika 13). Napredovanjem bolesti pjege mogu prstenasto obuhvatiti cijelu stabljiku (Jurković i Ćosić, 2004.).





Slika 13. *P. helianthi* na suncokretu (originalna fotografija)

Bolesne biljke se prijevremeno suše, glave ostaju male sa sjemenom loše kvalitete. Unutar stabljike u zoni pjega biljno tkivo propada, širi se u parenhim te dolazi do razmekšavanja i lomljenja stabljike (slika 14).



Slika 14. *P. helianthi* (originalna fotografija)

Parazit stvara plodišta anamorfnog stadija – piknide i to samo na površini stabljike. Najviše ima plodišta s  $\beta$  konidijama (filiformne, hijaline, jednostanične, na jednom kraju malo zakrivljene ili ravne, ne kliju), a vrlo malo s  $\alpha$  konidijama (hijaline, jednostanične, ovalnog oblika s po 1-2 vakuole na krajevima, kliju dajući micelij). Piknidi su loptastog oblika, tamne boje i blago su uloženi u biljno tkivo. Nastaju u gomilicama ili pojedinačno. Na vrhu svakog piknida nalazi se ostiolum (otvor) kroz koji izlaze  $\beta$  konidije. Na ostacima suncokreta razvija se savršeni stadij *Diaporthe helianthi*. U jesen na biljnim djelovima mogu se uočiti dugi vratovi peritecija koji probijaju koru, dok je tijelo plodišta smješteno u parenhimu kore. Formiranje plodišta započinje u jesen, a najobilnije je u proljeće nakon kišnog razdoblja uz povišene temperature. Askusi su hijalini s dvostaničnim askosporama poredanim u dva reda. Askospore se aktivno oslobađaju iz askusa i kliju u kapi vode u začetak micelija. Širenje askospora odvija se strujanjem vjetra. Izvor zaraze su ostaci suncokreta u tlu, dok sjeme nema veći značaj u širenju bolesti. Korovne vrste i samonikli suncokret omogućavaju održavanje i umnožavanje inokuluma. Primarne infekcije uzrokuju askospore preko lišća (Jurković i Ćosić, 2004., Heller i Gierth, 2001.). Intenzitet bolesti ovisi o otpornosti hibrida, okolišnih čimbenika u vegetaciji, vremenu fenofaze suncokreta i agrotehničkim mjerama.

Minimalna temperatura za razvoj parazita je 5°C, optimalna 25-27°C i maksimalna 30-35°C.

Preporuča se višegodišnji plodored (5 godina), uravnoteženi odnos gnojiva, rjeđi sklop, sjetva zdravog i dezinficiranog sjemena, uzgoj otpornih hibrida, uništavanje korova i samoniklog suncokreta. Primjena fungicida mora biti pravovremena (prvo tretiranje kada je veličina butona 3 cm, a drugo pri kraju cvjetanja).

### **3.6. *Phoma macdonaldii* Boerema (telemorf *Leptosphaeria lindquisti* Frezzi) – crna pjegavost stabljike**

Crna pjegavost na suncokretu utvrđena je na svim uzgojnim područjima suncokreta. Prilikom infekcije prvo bivaju zaraženi donji listovi. Kasnije tijekom vegetacije uz krupne žile na plojci uočavaju se crne nekrotične pjege koje su ovalnog oblika, mogu se spajati i opoliti peteljku što dovodi do venjenja i otpadanja lišća. Na stabljici su karakteristične crne, ovalne pjege koje se pojavljuju u vrijeme cvjetanja na mjestu spoja peteljke i

stabljike gdje se dugo zadržava vlaga te lako dolazi do razvoja infekcije. Pjege prstenasto obuhvaćaju stabljiku, uzrokuju nekrozu tkiva što dovodi do venjenja, lomljenja i sušenja biljaka (slika 15) (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 15. *P. macdonaldi* na suncokretu

([http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Olee/Olee\\_Leptosphaeria\\_lindquistii/](http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Olee/Olee_Leptosphaeria_lindquistii/))

Na peteljka, stabljikama i biljnim ostacima tijekom vegetacije gljiva stvara sitne crne piknide koji su okruglog oblika i uloženi u biljno tkivo. Piknospore, koje su jednostanične, nepravilno ovalnog oblika i hijaline, kroz otvor polodišta izlaze van.

Temperaturni raspon za razvoj gljive je od 3 do 35°C, a optimum je 25°C. Inkubacija traje od 4 do 8 dana ovisno o okolišnim čimbenicima.

Savršeni stadij *Leptosphaeria lindquistii* razvija peritecije koji nastaju na površini biljnih ostataka, tamne su boje i imaju kratak vrat, a askospore su najčešće četverostanične.

Primarni izvor zaraze su ostaci suncokreta u tlu. Prve dvije godine na ostacima prevladavaju piknidi, a u trećoj godini nastaju periteciji. Vitalnost piknida s piknosporama je tri godine (Jurković i Ćosić, 2004.).

Za mjere suzbijanja preporuča se uzgoj tolerantnih hibrida, višegodišnji plodored (6 godina), zdravo i dezinficirano sjeme, pravilna gnojidba te provođenje agrotehničkih mjera.

### 3.7. *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. i De Toni – plamenača suncokreta

Plamenača suncokreta utvrđena je na svim područjima gdje se uzgaja suncokret. Osim na suncokretu može se pojaviti na korovnim vrstama. Od 50-ih godina do uvođenja hibrida u proizvodnju suncokreta plamenača je bila jedna od najštetnijih bolesti. Gljiva ima sposobnost stvarati nove, agresivnije patotipove stoga je potrebno pratiti pojavu plamenače.

Najštetnija je sistemična zaraza pri kojoj su biljke zakržljale, visine 40-60 cm, internodiji su skraćeni, stabljika je zadebljana, lišće je sitno, naborano i klorotično, na naličju uz krupne žile nalazi se bijela, gusta prevlaka koju čine konidiofori i konidije. Ovakve biljke ne daju sjeme, a ako se razvije ono je šturo (slika 16) (Jurković i Ćosić, 2004.).



Slika 16. *P. halstedii* – sistemična zaraza

([http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Plasmopara\\_halstedii/PLASHA\\_images.htm?utm\\_source=www.eppo.org&utm\\_medium=int\\_redirect](http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Plasmopara_halstedii/PLASHA_images.htm?utm_source=www.eppo.org&utm_medium=int_redirect))

Lokalne infekcije su drugi tip bolesti. Simptomi se javljaju samo na lišću koje s gornje strane ima klorotične pjege, a s donje strane je bijela prevlaka konidiofora s konidijama (slike 17 i 18).





Slika 17. *P. halstedii* – lokalna infekcija

(<http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm>)



Slika 18. *P. halstedii* – lokalna infekcija

(<http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm>)

Sjeme razvijeno na zaraženim biljkama služi za prenošenje bolesti i iz takvog sjemena razvija se sistemično zaražena biljka. Glavni izvor zaraze su zaraženi biljni ostaci u tlu u kojima se nalaze oospore koje u najvećoj mjeri nastaju u srži korijenova vrata. Oospore su okrugle, tamno žute boje i imaju zadebljalu višeslojnu opnu. Nastaju spolnim razmnožavanjem i u tlu ostaju vitalne do 10 godina. Oospore kliju dajući zoosporangije sa zoosporama. Zoospore se oslobađaju pri temperaturi od 10-20°C i uz prisutnost vode. One se kreću kroz vodu pomoću dva biča do biljke suncokreta, umire se, odbace bičeve te kliju i inficiraju biljku. Do infekcije dolazi preko korijena, hipokotila, lista, a kasnije i glavice. Biljke starenjem postaju otporne na infekciju pa nakon cvjetanja opasnost od napada plamenjače prestaje. Micelij se u zaraženoj biljci širi intercelularno i gljiva sporulira na zaraženim biljnim ostacima. Na lišću na monopodijalno razgranatim konidioforima

razvijaju se  $\alpha$ -zoosporangiji, a na korijenu se formiraju  $\beta$ -zoosporangiji i dvostruko su veći od onih na listovima. Oslobođene zoospore obavljaju sekundarne infekcije izazivajući lokalne zaraze na lišću i glavicama. Njihovo širenje osigurava vjetar (Jurković i Ćosić, 2004.).

Mjere borbe protiv plamenjače uključuju uzgoj otpornih hibrida, plodored (čak 8-10 godina), uklanjanje sistemično zaraženih biljaka iz usjeva, uništavanje samoniklog suncokreta i korova, kvalitetnu pripremu tla, obavljanje sjetve u optimalnom roku kako bi se ubrzalo nicanje i skratila faza najveće osjetljivosti suncokreta te zdravo i certificirano sjeme.

### 3.8. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. – suha trulež suncokreta

*M. phaseolina* uzročnik je suhe truleži. Kao termofilna gljiva javlja se tijekom ljetnih vrućih mjeseci s vrlo malo oborina. *M. phaseolina* je zemljišni fakultativni parazit i može uzrokovati infekciju na više od 500 kultiviranih i korovnih vrsta.

Prvi simptomi zaraze su venjenje biljaka iza cvjetanja, a tipični simptomi koji se razvijaju najbolje se vide na korijenu i donjem dijelu stabljike (slika 19).



Slika 19. *Macrophomina phaseolina* na suncokretu (originalna fotografija)

Korijen zaraženih biljaka tamne je boje i razgrađene strukture što je razlog venjenja biljaka. Na donjim dijelovima stabljike uočava se siva boja, kora se lako odvaja od srži koja je također sive boje i ispunjena sa sitnim crnim mikrosklerocijama (0,5-1,5 mm) (slika 20).



Slika 20. *Macrophomina phaseolina* – mikrosklerocije u stabljici (originalna fotografija)

Izvor zaraze su ostaci suncokreta i ostalih domaćina te mogu biti izvor infekcije kroz nekoliko godina. Mikrosklerocije ostaju vitalne u vlažnim tlima 7-8 godina, dok micelij propada za 7 dana.

Mikrosklerocije kliju potaknute izlučevinama korijena, a za razvoj parazita potrebna je visoka temperatura. Minimalna temperatura za razvoj sklerocija i micelija je 10°C, optimalna 30°C, a maksimalna 40°C. Stadij piknida u prirodi je rijedak, a ukoliko dođe do njegovog formiranja unutar njega razvijaju se piknospore (Jurković i Ćosić, 2004.).

U borbi protiv ove bolesti preporučuju se sve mjere koje osiguravaju optimalan rast i razvoj biljaka (odabir hibrida otpornih na sušu i tolerantnih na patogen, plodored od nekoliko godina, sjetva zdravog i kvalitetnog sjemena, duboko zaoravanje žetvenih ostataka, pravilna gnojidba i navodnjavanje).

#### 4. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je rađeno u dva dijela. Prvi dio obuhvaćao je praćenje bolesti suncokreta na poljoprivrednoj površini veličine 22 ha, lokacija Ivanovac. Sjetva suncokreta je obavljena u drugoj polovici travnja. Praćenje zdravstvenog stanja suncokreta u polju je obavljeno u više navrata; izvršena su tri obilaska prije početka cvjetanja, tri obilaska tijekom razdoblja cvjetanja i tri obilaska nakon cvjetanja suncokreta. Prvi obilazak je bio 10.5.2013., a zadnji 10.9.2013.

Drugi dio istraživanja proveden je u laboratoriju za fitopatologiju na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku gdje je ispitivan utjecaj jedanaest eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina*. Izolacija patogena je obavljena u laboratoriju.

Morfološke strukture gljiva promatrane su uz pomoć mikroskopa Olympus BX-41.

Provjera klijavosti sklerocija obavljena je uz pomoć metode vlažnih komora, a brzina porasta micelija *S. sclerotiorum* mjrena je na podlozi krumpir dekstrozni agar (PDA). Zdjelice su držane u tamnoj komori na konstantnoj temperaturi od 22°C.

Dio sklerocija stavljen je u mrežicu i zakopan u tlo na dubine od 5 i 10 cm kako bi se nakon godinu dana provjerila njihova klijavost u apotecije.

Za *P. helianthi* napravljena je ocjena stupnja zaraze na 100 biljaka prema Mc Kinney-ovu indeksu.

Mc Kinney-ov indeks:

$$\frac{\sum (n * k)}{N * K}$$

n – broj biljaka po kategoriji

k – ocjena pojedine kategorije

N – broj svih biljaka (u ovom slučaju 100)

K – broj usvojenih kategorija (od 0 do 5 = 6 kategorija)

Maksimalan indeks bolesti je 83,33 (slučaj kada je ocjena za sve biljke 5)



Za ocjenu zaraze s *P. helianthi* korištena je skala od 0 do 5 (tablica 1), a ocjena jačine zaraze prema indeksu bolesti može biti od 0 do 83,33 (tablica 2).

Tablica 1. Ocjena zaraze *Phomopsis helianthi* od 0 do 5

<b>OCJENA ZARAZE</b>	<b>SIMPTOMI</b>
<b>0</b>	<b>zdrava biljka</b>
<b>1</b>	<b>jedna do dvije lokalizirane pjege</b>
<b>2</b>	<b>tri do pet lokaliziranih pjega</b>
<b>3</b>	<b>na stablici se nalaze pjege koje nisu lokalizirane</b>
<b>4</b>	<b>cijela stabljika zahvaćena pjegama koje se spajaju</b>
<b>5</b>	<b>stabljika crna, tkivo se na dodir raspada</b>

Tablica 2. Ocjena jačine zaraze prema indeksu bolesti

<b>INDEKS BOLESTI</b>	<b>OCJENA JAČINE ZARAZE</b>
<b>0,1 – 10,0</b>	<b>vrlo slaba zaraza</b>
<b>10,1 – 25,0</b>	<b>slaba zaraza</b>
<b>25,1 – 55,0</b>	<b>srednje jaka zaraza</b>
<b>55,1 – 70,0</b>	<b>jaka zaraza</b>
<b>70,1 – 83,33</b>	<b>vrlo jaka zaraza</b>

Uzorci biljnog tkiva zaraženi *M. phaseolina* obrađeni su u laboratoriju i po jedan komad biljnog tkiva stavljen je u svaku od šest posudica s hranjivom podlogom. Uzorci su ostavljeni u tamnoj komori na konstantnoj temperaturi od 22°C kako bi se razvio micelij. Razvijeni micelij precijepuje se na nove tri hranjive podloge kako bi dobili čiste kulture za ispitivanje s eteričnim uljima.

#### **4.1. Priprema hranjive podloge**

Petrijeve posudice koji se upotrebljavaju za izljevanje hranjivih podloga prethodno se autoklaviraju 20 minuta na temperaturi od 121°C. U 1 L destilirane vode u Erlenmeyerovoj

tikvici odvaže se 42 g smjese krumpir dekstrozni agar + 4 g čistog agara. Nakon mješanja stavi se na vodenu kupelj dok tekućina ne zavrije i nastavlja se kuhati 30 minuta. Kako je potrebno da hranjiva podloga bude blago kisela, tijekom kuhanja pH tekućine provjerava se indikatorskim papirom. U slučaju da je otopina lužnate dodaje se HCl 0,1 mol/L u količini dok se ne postigne zadana vrijednost. U slučaju da je otopina previše kisela dodaje se NaOH 0,1 mol/L dok se ne postigne blaga kiselost. Pripremljena otopina se autoklavira na temperaturi od 121°C u razdoblju od 20 minuta. Nakon hlađenja dodaje se rastopljeni antibiotik (koji je otopljen u prethodno autoklaviranoj destiliranoj vodi), promješa i izljeva u pripremljene Petrijeve posudice.

#### **4.2. Postavljanje istraživanja**

Nakon pripreme hranjivih podloga u središte svake Petrijeve posudice stavlja se mali papirnati disk promjera 5 mm (prethodno autoklaviran) na koji se pipetom dodaje 5 µL eteričnog ulja, a u kontrolu 5 µL destilirane vode. U svaku Petrijevu posudicu sterilnom iglom se stavljaju četiri diska micelija *M. phaseolina* promjera 5 mm na mjesta koja su podjednako udaljena od središta Petrijeve posudice. Eterična ulja koja su upotrebljena su sljedeća: *Pimpinella anisum*, *Mentha x piperita*, *Citrus aurantium* ssp. *amara*, *Rosmarinus officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Carum carvi*, *Pinus sylvestris*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Eugenia caryophyllus*, *Lavandula angustifolia* ssp. *angustifolia*. Za svako eterično ulje ispitivanje je provedeno u četiri ponavljanja, a sve je obavljeno u laminaru kako bi se osigurali sterilni uvjeti. Ukupno je bilo 48 ispitivanih uzoraka. Uzorci su stavljeni u tamnu komoru na temperaturu od 22,2°C.

Mjerenje inhibitornih zona oko papirnatog diska (udaljenost od kraja kolonije gljiva do papirnatog diska) provedeno je nakon tri, šest i devet dana od početka inkubacije.

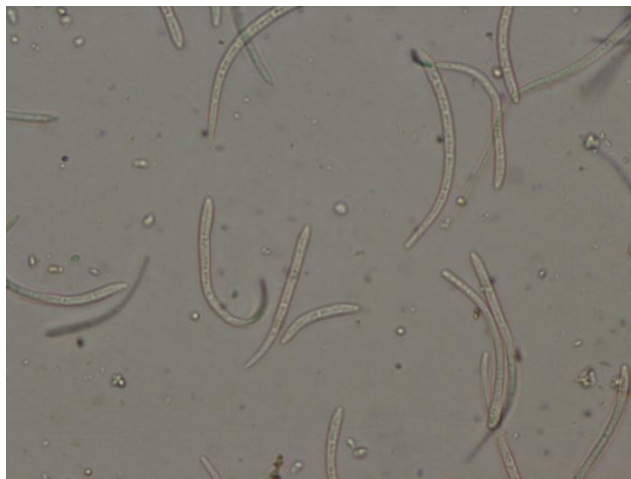
#### **4.3. Statistička analiza rezultata**

Statistička analiza rezultata provedena je analizom varijance (ANOVA) i najmanje signifikantne razlike (LSD) koristeći Microsoft Excel.

## 5. REZULTATI I RASPRAVA

Tijekom praćenja pojave bolesti na suncokretu obavljeno je ukupno devet obilazaka u različitim fazama razvoja suncokreta. Od važnijih bolesti suncokreta zabilježena je pojava *Sclerotinia sclerotiorum*, *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi* i *Macrophomina phaseolina*.

Uzorci biljnog tkiva na kojima su se pojavili simptomi *Septoria* sp. i *Alterinaria* sp. pregledani su u laboratoriju i mikroskopskim pregledom uočene su konidije *S. helianthi* (slika 21) i *Alternaria* sp (slika 22).



Slika 21. *S. helianthi* – konidije (originalna fotografija)



Slika 22. *Alternaria* sp. – konidije (originalna fotografija)

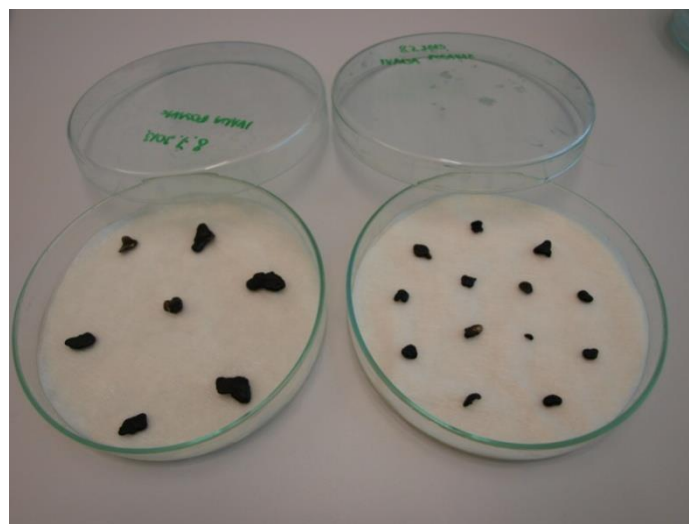
### 5.1. Analiza *Sclerotinia sclerotiorum*

Na terenu je izvršena ocjena zaraženosti sa *S. sclerotiorum* na 100 biljaka koje su izabrane dijagonalno kroz cijelu površinu. Od 100 biljaka na 32 biljke uočena je zaraza sa *S. sclerotiorum*, od toga je 16 zabilježeno na korijenu i 16 na stabljici, dok na glavama nije zabilježea zaraza. Prema tome, zaraženost suncokreta iznosi 32%, od čega je 16% na stabljici i 16% na korijenu.

Sklerocije skinute sa zaraženog korijena suncokreta su izmjerene te je najveća sklerocija bila veličine 1,9 cm, a najmanja 0,3 cm (slika 23). Nakon ispiranja ostavljene su na vlažnoj podlozi i sobnoj temperaturi kako bi se ispitalo klijanje u apotecije (slika 24).



Slika 23. Sklerocije *S. sclerotiorum* (originalna fotografija)



Slika 24. Ispitivanje klijavosti sklerocija *S. sclerotiorum* (originalna fotografija)

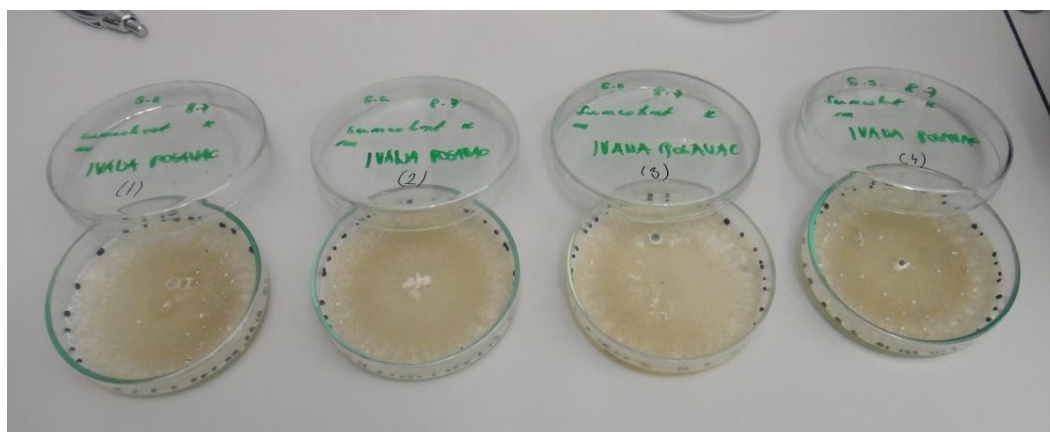
Sklerocije prikupljene na terenu i stavljene na vlažnu podlogu nisu proklijale u apotecije nego samo u micelij.

Sklerocije prikupljene u srpnju 2013. godine i zakopane na dvije različite dubine (5 i 10 cm) nisu mogle biti analizirane jer se propale zbog izrazito vlažne jeseni. Takav zaključak potvrđuje i istraživanje Moore (1949.) i Čosić i sur. (2012.) gdje sklerocije u tlu izložene prekomjernoj vlazi bivaju u potpunosti uništene.

Mjerenje zone rasta micelija *S. sclerotiorum* izvršeno je nakon dva i četiri dana od postavljanja zaraženog biljnog tkiva na hranjivu podlogu (tablica 3). Nakon dva dana zabilježen je porast micelija koji je bijele boje i nježne, paučine strukture, dok začetak stvaranja sklerocija nije zabilježen. Tijekom drugog pregleda na svim uzorcima zabilježeno je stvaranje sklerocija i micelij je u potpunosti prorastao hranjivu podlogu (slika 25).

Tablica 3. Porast micelija *S. sclerotiorum* na hranjivoj podlozi nakon dva i četiri dana (mm)

<b>BROJ UZORKA</b>	<b>2. DAN</b>	<b>4. DAN</b>
<b>1.</b>	<b>76</b>	<b>90</b>
<b>2.</b>	<b>84</b>	<b>92</b>
<b>3.</b>	<b>37</b>	<b>90</b>
<b>4.</b>	<b>85</b>	<b>90</b>



Slika 25. Razvoj micelija i sklerocija *S. sclerotiorum* na hranjivoj podlozi (originalna fotografija)

## 5.2. Analiza *Phomopsis helianthi*

Stupanj zaraze s *P. helianthi* ocjenjen je prema Mc Kinney-ovu indeksu i iznosi 18,5 te se može reći da se je radilo o slaboj zarazi s *P. helianthi*. Na 100 biljaka najviše ih je bilo s ocjenom 0 (bez vidljivih simptoma bolesti), a najveća ocjena je bila 2 (tri do pet lokaliziranih pjega) (tablica 4).

Tablica 4. Stupnjevi zaraze *P. helianthi* na suncokretu

REDOVI	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
<b>BROJ BILJAKA</b>										
1.	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0
2.	0	1	0	2	2	2	1	1	1	2
3.	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1
4.	1	1	1	2	1	2	0	1	2	2
5.	0	0	1	0	0	1	1	2	1	1
6.	0	0	2	1	1	2	1	2	1	2
7.	1	1	1	0	1	1	1	2	1	1
8.	1	1	2	2	1	2	1	2	1	1
9.	0	1	1	1	2	1	1	0	2	1
10.	1	0	2	2	1	2	1	1	1	2

Mc Kinney-ov indeks:

$$I = \frac{(15*0)+(59*1)+(26*2)}{(100*6)} * 100 = 18,5$$

### 5.3. Utjecaj eteričnih ulja na rast micelija gljive *Macrophomina phaseolina*

Utjecaj eteričnih ulja na rast micelija *M. phaseolina* tri, šest i devet dana nakon inokulacije prikazan je u tablici 5.

Tablica 5. Zona inhibicije (srednja vrijednost/mm) tri, šest i devet dana nakon inokulacije *M. phaseolina*

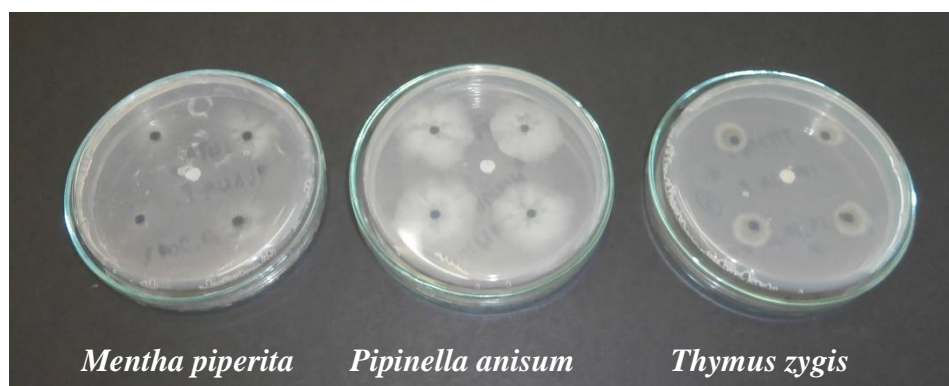
ETERIČNO ULJE	3. DAN	6. DAN	9. DAN
<i>Carum carvi</i>	0	0	0
<i>Cinnamomum verum</i>	3,81**	0	0
<i>Citrus aurantium ssp. amara</i>	0,94	0,3	0
<i>Eugenia caryophyllus</i>	6,19**	0	0
Kontrola (voda)	1,94	0,9	0,75
<i>Lavandula angustifolia</i>	0	0	0
<i>Mentha piperita</i>	11**	0,5	0
<i>Pimpinella anisum</i>	6,56**	0	0
<i>Pinus sylvestris</i>	1,56	0,2	0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0	0	0
<i>Salvia officinalis</i>	0	0	0
<i>Thymus zygis</i>	18**	9,19**	2,5
LSD 0,05	2,39	2,92	-
LSD 0,01	3,21	3,91	-

Tri dana nakon inokulacije eterična ulja *Thymus zygis*, *Mentha piperita*, *Pimpinella anisum*, *Eugenia caryophyllus* i *Cinnamomum verum* pokazuju statistički visoko značajna inhibitorna svojstva na rast micelija gljive *M. phaseolina* (slika 26 i 27). Wilson i sur (1997.) utvrdili su u svom istraživanju kako su eterična ulja *Thymus zygis*, *Eugenia caryophyllus*, *Cinnamomum verum* pokazala najveće inhibitorno djelovanje protiv *Botrytis cinerea*. Najznačajniji sastojci eteričnih ulja su D-limonene, cineol,  $\beta$ -mircen,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen i kamfor. Pérez-Sánchez i sur. (2007.) ispitivali su utjecaj *Thymus zygis* na pet

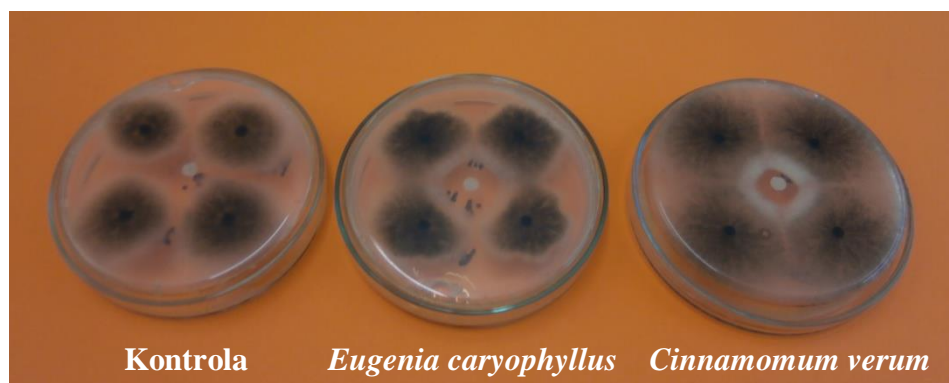
\*\* Eterična ulja koja su pokazala visoko značajna inhibitorna svojstva nakon tri i šest dana od inokulacije.

patogenih gljiva (*Pythium irregulare*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium oxysporum*, i *S. sclerotiorum*) prilikom čega je zabilježeno inhibitorno svojstvo, a aktivni sastojci koji se povezuju s najvećom aktivnošću su 3-oktanol i  $\alpha$ -terpinen. Kumar i sur. (2007.) ispitivali su inhibitorno djelovanje eteričnog ulja *Mentha arvensis* u odnosu na sintetičke fungicide za fitopatogene vrste gljiva (*Aspegirus niger*, *A. fumigatus*, *Botryodiplodia theobromae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Helminthosporium oryzae*, *M. phaseolina* i *Sclerotium rolfsii*) u koncentraciji 0,10 mg/mL. Pri toj koncentraciji eterična ulja su postigla veća inhibitorna svojstava od sintetičkih fungicida.

Statističkom analizom (ANOVA) zabilježena je značajna razlika u inhibitornim svojstvima pet navedenih eteričnih ulja u odnosu na kontrolu i preostalih šest eteričnih ulja (*Pinus sylvestris*, *Citrus aurantium* ssp. *amara*, *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis* i *Salvia officinalis*) za prag značajnosti od 99% ( $P < 0,01$ ) (tablica 5).



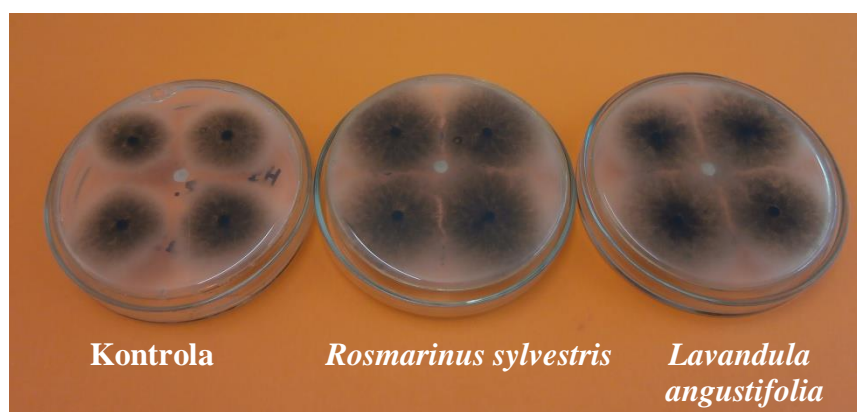
Slika 26. Inhibitorni učinak eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon tri dana (originalna fotografija)



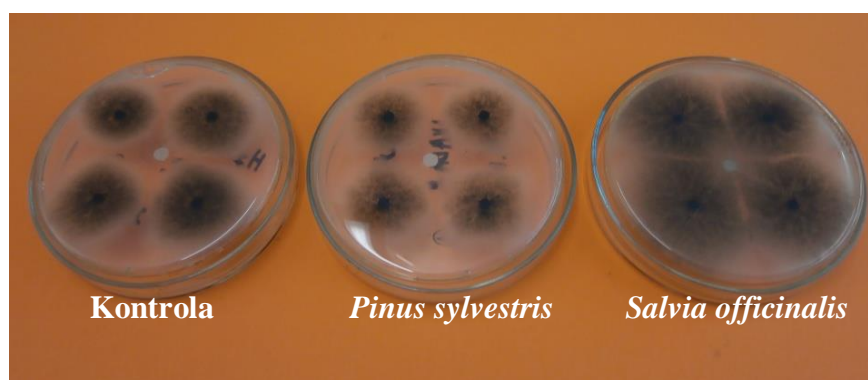
Slika 27. Inhibitorni učinak eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon tri dana (originalna fotografija)



Eterična ulja *Pinus sylvestris*, *Citrus aurantium* ssp. *amara*, *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus sylvestris* i *Salvia officinalis* pokazala su, u odnosu na kontrolu, poticajna svojstva za rast micelija (slika 28 i 29). Dobiveni rezultati slažu se s istraživanjem Lee i sur. (2007.) i Ravlić (2011.) gdje ulja bora i ružmarina nisu imala inhibotorni učinak na razvoj micelija više vrsta fitopatogenih gljiva. Prema Ćosić i sur. (2010.) eterično ulje gorke naranče i bora nije pokazalo nikakva inhibitorna svojstva za *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *Diaporthe helianthi*, *D. phaseolorum* var. *caulivora*, *Phomopsis longicolla*, *P. viticola*, *Helminthosporium sativum*, *Colletotrichum coccodes*, *Thanatephorus cucumeris* što se slaže s dobivenim rezultatom za *M. phaseolina*.

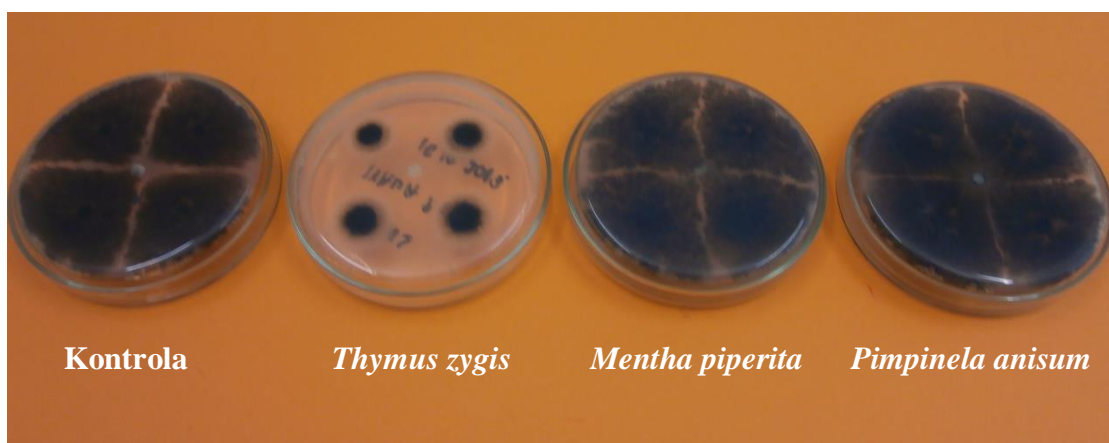


Slika 28. Stimulirajući učinak eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon tri dana (originalna fotografija)



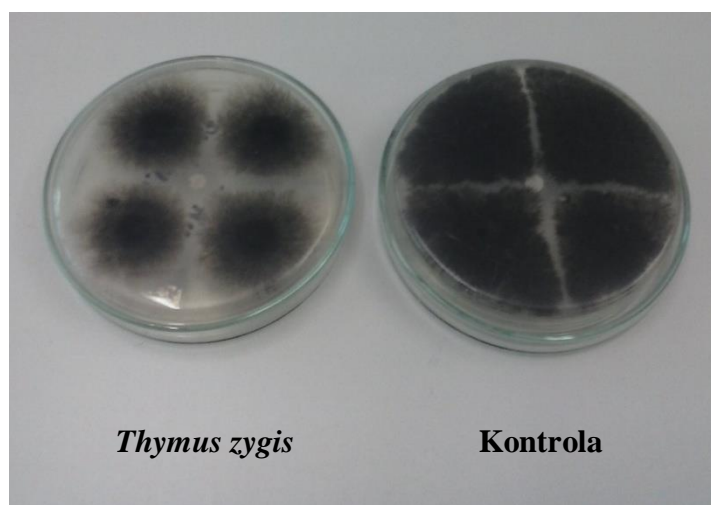
Slika 29. Stimulirajući učinak eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon tri dana (originalna fotografija)

Šest dana nakon inokulacije utvrđeno je kako eterično ulje *Thymus zygis* jedino pokazuje inhibitorna svojstva na porast micelija *M. phaseolina* (slika 30). Statističkom analizom (ANOVA) utvrđene su visoko značajne inhibitorne razlike u odnosu na ostala eterična ulja s pragom značajnosti od 99% ( $P < 0,01$ ) (tablica 5).



Slika 30. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon šest dana (originalna fotografija)

Devet dana nakon inokulacije niti jedno eterično ulje ne pokazuje inhibitorna svojstva (slika 31). Statistički izračunata F vrijednost ( $F=1,94$ ) je manja od praga značajnosti ( $\alpha_{(0,05)}=2,11$ ;  $\alpha_{(0,01)}=2,86$ ) stoga se može reći kako niti jedno eterično ulje nakon devet dana nema značajno inhibitorno svojstvo na razvoj *M. phaseolina*.



Slika 31. Utjecaj eteričnog ulja na porast micelija *M. phaseolina* nakon devet dana (originalna fotografija)

#### 5.4. Zdravstvena analiza sjemena

Zdravstvena analiza sjemena napravljena je na 100 sjemenki suncokreta. Sjemenke su stavljene na vlažan papir u tamnu komoru na temperaturu od 22°C. Klijavost sjemena bila je vrlo dobra (slika 32), dok je analizom pomoću lupe i mikroskopa utvrđena prisutnost *Alternaria* sp. (slika 33).



Slika 32. Zdravstvena analiza sjemena (originalna fotografija)



Slika 33. *Alternaria* sp. (originalna fotografija)

## 6. ZAKLJUČAK

Važnije bolesti uzrokovane fitopatogenim gljivama koje su zabilježene tijekom pregleda suncokreta su *Sclerotinia sclerotiorum*, *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi* i *Macrophomina phaseolina*.

Zdravstvenom analizom sjemena suncokreta utvrđeno je prisustvo *Alternaria* sp.

Procjena zaraze *P. helianthi* prema Mc Kinny-ovu indeksu iznosi 18,5 što odgovara slaboj zarazi ovim patogenom.

Eterična ulja *Pinus sylvestris*, *Citrus aurantium* ssp. *amara*, *Carum carvi*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus sylvestris* i *Salvia officinalis* nakon trećeg dana pokazala su poticajna svojstva na rast micelija *M. phaseolina* u odnosu na kontrolu.

Eterična ulja *Thymus zygis*, *Mentha piperita*, *Pimpinella anisum*, *Eugenia caryophyllus* i *Cinnamomum verum* nakon trećeg dana pokazuju statistički značajna inhibitorna svojstva na rast micelija gljive.

Nakon šestog dana eterična ulja *Mentha piperita*, *Pimpinella anisum*, *Eugenia caryophyllus* i *Cinnamomum verum* na pokazuju svojstvo inhibicije na rast micelija, dok eterično ulje *Thymus zygis* jedino ima statistički značajna inhibitorna svojstva.

Deveti dan nakon inokulacije niti jedno eterično ulje nije imalo inhibitorna svojstva na rast micelija *M. phaseolina*.

## 7. LITERATURA

1. Alastair McCartney, H., Lacey, M.E. (1991): The Relationship between the Release of Askospores of *Sclerotinia sclerotiorum*, Infection and Disease in Sunflower Plots in the United Kingdom, *Grana*, 30(2): 486-492
2. Allen, S.J., Brown, J.F., Kochman, J.K. (1982): Effects of Temperature, Dew Period and Light on the Growth and Development of *Alternaria helianthi*, *Phytopathology* 73: 893-896
3. Allen, S.J., Brown, J.F., Kochman, J.K. (1983): Effects of Leaf Age, Host Growth Stage, Leaf Injury and Pollen on the Infection of Sunflower by *Alternaria helianthi*, *Phytopathology* 73: 896-898
4. Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J.D., Arlorio, M., Dessi, S., Coroneo, V., Cabras, P. (2004): Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial and Antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L., *J. Agric. Food Chem.*, 52(11): 3530-3535
5. Ashraf, H., Javaid, A. (2007): Evaluation of Antifungal Activity of Meliaceae Family Against *Macrophomina phaseolina*, *Mycopath*, 5(2): 81-84
6. Begum, J., Nazrul Islam Bhuiyan, M., Uddin Chowdhury, J., Nuzmul Hoque, M., Nural Anwer, M. (2008): Antimicrobial Activity of Essential Oil from Seeds of *Carum carvi* and Its Composition, *Bangladesh J Microbiol*, 25(2): 85-89
7. Boussaada, O., Chemli, R. (2007): Seasonal Variation of Essential Oil Composition of *Citrus aurantium* L. var. *amara*, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10(2): 109-120
8. Ćosić, J., Vrandečić, K., Postić, J., Jurković, D., Ravlić, M. (2010): In Vitro Antifungal Activity of Essential Oils on Growth of Phytopathogenic Fungi, *Poljoprivreda*, 16(2): 25-28
9. Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K., Kaučić, D. (2012): Survival of Buried *Sclerotinia sclerotiorum* Sclerotia in Undisturbed Soil, *Helia*, 35(56): 73-78
10. Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G. (2000): GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): 2576-258

11. Gagro, M. 1998. Industrijsko i krmno bilje, Zagreb
12. Harveson, R.M., (2011): Sclerotinia Diseases on Sunflower in Nebraska, NebGuide, Published by University of Nebraska – Lincoln Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources (<http://www.ianrpubs.unl.edu/pages/publicationD.jsp?publicationId=1424> Preuzeto: 15.7.2014)
13. Hayouni, E.A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J.Y., Mohammed, H., Hamdi, M. (2008): Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat, *J. Agric. Food Chem.*, 125(3): 242-251
14. Huszár, J. (2011): Occurrence of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary and *Diaporthe (Phomopsis) helianthi* Munt.-Cvet. et al. on *Iva xanthiifolia* Nutt. in Slovak Republic, Department of Biology, J. Selye University, Komárno, Slovak Republic, *Plant Protect. Sci.*, 47(2): 52-54
15. Islam, A.N.M.U. (1977): Studies on the Biology, Epidemiology and Control of *Alternaria helianthi* (Hansf.) Tubaki and Nishihara, of Sunflower
16. Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., Schmidt, E. (2006): Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil, *J. Agric. Food Chem.*, 54(17): 6303–6307
17. Jocić, S., Lačok, N., Miklić, V., Škorić, D., Griveau, Y. (2004): Testing Two Isolates of *Diaporthe/Phomopsis helianthi* in a Population of Sunflower Recombinant Inbred Lines, *HELIA*, 41: 129-136
18. Jurković, D., Ćosić, J. (2004): Bolesti suncokreta u knjizi: Vratarić, M. i sur. (2004): Suncokret *Helianthus annuus* L., Poljoprivredni institut Osijek, 283-329
19. Kamensky, Merav., Ovadis, Marianna., Chet, Ilan., Chernin, Leonid. (2003): Soil-borne Strain IC14 of *Serratia plymuthica* with Multiple Mechanisama of Antifungal Activity Provides Biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerocia sclerotiorum* Diseases, *Soil Biology and Biochemistry*, 35(2): 323-331

20. Kumar, R., Dubey, N.K., Tiwari, O.P., Tripathi, Y.B., Sinha, K.K. (2007): Evaluation of Some Essential Oils as Botanical Fungitoxicants for the Protection of Stored Food Commodities from Fungal Infestation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(9): 1737-1742
21. Kumar, R., Kumar Mishra, A., Dubey, N.K., Tripathi, Y.B. (2007): Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* Oil as a Potential Source of Antifungal, Antiaflatoxigenic and Antioxidant Activity, *Int J Food Microbiol.*, 115(2): 159-164
22. Laribi, B., Kouki, K., Mougou, A., Marzouk, B. (2009): Fatty acid and essential oil composition of three Tunisian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(3): 391-396
23. Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.C. (2007): Antifungal Activity of Five Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi, *Plant Pathol. J.*, 23(2): 97-102
24. Lešić, L. Hrgović, S., Suncokret, Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu, Zagreb (<http://www.savjetodavna.hr/adminmax/publikacije/suncokret.pdf> preuzeto 16.3.2014.)
25. Manici, L.M., Caputo, F., Cerato, C. (1995): Temperature responses of Isolates of *Macrophomina phaseolina* from Different Climatic Regions of Sunflower Production in Italy, *Plant Dis.* 79: 834-838
26. Masirević, S., Gulya, T.J. (1992): *Sclerotinia* and *Phomopsis* – Two Devastating Sunflower Pathogens, *Field Crops Research*, 30(3-4): 271-300
27. Mc Kinney, H.H. (1923.): Influence of Soil Temperature and Moisture in Infection of Whed Seedlings by *Helminthosporium sativum*. *J. agric. Res.* 26: 195-217
28. Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2008): Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 22(3): 227-232
29. Pérez-Sánchez, R., Infante, F., Gálvez, C., Ubera, J.L. (2007): Fungitoxic Activity Against Phytopathogenic Fungi and the Chemical Composition of *Thymus zygis* Essential Oils, *Food Science and Technology International*, 13(5): 341-347

30. Perry, N.B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas M.H., Heaney, A.J., McGimpsey, J.A., Smallfield, B.M. (1999): Essential Oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons, and Sites, *J. Agric. Food Chem.*, 47(5): 2048-2054
31. Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Ramesh, S., Kumar, S. (2001): Essential oil composition of *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaves from Little Andaman, India, *Flavour and Fragrance Journal*, 16(5): 374-376
32. Ravlić, M. (2011): Utjecaj eteričnih ulja na porast važnijih fitopatogenih gljiva, diplomski rad, Poljoprivredni fakultet Osijek
33. Santoyo, S., Caverro, S., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J., Reglero, G. (2005): Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Obtained via Supercritical Fluid Extraction, *Journal of Food Protection*, 4: 660-884
34. Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, DD, Vajs, V., Van Griensven, L.J.L.D. (2008): Chemical Composition of Essential Oilsof *Thymus* and *Mentha* Speciesand Their Antifungal Activities, *Molecules*, 14(1): 238-249
35. Suhr, K.I., Nielsen, P.V. (2003): Antifungal activity of Essential oils Evaluated by Two Different Application Techniques Against Rye Bread Spoilage Fungi, *Journal of Applied Microbiology*, 94(4): 665-674
36. Toroglu, S. (2007): In vitro antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species, *Journal of Environmental Biology*, 28(3): 551-559
37. Verma, R. S., Rahman, L. U., Chanotiya, C. S., Verma, R. K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A., Yadav, A. K. (2010): Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(3): 343-348
38. Wilson, C.L., Solar, J.M., El Ghaouth, A., Wisniewski, M.E. (1997): Rapid Evaluation of Plant Extracts and Essential Oils for antifungal Activity Against *Botrytis cinerea*, *Plant disease*, 81(2): 204-210



39. Zafra, M., García-Peregrín, E. (1976): Seasonal variations in the composition of *Pinus halepensis* and *Pinus sylvestris* twigs and needles essential oil, *J. Agric. Food Chem.*, 86(1): 1-6
40. <http://www.agroklub.com/sortna-lista/uljarice-predivo-bilje/suncokret-84/> (preuzeto 16.3.2014.)
41. [http://pinova.hr/hr\\_HR/baza-znanja/ratarstvo/ratarske-kulture/suncokret/porijeklo-suncokreta](http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/ratarstvo/ratarske-kulture/suncokret/porijeklo-suncokreta) (preuzeto 16.3.2014.)

## 8. SAŽETAK

U radu je prikazano praćenje bolesti suncokreta na poljoprivrednoj površini veličine 22 ha (lokacija Ivanovac) tijekom jedne vegetacijske godine. Od važnijih fitopatogenih gljiva zabilježena je pojava *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Macrophomina phaseolina*. *S. sclerotiorum* se javila na oko 32% biljaka podjednako zahvaćajući korijen i stabljiku suncokreta. Indeks zaraze s *P. helianthi* prema McKinney-ovom indeksu iznosio je 18,5 što odgovara slaboj zarazi ovim patogenom. *M. phaseolina* zabilježena je tijekom kolovoza kada su temperature bile iznad 30°C. Zdravstvena analiza sjemena suncokreta pokazale je vrlo dobru klijavost i prisutnost *Alternaria* sp.

Biljni uzorci zaraženi s *M. phaseolina* obrađeni su u laboratoriju kako bi se pripremili za ispitivanje utjecaja jedanaest različitih eteričnih ulja (anis, menta, gorka naranča, ružmarin, cimet, kim, bor, kadulja, timijan, eugenia, lavanda) na porast micelija. Nakon tri dana eterična ulja timijana, mente, anisa, cimeta i eugenije pokazala su statistički značajna inhibitorna svojstva, dok su ostala eterična ulja u odnosu na kontrolu (voda) imala stimulirajući učinak na rast micelija. Nakon šest dana samo je kod timijana zabilježeno inhibitorno djelovanje, a nakon devet dana niti kod jednog eteričnog ulja nije zabilježeno inhibitorno djelovanje na porast micelija.

Ključne riječi: fitopatogene gljive, eterična ulja, rast micelija, inhibicija.

## 9. SUMMARY

Monitoring of sunflower's diseases was done on the agricultural area (size 22 hectares) throughout the growing season. As far as important phytopathogenic fungi are concerned there were recorded *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Macrophomina phaseolina*. *S. sclerotiorum* occurred on about 32% of sunflower's plants both on the root and on the stem. The disease indeks of *P. helianthi* was determined using McKinny formula and it was 18.5 which corresponds to poor infection by this pathogen. *M. phaseolina* was recorded during August when temperatures were above 30°C. Health analysis of sunflower seeds showed a very good germination and the presence of *Alternaria* sp.

Plant samples which were infected with *M. phaseolina* were processed in the laboratory in order to prepare them testing the impact of 11 different essential oils (anise, mint, bitter orange, rosemary, cinnamon, cumin, pine, sage, thyme, eugenia and lavender) on the growth of mycelium. After three days thyme, mint, anise, cinnamon and eugenia essential oils showed significant inhibitory properties, while other essential oils compared to the control (water) had a stimulating effect on mycelial growth. After six days only thyme essential oil had inhibitory effects, and after nine days none of the essential oils had inhibitory effects.

Key words: phytopathogenic fungi, essential oils, mycelial growth, inhibition.

## 10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Ocjena zaraze <i>P. helianthi</i> od 0 do 5 .....	26. str.
Tablica 2. Ocjena jačine zaraze prema indeksu bolesti .....	26. str.
Tablica 3. Porast micelija <i>S. sclerotiorum</i> na hranjivoj podlozi nakon dva i četiri dana (mm) .....	30. str.
Tablica 4. Stupnjevi zaraze <i>P. helianthi</i> na suncokretu .....	31. str.
Tablica 5. Zona inhibicije (srednja vrijednost/mm) tri, šest i devet dana nakon inokulacije <i>M. phaseolina</i> .....	32. str.

## 11. POPIS SLIKA

BROJ	NAZIV SLIKE	STR
Slika 1	<i>Septoria</i> sp. na listu suncokreta (originalna fotografija) .....	8
Slika 2	<i>S. helianthi</i> , piknidi s piknosporama ( <a href="http://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5504904">http://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5504904</a> ).....	9
Slika 3	<i>S. sclerotiorum</i> – korijenski tip bolesti (originalna fotografija) .....	10
Slika 4	<i>S. sclerotiorum</i> – truljenje srednjeg dijela stabljike (originalna fotografija) .....	11
Slika 5	<i>S. sclerotiorum</i> – zaraza na glavi (originalna fotografija) .....	11
Slika 6	<i>S. sclerotiorum</i> – zaraza na glavi (originalna fotografija) .....	12
Slika 7	Sklerocije na donjem dijelu stabljike (originalna fotografija) .....	12
Slika 8	Životni ciklus <i>S. sclerotiorum</i> ( <a href="http://info.metos.at/tiki/tiki-index.php?page=White+Leg+Disease+(Sclerotinia+sclerotiorum)">http://info.metos.at/tiki/tiki-index.php?page=White+Leg+Disease+(Sclerotinia+sclerotiorum)</a> ) .....	13
Slika 9	<i>A. helianthi</i> ( <a href="http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6althel.htm">http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6althel.htm</a> ) ....	14
Slika 10	Konidije <i>Alternaria</i> sp. (originalna fotografija) .....	15
Slika 11	<i>B.cinerea</i> na glavi suncokreta ( <a href="http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6botci6.htm">http://www7.inra.fr/hyp3/pathogene/6botci6.htm</a> ) .....	16
Slika 12	Životni ciklus <i>B. cinerea</i> ( <a href="http://www.nicks.com.au/vintage-school/vintage-school-2-12-76.1417">http://www.nicks.com.au/vintage-school/vintage-school-2-12-76.1417</a> ) .....	17
Slika 13	<i>P. helianthi</i> na suncokretu (originalna fotografija) .....	18
Slika 14	<i>P. helianthi</i> (originalna fotografija) .....	18
Slika 15	<i>P. macdonaldi</i> na suncokretu ( <a href="http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Olee/Olee_Leptosphaeria_lindquistii/">http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Olee/Olee_Leptosphaeria_lindquistii/</a> ) .....	20
Slika 16	<i>P. halstedii</i> – sistemična zaraza ( <a href="http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Plasmopara_halstedii/PLASHA_images.htm?utm_source=www.eppo.org&amp;utm_medium=int_redirect">http://www.eppo.int/QUARANTINE/fungi/Plasmopara_halstedii/PLASHA_images.htm?utm_source=www.eppo.org&amp;utm_medium=int_redirect</a> ) .....	21
Slika 17	<i>P. halstedii</i> – lokalna infekcija ( <a href="http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm">http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm</a> ) .....	22

Slika 18	<i>P. halstedii</i> – lokalna infekcija ( <a href="http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm">http://www.ag.ndsu.edu/archive/entomology/ndsucpr/Years/2010/July/1/ppath.htm</a> ) .....	22
Slika 19	<i>Macrophomina phaseolina</i> na suncokretu (originalna fotografija).	23
Slika 20	<i>Macrophomina phaseolina</i> – mikrosklerocije u stabljici (originalna fotografija) .....	24
Slika 21	<i>S. helianthi</i> – konidije (originalna fotografija) .....	28
Slika 22	<i>Alternaria</i> sp. – konidije (originalna fotografija) .....	28
Slika 23	Sclerocije <i>S. sclerotiorum</i> (originalna fotografija) .....	29
Slika 24	Ispitivanje klijavosti sklerocija <i>S. sclerotiorum</i> (originalna fotografija) .....	29
Slika 25	Razvoj micelija i sklerocija <i>S. sclerotiorum</i> na hranjivoj podlozi...	30
Slika 26	Inhibitorski učinak eteričnih ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon tri dana (originalna fotografija) .....	33
Slika 27	Inhibitorski učinak eteričnih ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon tri dana (originalna fotografija) .....	33
Slika 28	Stimulirajući učinak eteričnih ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon tri dana (originalna fotografija) .....	34
Slika 29	Stimulirajući učinak eteričnih ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon tri dana (originalna fotografija) .....	34
Slika 30	Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon šest dana (originalna fotografija) .....	35
Slika 31	Utjecaj eteričnog ulja na porast micelija <i>M. phaseolina</i> nakon devet dana (originalna fotografija) .....	35
Slika 32	Zdravstvena analiza sjemena (originalna fotografija) .....	36
Slika 33	<i>Alternaria</i> sp. (originalna fotografija) .....	36

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Diplomski rad

Bilinogojstvo, Zaštita bilja

Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. na suncokretu

Ivana Posavac

### Sažetak:

U radu je prikazano praćenje bolesti suncokreta na poljoprivrednoj površini veličine 22 ha (lokacija Ivanovac) tijekom jedne vegetacijske godine. Od važnijih fitopatogenih gljiva zabilježena je pojava *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Macrophomina phaseolina*. *S. sclerotiorum* se javila na oko 32% biljaka podjednako zahvaćajući korijen i stabljiku suncokreta. Indeks zaraze s *P. helianthi* prema McKinney-ovom indeksu iznosio je 18,5 što odgovara slaboj zarazi ovim patogenom. *M. phaseolina* zabilježena je tijekom kolovoza kada su temperature bile iznad 30°C. Zdravstvena analiza sjemena suncokreta pokazale je vrlo dobru klijavost i prisutnost *Alternaria* sp. Biljni uzorci zaraženi s *M. phaseolina* obrađeni su u laboratoriju kako bi se pripremili za ispitivanje utjecaja jedanaest različitih eteričnih ulja (anis, menta, gorka naranča, ružmarin, cimet, kim, bor, kadulja, timijan, eugenia, lavanda) na porast micelija. Nakon tri dana eterična ulja timijana, mente, anisa, cimeta i eugenije pokazala su statistički značajna inhibitorna svojstva, dok su ostala eterična ulja u odnosu na kontrolu (voda) imala stimulirajući učinak na rast micelija. Nakon šest dana samo je kod timijana zabilježeno inhibitorno djelovanje, a nakon devet dana niti kod jednog eteričnog ulja nije zabilježeno inhibitorno djelovanje na porast micelija.

Poljoprivredni fakultet Osijek

Mentor: izv. prof. dr. dc. Karolina Vrandečić

Broj stranica: 49

Broj slika: 33

Broj tablica: 5

Broj literaturnih navoda: 41

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: fitopatogene gljive, eterična ulja, rast micelija, inhibicija

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor
3. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

Rad je pohranjen:

Na internetskim stranicama Poljoprivrednog fakulteta Sveučilišta Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku.



## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Agriculture in Osijek  
MS thesis  
Plant production  
Plant protection

Influence of essential oils on *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. growth on sunflower

Ivana Posavac

### Short abstract:

Monitoring of sunflower's diseases was done on the agricultural area (size 22 hectares) throughout the growing season. As far as important phytopathogenic fungi are concerned there were recorded *Septoria helianthi*, *Alternaria* sp., *Phomopsis helianthi*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Macrophomina phaseolina*. *S. sclerotiorum* occurred on about 32% of sunflower's plants both on the root and on the stem. The disease indeks of *P. helianthi* was determined using McKinny formula and it was 18.5 which corresponds to poor infection by this pathogen. *M. phaseolina* was recorded during August when temperatures were above 30°C. Health analysis of sunflower seeds showed a very good germination and the presence of *Alternaria* sp. Plant samples which were infected with *M. phaseolina* were processed in the laboratory in order to prepare them testing the impact of 11 different essential oils (anise, mint, bitter orange, rosemary, cinnamon, cumin, pine, sage, thyme, eugenia and lavender) on the growth of mycelium. After three days thyme, mint, anise, cinnamon and eugenia essential oils showed significant inhibitory properties, while other essential oils compared to the control (water) had a stimulating effect on mycelial growth. After six days only thyme essential oil had inhibitory effects, and after nine days none of these essential oils had inhibitory effects.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek  
Supervisor: prof. Karolina Vrandečić, Ph. D.

Number of pages: 49

Number of pictures: 33

Number of tables: 5

Number of references: 41

Original in: Croatian

Key words: phytopathogenic fungi, essential oils, mycelial growth, inhibition

Date of the thesis defence:

### Reviewers:

1. prof. Jasenka Ćosić, Ph. D.

2. prof. Karolina Vrandečić, Ph. D.

3. prof. Mirjana Brmež, Ph. D.

Thesis deposited:

On the website of the Faculty of Agriculture, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek.