

Morfološke karakteristike i utjecaj različitih podloga na porast *Macrophomina phaseolina*

Mazur, Matea

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:151:453069>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



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

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Matea Mazur, apsolvant

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE I UTJECAJ RAZLIČITIH PODLOGA NA PORAST

MACROPHOMINA PHASEOLINA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Matea Mazur, apsolvant

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE I UTJECAJ RAZLIČITIH PODLOGA NA PORAST

MACROPHOMINA PHASEOLINA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Matea Mazur, apsolvant

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

MORFOLOŠKE KARAKTERISTIKE I UTJECAJ RAZLIČITIH PODLOGA NA PORAST
MACROPHOMINA PHASEOLINA

DIPLOMSKI RAD

1. prof.dr.sc. Jasenka Čosić, predsjednik
2. izv.prof.dr.sc.Karolina Vrandečić, mentor
3. prof.dr.sc. Nada Parađiković, član

Osijek, 2014.



Mojoj obitelji..

Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. <i>Macrophomina phaseolina</i> u Hrvatskoj.....	3
2. Pregled literature.....	4
3. Materijali i metode rada.....	7
4. Rezultati.....	11
5. Rasprava.....	22
6. Zaključak	27
7. Popis literature.....	29
8. Sažetak.....	32
9. Summary.....	33
10. Popis slika.....	34
11. Popis tablica.....	35
Temeljna dokumentacijska kartica.....	36
Basic documentation card.....	37

1. Uvod

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid. uzročnik je suhe ili ugljenaste truleži. Najveće štete čini u suhim i toplim područjima uzgoja. Vrlo je destruktivna u Australiji, Južnoj Americi (Argentina), Južnoj Africi, SAD-u (Kansas, Teksas, Nebraska), Indiji, Španjolskoj i Portugalu. Zemljišni je fakultativni parazit utvrđen na više od 500 kultiviranih i korovnih vrsta biljaka, među kojima su uljana repica, suncokret, kukuruz, šećerna repa, sirak, grah, luk, mrkva, kupus, paprika i krumpir.

Infekcija s *Macrophomina phaseolina* na suncokretu prvi put je utvrđena u Šri Lanci 1927. godine, kasnije u Urugvaju, Australiji, Jugoslavji (1966.), Argentini, Senegalu (1967.), Mađarskoj (1970.), SAD-u (1971.), Indiji (1973.), Francuskoj (1976.), Egiptu (1980.) te Pakistanu (1982.). Na pamuku je utvrđena u južnim dijelovima središnje Azije (zemljama bivšeg SSSR), u nekim područjima Tađikistana i Turkmenistana gdje je vrlo proširena.¹

U Mađarskoj uzrokuje veliku štetu, osobito tijekom sušnih razdoblja, na suncokretu, kukuruzu, leguminozama, paprici i mnogim drugim kulturama (Békési, 1970., Varga i sur. 1997.).

Procjenjuje se da su zbog *Macrophomina phaseolina* urodi soje u SAD-u smanjeni 1,98 miliona tona u 2003. godini, 0,28 tona u 2004. godini i 0,49 tona u 2005. godini. Smanjenje prinosa uzrokovano ugljenastom truleži potpomognuto je sušom (Sloane i sur. 1990.).

Ahmad (1988.) se osvrnuo na istraživanje o različitim vrstama truleži suncokreta u Pakistanu. Utvrdio je šest tipova truleži među kojima izdvaja ugljenastu trulež, trulež glave, trulež stabljike i crnu trulež.

Ugljenasta trulež smatra se najdestruktivnijom bolesti koja uzrokuje smanjenje uroda suncokreta u Pakistanu (Mirza i sur., 1983., Mirza, 1984.).

¹ eBioZone The Growing Biological Sectors in World
<http://ebiozone.com/macrophomina-phaseolina-letting-the-world-know-we-can-final-part/>

Simptome bolesti izazvane s *Macrophomina phaseolinana* soji opisali su Smith i Carvil (1977.). Simptomi ugljenaste truleži pojavljuju se sredinom ljeta tijekom visokih temperatura i niske vlažnosti tla koji uzrokuju stres biljke. Prvotne infekcije se javljaju u fazi presadnica, ali gljiva ostaje latentna do zriobe.

Na području umjerene klime obično napada suncokret poslije cvjetanja biljke, u vrijeme dugih, toplih i suhih razdoblja. Gljiva napada biljke oslabljene nedostatkom vlage, visokom temperaturama ili nepravilnom ishranom. Pretežno ostvaruje infekciju na korijenu, pa cijeli korijen postepeno odumire. Na zaraženom korijenu nastaju promjene u boji, on postaje mrk, zatim crn, potom siv, sa zelenkastim nijansama u unutrašnjem dijelu korijena i stabla (Aćimović, 1998.).

Gljiva se lako izolira i dobro uzgaja na svim prirodnim podlogama, a naročito na standardnoj podlozi PDA. Dhingra i Sinclair (1973 a.) su proučavali devet izolata *Macrophomina phaseolina* izolirana s tri različite regije soje u SAD. Ustanovili su da se izolati jako razlikuju pri uzgoju na hranjivoj podlozi PDA u brzini porasta micelija i zahtjeva u temperaturi.

Aćimović (1962.) je došao do zaključka da ova gljiva na suncokretu u čistoj kulturi redovito stvara sklerocije, a samo neki izolati stvaraju piknide i piknospore. Razvoj micelija i sklerocija kreće se u temperaturnim granicama oko 10°C minimum, optimum 25-30°C i maksimum 35-40°C.

Cilj naših istraživanja je bio utvrditi morfološke karakteristike gljive *Macrophomina phaseolina* te utjecaj različitih podloga i temperatura na njen porast.

1.2. *Macrophomina phaseolina* u Hrvatskoj

Sustavnih istraživanja o zastupljenosti i štetnosti *Macrophomina phaseolina* u Hrvatskoj nema. Posljednjih godina zbog sve učestalije pojave vrućih i sušnih ljeta javlja se sve više. Pojavu ugljenaste truleži u Slavoniji istraživali su Ćosić i sur. (2012.). Utvrđeno je da se bolest u Hrvatskoj u jačem intenzitetu javlja povremeno. U 2012. godini značajna zaraza utvrđena je na suncokretu, soji, mrkvi i peršinu. Godina je bila izrazito vruća i suha, što pogoduje razvoju ove bolesti. Na suncokretu je od 19 ispitivanih hibrida, bolest utvrđena na njih 16, a postotak zaraženih biljaka kretao se između 2,5 i 30%. Na soji je intenzitet zaraze bio nešto slabiji od zaraze na suncokretu, postotak zaraženih biljaka iznosio je 5%. Također, zaraza je utvrđena na mladim biljčicama mrkve i peršina. Na pregledanim površinama bolest je uočena na oko 3% klijanaca.

2. Pregled literature

Taubenhaus je prvi opisao *Macrophomina phaseolina* pod nazivom *Sclerotium bataticola* i dao joj ime *Rhizoctonia bataticola* (Aćimović, 1998. cit. Taubenas, 1913.). Kasnije je Ashby otkrio poveznicu između piknidijskog i sklerocijskog stadija gljive dao joj je ime *Macrophomina phaseoli*. Goidanich (1947.) predlaže naziv *Macrophomina phaseolina* (Aćimović, 1998. cit. Goidanich, 1947.).

U Pakistanu je na listi od 67 ekonomski značajnih domaćina ugljenaste truleži pamuk, riža, kukuruz, tikvenjače, bademi i pšenica (Mirza i sur., 1984.).

Širok raspon domaćina sugerira kako je riječ gljivi koja nije specijalizirana samo za određene vrste. Visoka varijacija u morfologiji, fiziologiji i patogenezi uočena je i nakon izolacije iz različitih dijelova iste biljke (Dhingra i sur., 1973.).

Macrophomina phaseolina preživljava u obliku mikrosklerocija u tlu i ostacima zaraženih biljaka. Mikrosklerocije služe kao primarni izvor inokluma, u tlu preživljavaju i do tri godine. (Dhingra i Sinclair, 1977.). Mikrosklerocije su okruglastog ili duguljastog oblika, nastaju u tkivu domaćina te u tlo dospijevaju nakon odumiranja biljke domaćina. Omogućuju preživljavanje u nepovoljnim uvjetima sredine kao što su tla siromašna hranjivim tvarima ili temperature iznad 30°C. Njihov opstanak znatno je smanjen u vlažnim tlima gdje prežive sedam do osam tjedana, a micelij do osam dana. Gljiva se također može održati na sjemenu gdje se nalazi na sjemenoj ljusci. Zaraženo sjeme ne klija ili proizvedene sadnice odumiru ubrzo nakon nastanka.

Sadashivaiah i sur. (1986.) su utvrdili da sjeme zaraženo s *Macrophomina phaseolina* ima manju energiju klijanja. Najveći broj infekcija zabilježen je u perikarpu, manje u sjemenjači, ali nije otkriven u endospermu i embriju.

Raut (1983.) je ustanovio da sjeme dobiveno od inficiranih biljaka ima manju težinu 30,46% u odnosu na zdrave biljke. Inficirane biljke daju 17% zaraženog sjemena.

U toku vegetacije, naročito za vrijeme toplih i suhih ljetnih mjeseci, kada biljke pate od nedostatka vlage u zemljištu zaraza se masovno obavlja pomoću micelija (Aćimović, 1998.).

Hife se prvo šire intercelularno u stanicama kore, a zatim intracelularno unutar ksilema kolonizirajući provodno tkivo. *Macrophomina phaseolina* se u biljci širi kroz glavni korijen i donji dio stabljike formirajući mikrosklerocije koje začepļuju provodno tkivo (Wyllie i sur., 1988.). Brzina infekcije povećava se s višom temperaturom tla te niskom vlažnosti tla što će dodatno unaprijediti jačinu bolesti.

Kada se parazit proširi dovoljno da pjega prstenasto obuhvati biljke, tada dolazi do prekida kretanja vode i hranjivih tvari, što dovodi do venuća biljaka. Vrlo često ova gljiva uzrokuje venuće zajedno sa gljivama roda *Verticillium*, *Fusarium*, pa i nekim bakterijama (Aćimović, 1998.).

Iz korijena gljiva prelazi u stabljiku i prstenasto opkoli prizemni dio koji potamni, a zatim dobije sivu boju. Kora se odvaja od srži, a srž je prožeta micelijem i brojnim crnim mikrosklerocijama. Bolest najčešće zahvaća do 30 centimetara stabljike, mjereći od površine tla. Gljiva u prirodi rijetko stvara piknide s piknosporama koji, prema dosadašnjim spoznajama, nemaju veći značaj u epidemiologiji².

Vruće, suho vrijeme pospješuje infekciju i razvoj ugljenaste truleži (Wyllie i sur., 1988.). Kod soje ugljenasta trulež čini probleme poslije cvatnje i često se pojavljuje na biljkama koje su pod stresom zbog suše (Dhinga i sur., 1977.). *Macrophomina phaseolina* raste i razvija velike količine mikrosklerocija kod relativno niske vlažnosti (Olaya i sur., 1996.).

Za klijanje sklerocija i obavljanje infekcije na suncokretu prema Krasnokutskaya (1973.) potrebno je prisustvo kisika i da je njegova vlažnost 100%.

Prema Bertero de Romano i sur. (1980.) infekcija suncokreta zavisi od temperature zemljišta i zraka, odnosno od njihove relativne vlažnosti i količine kiše u toku vegetacije suncokreta. Ovi parametri varijabilno višestruko utječu na jačinu pojave bolesti.

Davet i sur. (1986.) navode da uklanjanje cvjetnih pupoljaka, lišća sa biljaka suncokreta, dubina sjetve, slaba klijavost i energija klijanja, veličina zasijanog sjemena, primjena herbicida i suša imaju značajan utjecaj na broj oboljelih biljaka.

² Bolesti ratarskih kultura, Ćosić, J.

<http://www.pfos.hr/~jcosic/BOLESTI%20RATARSKIH%20KULTURA.pdf>

Prema Gul i sur. (1989.) sorte koje su najranije sazrijevale imale su manji napad *Macrophomina phaseolina* od kasnijih sorata.

Aćimović (1965.) je ustanovio da starost sorte i vrijeme sjetve suncokreta imaju utjecaj na smanjenje broja uvelih biljaka.

Gangopadhyay i sur. (1974.) navode da se infekcija korijena obavlja na dubini 15 cm. Vlažnost zemljišta također utječe na infekciju, kao i C:N odnos.

Dhingra i Sinclair (1974.) su ustanovili da se infekcija ne obavlja u zemljištu sa 100% vlažnosti.

Edmunds (1964.) je ustanovio da je infekcija moguća u zemljištu pri vlažnosti od 80%, ali sa smanjenjem vlažnosti infekcija se povećava, kao i broj sklerocija, naročito kada je vlažnost pala na 25%. Broj infekcija je bio manji pri visokom sadržaju C:N (40:80) nego kad je on iznosio 10:20. Smanjenje broja sklerocija može se postići održavanjem zemljišne vlage iznad 60% na 30°C u vremenu od 3-4 tjedna.

Blanco-Lopez i sur. (1983.) su ustanovili u Italiji da je najveći broj oboljelih biljaka bio na nenavodnjavanim površinama. Navodnjavanje u fazi cvatnje i stadiju nalijevanja zrna smanjilo broj oboljelih biljaka i biljke su sporije sazrijevale u odnosu na nenavodnjavane površine.

Aćimović (1962.) smatra da predusjev i mineralna ishrana imaju utjecaj na intenzitet napada. Kao najlošiji predusjev pokazala se lucerna sa najvećim brojem oboljelih biljaka, ali i kod predusjeva - kukuruz i pšenica, broj uvelih biljaka je bio visok.

3. Materijali i metode rada

Ispitivanje je provedeno u laboratoriju Katedre za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. U istraživanju su se koristili izolati *Macrophomina phaseolina* podrijetlom sa suncokreta i mrkve. Uzorci suncokreta prikupljeni su 2013. godine na lokaciji Sopot. Izolat s mrkve je uzet iz kolekcije izolata Katedre za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. Za dobivanje izolata sa suncokreta uzeli smo 10 uzoraka.

Nakon pripreme i označavanja uzoraka (Slika 1), uzorci su stavljeni na ispiranje u tekućoj vodi oko sat vremena (Slika 2).



Slika 1: Priprema i označavanje uzorka (foto: Mazur, M.)



Slika 2: Ispiranje uzoraka (foto: Mazur, M.)

Zatim su uzorci sterilizirani u 70% alkoholu i četiri puta isprani u destiliranoj vodi te su stavljeni između sterilnog filter papira na sušenje (Slika 3).

Slučajnim odabirom za daljnju analizu odabran je uzorak broj tri za suncokret. Dio biljnog tkiva sa suncokreta stavljen je na PDA i držan na temperaturi 25°C. Nakon porasta micelija, gljiva je precijepljena u čistu kulturu koja se koristila u daljnjem radu.

Za istraživanje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* korištene su četiri podloge – rajčica, mrkva, PDA i Čapek, te je mjeren porast na četiri temperature 15°C, 22°C, 25°C i 30°C. U pokusu su korištene Petrijeve zdjelice promjera 9,00 cm.

U sredinu svake Petrijeve zdjelice sterilnom iglom stavljen je izolat u obliku diska promjera 5 mm. Postupak je proveden u komori za rad na čistom (laminarij) (Slike 4 i 5).



Slika 3: Sušenje uzoraka u filter papiru (foto: Mazur, M.)



Slika 4: Priprema za inokulaciju izolata na podloge (foto: Mazur, M.)



Slika 5: Inokulacija izolata unutar laminara (foto: Mazur, M.)

Utjecaj temperatura i podloga na porast micelija *Macrophomina phaseolina* ispitivan je u četiri ponavljanja. Nakon inokulacije, Petrijeve su zdjelice stavljene na inkubaciju u termostatu na temperaturu od 15°C, 22°C, 25°C i 30°C pri svjetlosnom režimu 12h dan/12 h noć.

Prvi pregled i mjerenje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* obavljen je nakon dva dana. Mjerenje porasta micelija izvršeno je pomoću ravnala svakih dva dana do desetog dana od nacjepljivanja. Promjer micelija mjerio se od postavljenog diska do ruba Petrijeve zdjelice u okomitom i vodoravnom smjeru, prilikom obrade podataka koristio se prosjek mjerenja.

Prvo mjerenje izvršeno je drugi dan od nacjepljivanja, treće mjerenje šesti dan, a peto mjerenje deseti dan od nacjepljivanja na podloge.

Deseti dan od stavljanja u termostat izvršen je mjerenje veličine mikrosklerocija pomoću mikroskopa i Olympus DP-Soft računalnog programa. Kod svakog uzorka/ponavljanja izmjereno je petnaest mikrosklerocija u okomitom i vodoravnom smjeru te je izračunat prosjek koji je uzima za daljnju statističku obradu.

Statistička analiza podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) i najmanje signifikantne razlike (LSD) upotrebom programa SAS za Windows-e, te koristeći Microsoft Excel.

4.Rezultati

Prvo mjerenje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* izvršeno je dva dana nakon inokulacije. Porast micelija mjeren je za svaku podlogu u četiri ponavljanja u okomitom i vodoravno smjeru.

U Tablici 1 prikazan je porast micelija izolata sa suncokreta tijekom prvog mjerenja na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C. Iz tablice je vidljivo da je podloga PDA najpogodnija podloga za razvoj micelija izolata sa sunockreta na svim temperaturama prilikom prvog mjerenja.

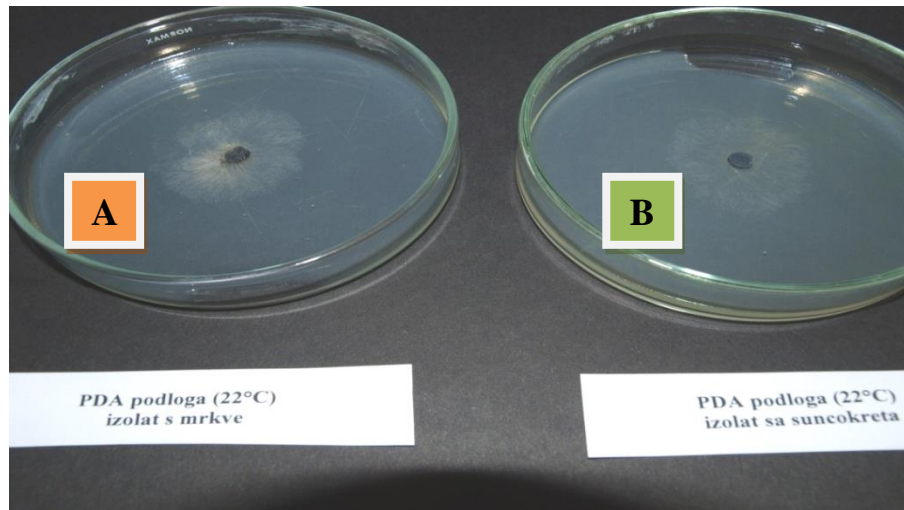
Tablica 1: Porast micelija izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C

15°C			
PDA	Čapek	Mrkva	Rajčica
0,27 A	0,18 A	0,11 A	0,07 A
LSD _{0,05} = 0,37			
22°C			
PDA	Rajčica	Mrkva	Čapek
3,13 A	2,17 B	1,53 B C	1,10 C
LSD _{0,05} = 0,74			
25°C			
PDA	Čapek	Mrkva	Rajčica
1,87 A	0,73 B	0,30 B	0,00 B
LSD _{0,05} = 0,93			
30°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
5,37 A	3,55 A B	3,17 A B	1,55 B
LSD _{0,05} = 2,53			

Tablica 2 pokazuje porast micelija izolata mrkve prilikom prvog mjerenja na temperaturama 22, 25 i 30°C. Na temperaturi od 15°C dva dana nakon inokulacije, odnosno tijekom prvog mjerenja nije bilo porasta micelija.

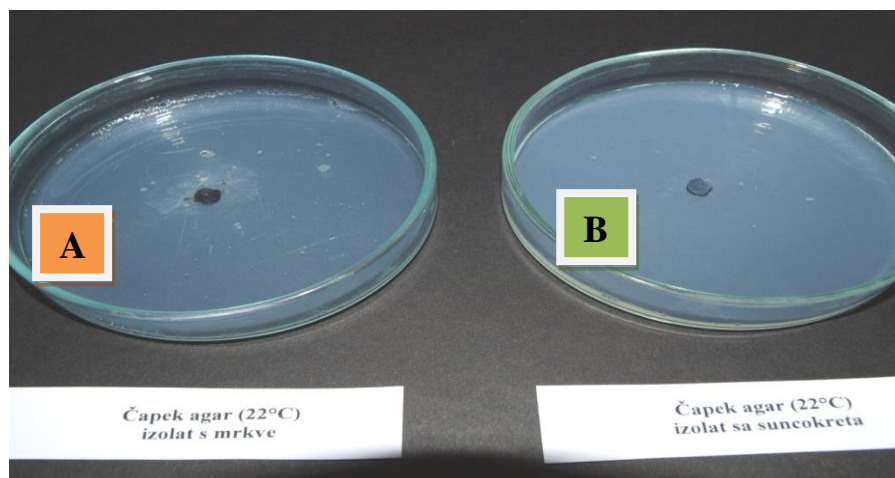
Tablica 2: Porast micelija izolata s mrkve dva dana nakon inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 22, 25 i 30°C

22°C			
Rajčica	PDA	Mrkva	Čapek
3,20 A	3,17 A	1,45 B	1,05 B
LSD _{0,05} = 0,66			
25°C			
PDA	Rajčica	Mrkva	Čapek
4,18 A	3,17 A B	2,00 B	1,97 B
LSD _{0,05} = 1,62			
30°C			
PDA	Rajčica	Mrkva	Čapek
5,97 A	3,67 A B	2,35 B	2,06 B
LSD _{0,05} = 2,82			



Slika 6: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na PDA podlozi pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.)

Slika 6 prikazuje porast micelija dva dana nakon inokulacije na PDA podlozi i temperaturi od 22°C. Na slici je vidljiv izolat s mrkve (A) i izolat sa suncokreta (B). Micelij je kod oba izolata bio tanak i proziran te nije došlo do razvoja mikrosklerocija. Prilikom mjerenja porasta micelija na izolatu sa suncokreta najveći porast bez obzira na temperaturu je utvrđen na PDA podlozi.



Slika 7: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na podlozi Čapek pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.)

Na slici 7 prikazan je porast micelija izolata s mrkve (A) i izolata sa suncokreta (B) na podlozi Čapek pri temperaturi od 22°C. Prilikom mjerenja promjera micelija izolata s mrkve najmanji porast bez obzira na temperaturu je utvrđen na podlozi Čapek, što je vidljivo i u Tablici 2.

Treće mjerenje izvršeno je šesti dan od inokulacije. U Tablici 3 vidljiv je porast micelija izolata sa suncokreta prilikom trećeg mjerenja. Iz tablice je vidljivo da je najveći porast micelija prilikom trećeg mjerenja na temperaturama 15°C, 22°C i 30°C izmjeren na podlozi PDA, dok na temperaturi 30°C kao najpogodnija podloga za razvoj micelija pokazala se podloga od rajčice. Najmanji porast micelija izolata sa suncokreta na temperaturama 15, 22, 25, 30°C prilikom trećeg mjerenja izmjeren je na podlozi mrkva. Na svim podlogama i temperaturama vidljivo je formiranje mikroklerocija.

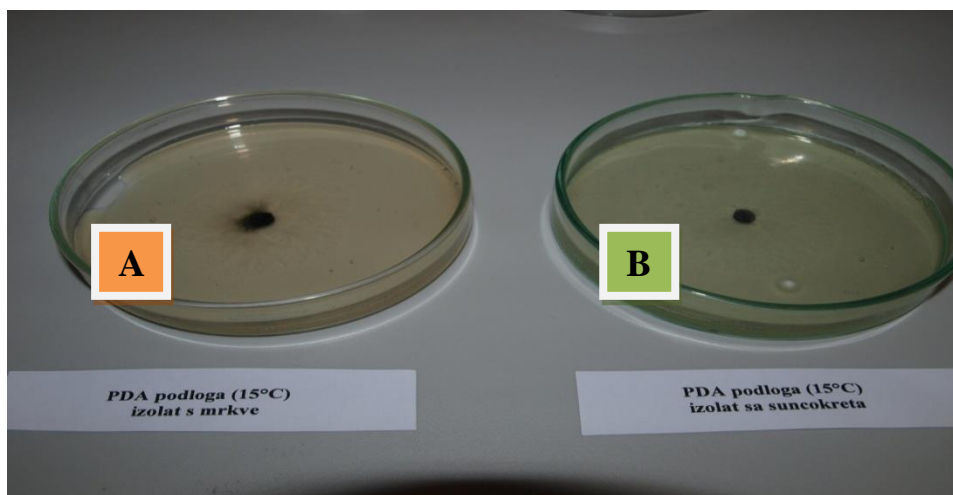
Tablica 3: Porast micelija izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C

15°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
4,72 A	2,03 B	1,02 B	0,77 B
LSD _{0,05} = 1,54			
22°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
8,61 A	6,46 B	5,32 B	4,76 B
LSD _{0,05} = 1,80			
25°C			
Rajčica	PDA	Čapek	Mrkva
9,00 A	6,75 A B	2,25 B C	1,27 C
LSD _{0,05} = 5,12			
30°C			
PDA	Čapek	Rajčica	Mrkva
9,00 A	8,41 A B	6,75 A B	4,72 B
LSD _{0,05} = 4,27			

U Tablici 4 vidljiv je porast micelija izolata s mrkve na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C šesti dan od inokulacije. Iz tablice je vidljivo da prilikom trećeg mjerenja na temperaturi 15°C na podlozi Čapek nije došlo do razvoja micelija. Na temperaturi od 25°C šesti dan od inokulacije na podlozi PDA micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm).

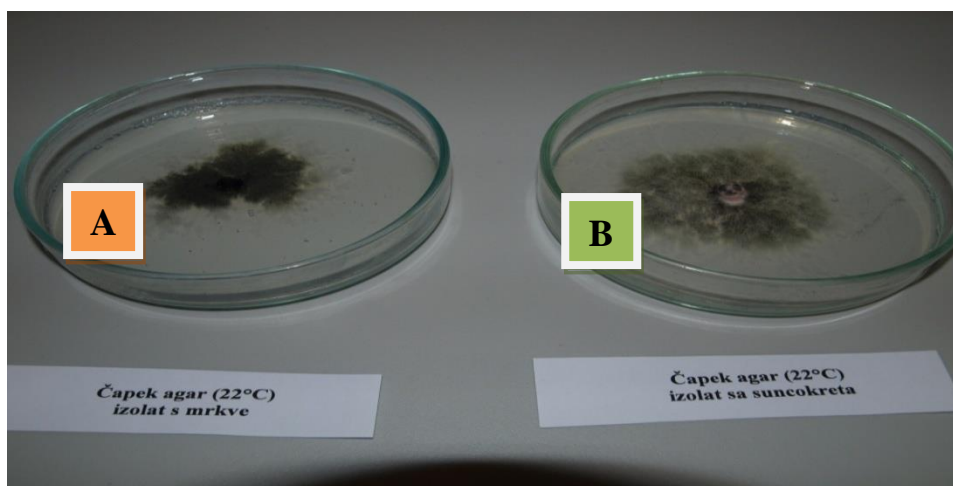
Tablica 4: Porast micelija izolata s mrkve šesti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C

15°C			
Rajčica	PDA	Mrkva	Čapek
3,93 A	3,91 A	0,42 B	0,00 B
LSD _{0,05} = 0,50			
22°C			
Rajčica	PDA	Čapek	Mrkva
8,11 A	7,66 A	4,86 B	3,67 C
LSD _{0,05} = 1,11			
25°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
9,00 A	6,75 A B	5,17 B	4,90 B
LSD _{0,05} = 3,47			
30°C			
PDA	Rajčica	Mrkva	Čapek
8,90 A	6,75 A	6,13 A	4,37 A
LSD _{0,05} = 5,22			



Slika 8: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na PDA podlozi pri temperaturi 15°C (foto: Mazur, M.)

Na slici 8 prikazan je porast micelija izolata s mrkve na PDA podlozi pri temperaturi 15°C (A) i izolata sa suncokreta (B). Pri temperaturi od 15°C šesti dan od inokulacije micelij je tanak i proziran te je na izolatu s mrkve (A) uz rub diska vidljiva pojava mikrosklerocija. Također, na podlozi od rajčice vidljivo je formiranje mikrosklerocija uz rub diska.



Slika 9: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na podlozi Čapek pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.)

Slika 9 prikazuje porast micelija pri temperaturi od 22°C na podlozi Čapek. Na izolatu s mrkve (A) i izolatu sa suncokreta (B) vidljiv je gusti bijeli micelij izdignut s podloge. Također, vidljivo je formiranje mikrosklerocija.

Peto mjerenje izvršeno je deseti dan od inokulacije. U Tablici 5 prikazan je porast micelija izolata sa suncokreta na temperaturama 15, 22, 25 i 30°C. Na temperaturi 15°C kao najpogodnija podloga za porast micelija pokazala se PDA podloga. Prilikom petog mjerenja na temperaturama 22 i 30°C izmjeren je porast micelija do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm). Na temperaturi 25°C kao najpogodnija podloga za razvoj micelija pokazala se podloga od rajčice.

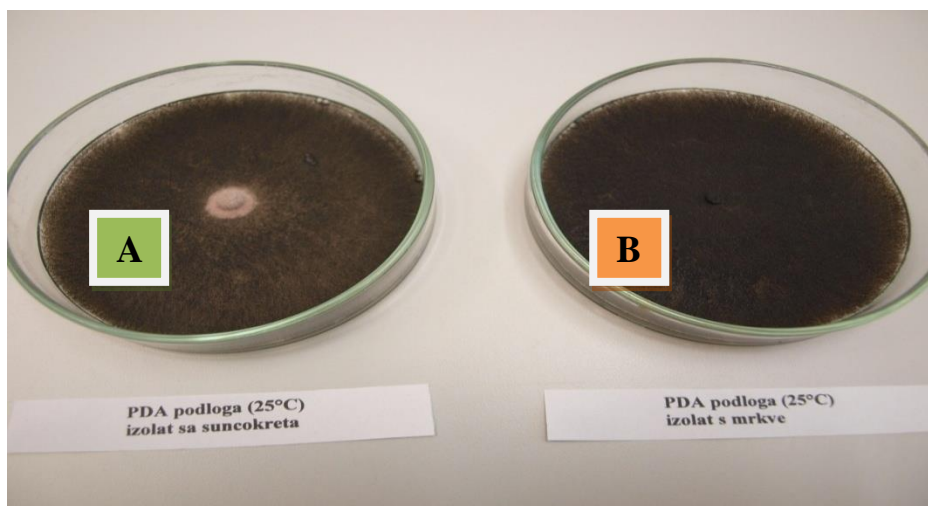
Tablica 5: Porast micelija izolata sa suncokreta deseti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C

15°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
8,13A	3,75 B	2,22 B	1,40 B
LSD _{0,05} = 3,27			
22°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
9,00 A	8,11 A	7,86 A	7,43 A
LSD _{0,05} = 1,87			
25°C			
Rajčica	PDA	Čapek	Mrkva
9,00 A	6,75 A B	2,25 B	1,53 B
LSD _{0,05} = 5,25			
30°C			
PDA	Čapek	Mrkva	Rajčica
9,00 A	9,00 A	6,75 A	6,75 A
LSD _{0,05} = 4,90			

Prilikom petog mjerenja porasta izolata s mrkve na temperaturi od 15°C najpogodnija podloga za porast micelija pokazala se PDA podloga. PDA podloga pokazala se najpogodnija za razvoj micelija i na temperaturama od 22 i 25°C, pri kojima je micelij deseti dan od inokulacije dosegao rub Petrijeve zdjelice (9,00cm). Na temperaturi od 22°C puni razvoj micelija zabilježen je na podlozi od rajčice. Pri temperaturi od 30°C micelij je na podlogama od mrkve i PDA dosegao rub Petrijeve zdjelice.

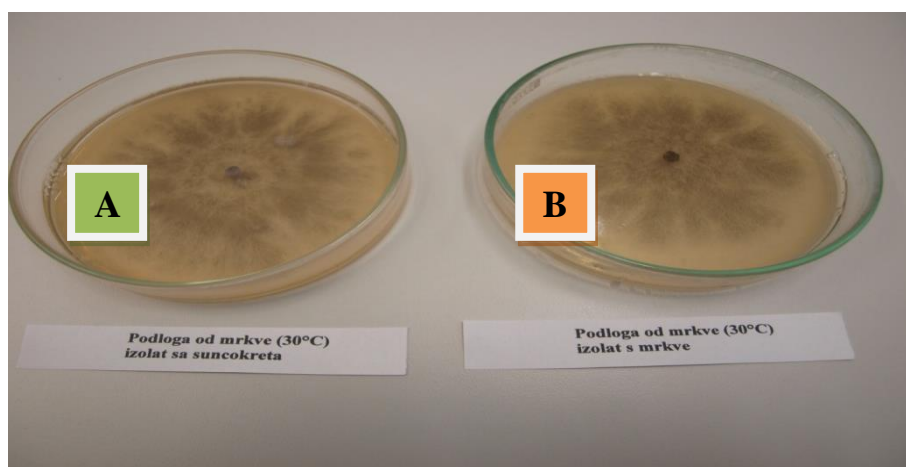
Tablica 6: Porast micelija izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C

15°C			
PDA	Rajčica	Mrkva	Čapek
7,17 A	5,57 B	0,95 C	0,23 C
LSD _{0,05} = 1,02			
22°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
9,00 A	9,00 A	6,70 B	5,78 B
LSD _{0,05} = 1,24			
25°C			
PDA	Rajčica	Čapek	Mrkva
9,00 A	6,75 A B	6,02 A B	5,40 B
LSD _{0,05} = 3,47			
30°C			
Mrkva	PDA	Rajčica	Čapek
9,00 A	9,00 A	6,75 A	4,50 A
LSD _{0,05} = 5,29			



Slika 10: Porast micelija izolata sa suncokreta i izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlozi PDA pri temperaturi 25°C(foto: Mazur, M.)

Na slici 10 prikazana je porast micelija na PDA podlozi pri temperaturi od 25°C izolata sa suncokreta (A) i izolata s mrkve (B). Kod oba izolata na ovo temperaturi vidljiv je gusti micelij koji je deseti dan od inokulacije dosegnuo rub Petrijeve zdjelice. Također, unutar miceliju su se razvile tamne mikrosklerocije.



Slika 11: Porast micelija izolata sa suncokreta i izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlozi od mrkve pri temperaturi 30°C(foto: Mazur, M.)

Pri temperaturi 30°C na podlozi od mrkve izolat sa suncokreta (A) i izolat s mrkve (B) micelij se nije razvio do ruba Petrijeve zdjelice. Micelij je tanak i proziran uz vrlo slabo formiranje mikrosklerocija. Razvoj micelija na podlozi od mrkve pri temperaturi 30°C deseti dan od inokulacije prikazan je na slici 11.

Deseti dan od inokulacije izvršeno je mjerenje veličine mikrosklerocija izolata sa suncokreta i izolata s mrkve. Mjerenje veličine mikrosklerocija izvršeno je za sklerocije koje su rasle na podlogama PDA, rajčica, Čapek i mrkva pri temperaturama od 22, 25 i 30°C. Na 15°C kod izolata s mrkve i izolata sa suncokreta mikrosklerocije su se razvile samo na podlogama PDA i rajčica.

U Tablici 7 prikazane su veličine mikrosklerocija izolata sa suncokreta na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, Čapek, rajčica i mrkva. Na temperaturama 22 i 25°C statistički najveći promjer mikrosklerocija izmjeren je na podlozi Čapek. Na podlozi Čapek razvio se vrlo gust i razgranat micelij s tamnim i krupnim mikrosklerocijama. Najmanji promjer mikrosklerocije kod izolata sa suncokreta izmjerenje na podlozi od mrkve. Na 30°C najveće mikrosklerocije izmjerene su na podlozi PDA.

Tablica 7: Veličina mikrosklerocija izolata sa suncokreta na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, Čapek, rajčica i mrkva

22°C			
Čapek	PDA	Rajčica	Mrkva
109,88 A	93,15 B	88,91 B	63,95 C
LSD _{0,05} = 13,68			
25°C			
Čapek	Rajčica	PDA	Mrkva
114,14 A	83,70 B	62,89 C	59,12 C
LSD _{0,05} = 12,01			
30°C			
PDA	Čapek	Rajčica	Mrkva
120,48 A	94,50 B	64,97 C	53,19 C
LSD _{0,05} = 15,72			

U Tablici 8 prikazana je veličina mikrosklerocija izmjerenih deseti dan od inokulacije izolata s mrkve na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, rajčica, Čapek i mrkva. Na temperaturi od 22°C najveće mikrosklerocije izmjerene su na PDA podlozi, dok na temperaturama 25 i 30°C na podlozi Čapek.

Tablica 8: Veličina mikrosklerocija izolata s mrkve na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, Čapek, rajčica i mrkva

22°C			
PDA	Čapek	Rajčica	Mrkva
104,00 A	102,65 A	89,98 A	68,23 B
LSD _{0,05} = 19,86			
25°C			
Čapek	PDA	Mrkva	Rajčica
101,07 A	90,08 A	69,87 B	68,14 B
LSD _{0,05} = 15,73			
30°C			
Čapek	PDA	Rajčica	Mrkva
99,64 A	87,41 B	56,14 C	27,17 D
LSD _{0,05} = 10,83			

5. Rasprava

Prvo mjerenje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* izvršeno je dva dana nakon inokulacije.

Prilikom pregleda za izolat sa suncokreta uočen je tanak i proziran micelij, bez pojave mikrosklerocija. Drugi dan od inokulacije na temperaturi od 15°C nema statistički značajnih razlika u porastu micelija između podloga. Najveći porast micelija zabilježen je na PDA podlozi (0,27 cm), a najmanji porast na podlozi rajčica (0,07 cm).

Csöndes i sur. (2007.) su utvrdili da se kod dva izolata (jedan podrijetlom sa suncokreta, drugi sa soje) nakon 3 dana na temperaturi od 15°C počeo razvijati micelij. Za izolat sa suncokreta prosječan porast u danu je bio 1 mm, a izolat sa soje 4 mm. Došli su do zaključka da je na temperaturama 10°C i 15°C vrlo slab rast micelija, bez tvorbe mikrosklerocija.

Postoje statistički značajne razlike u porastu micelija između podloga na temperaturi 22°C. Najveći porast micelija zabilježen je na podlozi PDA (3,12 cm) te se značajno razlikuje od porasta micelija na podlogama od rajčice (2,17 cm), mrkve (1,53 cm) i Čapek (1,10 cm). Na podlozi Čapek zabilježen je najmanji porast micelija, no statistički se ne razlikuje od porasta micelija na podlozi od mrkve.

Cesondes i sur. (2012.) su također utvrdili da je temperatura pogodna za rast *Macrophomina phaseolina* kultura 20°C, a istraživane kulture su trećeg dana bile 14 puta veće na toj temperaturi nego na 10 i 15°C.

Na temperaturi 25°C kod izolata sa suncokreta najveći porast micelija prilikom prvog mjerenja bio je na PDA podlozi (1,87 cm) te se porast micelija na PDA podlozi statistički značajno razlikuje od porasta micelija na ostalim podlogama. Između porasta micelija na podlogama Čapek (0,73 cm) i mrkva (0,30 cm) nije bilo značajnih razlika. Prilikom prvog mjerenja na temperaturi 25°C na podlozi od rajčice nije bilo razvijenog micelija.

Utjecaj temperature na razvoj *Macrophomine phaseoline* istraživao je Das (1988.) te je zaključio da je optimalna temperatura na razvoj micelija i mikrosklerocija izolata podrijetlom iz Indije 30°C.

PDA se pokazala kao najpogodnija za porast micelija na 30°C kod izolata sa suncokreta, no statistički se ne razlikuje od porasta micelija na podlogama rajčica i Čapek. Na podlozi mrkva prilikom prvog mjerenja na 30°C izmjeren je najmanji porast micelija.

Dhingra i Sinclair (1973.) su proučavali devet izolata *Macrophomina phaseolina* podrijetlom s tri različite regije soje u SAD. Ustanovili su da se izolati jako razlikuju u brzini porasta micelija pri uzgoju na PDA hranjivoj podlozi i u pogledu zahtjeva za određenom temperaturom. Na temperaturi od 30°C većina je izolata stvarala kolonije micelija priljubljene uz podlogu.

Izolat s mrkve na temperaturi od 15°C drugi dan od inokulacije nije formirao micelij. Na temperaturi od 22°C na svim podlogama utvrđen je tanak proziran micelij. Na podlozi od rajčice izmjeren je najveći porast micelija (3,20 cm) te se statistički ne razlikuje od porasta micelija na PDA podlozi (3,17 cm). Pri temperaturi 25°C tijekom prvog mjerenja micelija, za razliku od izolata sa suncokreta, za izolat s mrkve porast micelija je utvrđen na svim podlogama. Najveći porast micelija izmjeren na PDA podlozi (4,18 cm), te se statistički značajno ne razlikuje od izmjerenog micelija na podlozi rajčica (3,17 cm). Pri temperaturi 30°C kod izolata s mrkve najveći porast micelija izmjeren je na PDA podlozi (5,97 cm), iako se statistički značajno ne razlikuje od porasta micelija na podlozi od rajčice (3,67 cm), dok su značajne razlike utvrđene u odnosu na porast micelija na podlogama od mrkve (2,35cm) i Čapek (2,06 cm).

Treće mjerenje izvršeno je šesti dan od inokulacije. Na temperaturi od 15°C prilikom trećeg mjerenja za izolat sa suncokreta utvrđen je slab rast micelija. Micelij je bio tanak i proziran.

Slične rezultate dobili su Cesöndes i sur. (2012.) gdje je peti dan mjerenja na temperaturi od 15°C utvrđen slab rast micelija.

Kod trećeg mjerenja za izolat sa suncokreta na temperaturi 15°C najveći porast micelija zabilježen je na podlozi PDA (4,72 cm) te se statistički značajno razlikuje od porasta micelija na podlogama od rajčice (2,03 cm), Čapek (1,02 cm) i podlozi od mrkve (0,77 cm).

Na temperaturi 22°C prilikom trećeg mjerenja (izolat sa suncokreta) najveći porast micelija izmjeren je na PDA podlozi (8,61 cm) te se statistički značajno razlikuje od porasta micelija na podlogama rajčica (6,46 cm), Čapek (5,32 cm) i mrkva (4,76 cm). Micelij na PDA podlozi je gust, baršunast te su unutar cijelog micelija razvijene mikrosklerocije. Na podlozi Čapek micelij je debeo i razgranat, izdignut od površine podlogete su vidljive razvijene mikrosklerocije.

U istraživanjima Csöndes i sur. (2007.) utvrđeno je da su svi izolati podrijetlom sa suncokreta peti dan mjerenja na temperaturama 25, 30 i 35°C razvili micelij do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm). Promjer micelija za izolat sa soje iznosio je 4,57 cm.

Prilikom trećeg mjerenja (izolat sa suncokreta) na temperaturi od 25°C micelij na podlozi od rajčice je ispunio je Petrijevu zdjelicu. Porast micelija na podlozi od rajčice značajno se ne razlikuje od promjera micelija na podlozi PDA (6,75 cm), ali se statistički značajno razlikuje od porasta micelija na podlogama Čapek (2,25 cm) i mrkva (1,25 cm). Pri temperaturi 30°C na podlozi PDA micelij je došao do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm). Porast micelija na podlozi PDA statistički se značajno ne razlikuje od porasta micelija na podlogama Čapek (8,14 cm) i rajčica (6,75 cm). Između podloga Čapek, rajčica i mrkva nema statistički značajnih razlika.

Na podlozi od rajčice za izolat s mrkve šesti dan od inokulacije na 15°C izmjeren je najveći porast micelija (3,93 cm) i statistički se značajno ne razlikuje od porasta micelija na PDA podlozi (3,91 cm), ali se značajno se razlikuju od izmjerenog micelija na podlozi od mrkve (0,42 cm). Na podlozi Čapek nije došlo do razvoja micelija. Na podlozi od rajčice i PDA vidljiva je pojava mikrosklerocija uz rub diska. Pri temperaturi 22°C između porasta micelija na podlogama rajčica (8,11 cm) i PDA (7,66 cm) nema statistički značajnih razlika, iako je najveći porast micelija izmjeren na podlozi rajčica. Porast micelija na podlogama od rajčice i PDA statistički se značajno razlikuju od porasta micelija na podlogama Čapek i mrkva. Na temperaturi 25°C prilikom trećeg mjerenja za izolat s mrkve najveći porast micelija izmjeren je na podlozi PDA te je dosegao rub Petrijeve zdjelice (9,00 cm), statistički se značajno ne razlikuje od porasta micelija na podlozi rajčica (6,75 cm). Na temperaturi od 30°C najveći porast micelija izmjeren je na podlozi PDA (8,9 cm). Između porasta micelija na podlogama PDA, rajčica, mrkva i Čapek nema statistički značajnih razlika.

Prilikom petog mjerenja na temperaturi 15°C kod izolata sa suncokreta najveći porast micelija izmjeren je na PDA podlozi (8,13 cm) te se statistički značajno razlikuje od izmjerenog porasta micelija na podlogama rajčica (3,75 cm), Čapek (2,22 cm) i mrkva (1,4 cm). Između podloga rajčica, Čapek i mrkva nisu utvrđene statistički značajne razlike. Na temperaturi od 22°C kao najpogodnija podloga za razvoj micelija pokazala se PDA podloga. Na PDA podlozi pri ovoj temperaturi micelij je dosegao rub Petrijeve zdjelice (9,00 cm), ipak između nje i ostalih ispitivanih podloga nema statistički značajnih razlika. Na temperaturi 25°C najveći porast micelija izmjeren na podlozi od rajčice (9,00 cm). Porast micelija na podlozi rajčica statistički se značajno ne razlikuje od porasta micelija na PDA podlozi (6,75 cm), no značajno se razlikuje od porasta micelija na podlogama Čapek (2,25 cm) i mrkva (1,53 cm). Na temperaturi 30°C prilikom petog mjerenja je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika između podloga PDA, rajčica, Čapek i mrkva.

Utjecaj temperature na razvoj *Macrophomine phaseoline* istraživao je od strane nekoliko autora, ali dosad nisu pronašli zadovoljavajući odgovor o optimalnim epidemiološkim faktorima ovog polifagnog patogena (Cesondes i sur.2012.). No na temelju dosadašnjih istraživanja smatra se da je najpovoljniji temperaturni režim za razvoj izolata između 25 i 35°C (Manici i sur. 1995.).

Za izolat s mrkve na temperaturi 15°C na PDA podlozi izmjeren je najveći porast micelija prilikom petog mjerenja. Izmjereni micelij na podlozi PDA statistički se značajno razlikuje od izmjerenog porasta micelija na ostalim istraživanim podlogama. Na temperaturi od 22°C na podlogama PDA i rajčica izmjeren je najveći porast micelija (9,00 cm). Porast micelija na ovim dvijema podlogama statistički se značajno razlikuje od porasta micelija na podlogama Čapek i mrkva. Na temperaturi 25°C maksimum razvoja micelija izmjeren je na podlozi PDA (9,00 cm), odnosno micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice, on se ne razlikuje statistički od izmjerenog micelija na podlogama rajčica (6,75 cm) i Čapek (6,02 cm). Najmanji porast micelija na temperaturi 25°C izmjeren je na podlozi od mrkve. Na temperaturi 30°C kao najpogodnije podloge za razvoj micelija pokazale podloge mrkva i PDA. Na podlozi Čapek izmjeren je najmanji porast micelija.

Bez obzira na izolat micelij se najbolje razvijao na PDA podlozi, te temperaturi od 30°C.

Deseti dan od inokulacije za izolate sa suncokreta i izolat s mrkve izmjerena je veličina mikrosklerocija ovisno o podlozi i temperaturi.

Na temperaturi 15°C kod oba izolata mikrosklerocije razvile su se samo na podlogama rajčica i PDA. Veće mikrosklerocije na podlogama rajčica i PDA razvile su se kod izolata s mrkve.

Na temperaturi 22°C (izolat sa suncokreta) najveće mikrosklerocije su se razvile na podlozi Čapek (109,88 μm), te se statistički značajno razlikuju od veličine mikrosklerocija na podlogama PDA (93,15 μm), rajčica (88,91 μm) i mrkva (63,95 μm). Na temperaturi 25°C najveći promjer mikrosklerocija izmjeren je na podlozi Čapek (114,14 μm) te se statistički značajno razlikuje od veličine mikrosklerocija na podlogama od rajčice, PDA i mrkve. Najveće mikrosklerocije na temperaturi 30°C izmjerene su na podlozi PDA (120,48 μm), te se statistički značajno razlikuju od porasta mikrosklerocija na ostalim podlogama.

Veličina mikrosklerocija izolata s mrkve također je ovisila o podlozi i temperaturi. Na temperaturi 22°C najveći promjer mikrosklerocija izmjeren je na podlozi PDA (104,00 μm) te se statistički značajno ne razlikuje od izmjerenih veličina mikrosklerocija na podlogama Čapek (102,65 μm) i rajčica (89,98 μm). Najveće mikrosklerocije na temperaturi 25°C izmjerene su na podlozi Čapek (101,07 μm). Veličina mikrosklerocija na podlogama Čapek i PDA statistički se značajno razlikuje od veličine mikrosklerocija na podlogama od mrkve i rajčice. Najveće mikrosklerocije izmjerene su na podlozi Čapek (99,64 μm) pri temperaturi od 30°C, dok je pri istoj temperaturi na podlozi od mrkve izmjeren je najmanji promjer mikrosklerocija.

Bez obzira na izolat najveće mikrosklerocije razvile su se na podlogama Čapek i PDA, a optimalna temperatura je ovisila o podrijetlu izolata.

6. Zaključak

Macrophomina phaseolina uzročnik je suhe ili ugljenaste truleži. Najveće štete čini u suhim i toplim područjima uzgoja.

Cilj naših istraživanja je bio utvrditi morfološke karakteristike gljive *Macrophomina phaseolina* te utjecaj različitih podloga i temperatura na porast *Macrophomina phaseolina*.

U radu je prikazan porast micelija prilikom prvog, trećeg i petog mjerenja, odnosno drugi, šesti i deseti dan od inokulacije na podloge. Deseti dan od inokulacije mjerena je veličina mikrosklerocija.

Prilikom prvog mjerenja porasta micelija (izolata sa suncokreta) na temperaturama 15, 22, 25 i 30°C najveći porast micelija izmjeren je na PDA podlozi te se ona pokazala kao najpogodnija podloga za razvoj micelija. Najveći porast micelija izmjeren je pri temperaturi od 30°C.

Kod izolata s mrkve prilikom prvog mjerenja na 15°C nije došlo do razvoja micelija. Na 22°C najveći porast micelija izmjeren je na podlozi od rajčice, no statistički se značajno ne razlikuje od porasta micelija na PDA podlozi. Temperature 25 i 30°C najpogodnije su za razvoj gljive te pri tim temperaturama prilikom prvog mjerenja (izolat s mrkve) najveći porast micelija izmjeren je na PDA podlozi. Na temperaturama 22, 25 i 30°C najmanji porast micelija izmjeren je na podlozi Čapek.

Prilikom trećeg mjerenja (izolat sa suncokreta) na temperaturama 25 i 30°C micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm). Na temperaturi 25°C najpogodnija podloga za razvoj micelija je podloga od rajčice, dok se na 30°C micelij najbolje razvio na PDA podlozi. Najmanji porast micelija na temperaturama 15, 22, 25 i 30°C prilikom ovog mjerenja izmjeren je na podlozi od mrkve.

Kod izolata s mrkve na temperaturi 25°C micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice prilikom trećeg mjerenja. Maksimum rasta micelij je dosegao na podlozi PDA. Najmanji porast micelija (izolat s mrkve) prilikom trećeg mjerenja izmjeren je na podlogama Čapek i podlozi od mrkve.

Kod izolata sa suncokreta prilikom petog mjerenja micelij je izmjeren do ruba Petrijeve zdjelice na temperaturama 22, 25 i 30°C. Na temperaturama 22 i 30°C micelij se najbolje razvio na podlozi PDA, a na 25°C na podlozi od rajčice.

Prilikom petog mjerenja (izolat s mrkve) maksimum razvoja (9,00 cm) micelij je dosegao na temperaturama 22, 25 i 30°C. Najpogodnija podloga za razvoj na 22 i 25°C je PDA podloga, a na 30°C podloga PDA i mrkva.

Na temperaturi 22 i 25°C najveće mikrosklerocije (izolata sa suncokreta) izmjerene su na podlozi Čapek. Najveći porast mikrosklerocija pri 30°C izmjeren je na podlozi PDA. Na temperaturama 22, 25 i 30°C najmanje mikrosklerocije razvile su se na podlozi mrkva.

Na temperaturi od 22°C najveće mikrosklerocije (izolata s mrkve) izmjerene su na PDA podlozi, dok na temperaturama 25 i 30°C na podlozi Čapek.

Prilikom svih mjerenja bez obzira na izolat najmanji porast micelija utvrđen je na temperaturi 15°C koja na osnovu naših istraživanja ne pogoduje razvoju ove gljive. Najbolji rast micelija utvrđen je na temperaturama 25 i 30°C. Najpogodnija podloga za razvoj micelija na svim temperaturama bez obzira na izolat je podloga PDA. Bez obzira na izolat najveće mikrosklerocije razvile su se na podlogama Čapek i PDA te temperaturama 22 i 25°C.

7. Popis literature

1. Aćimović, M.(1962.):*Sclerotium bataticola* Taub. Kao uzročnik uvelosti suncokreta u Vojvodini. Zaštita bilja 69-70:125-138.
2. Aćimović, M. (1965.):Pojava *Sclerotium bataticola* Taub. Na nekim poljoprivrednim kulturama i morfo-ekološke osobine parazita. Savremena poljoprivreda 1:55-56.
3. Aćimović, M. (1998.): Bolesti suncokreta.Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi sad, Feljton d.o.o.
4. Ahmad, I. (1988.): Occurrence of sunflower rot in Pakistan. PARC- Cargill Joint International conference on sunflower diseases. Lahore, Pakistan.
5. Békési, P.(1970.): Appearance of *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby inHungary and its damages on sunflower. Növényvédelem, 7, 304-307.
6. Bertero de Romano,A., Linares, E., Bisaro, V., Pecorari, C.(1980.): Interrelation between some environmental factors and severity of *Sclerotium bataticola* on sunflower/Interrelacion entre algunos factores ambientales y severidad de *Sclerotium bataticola* Taub.en.girasol,Informe Tecnico INTA 159:7
7. Blanco-Lopez,M.A.,Jimenez-Diaz, R.M. (1983.): Effect of irrigation on susceptibility of sunflower to *Macrophomina phaseoli*. Plant Disease 67(11):1214-1217.
8. Csöndes, I., Kadlicskó, S., Gáborjányi, R.(2007.): Growth of *Macrophomina phaseolina* isolates depend on different temperature. Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protecția Mediului.
9. Cesondes, I., Cseh, A., Taller, J., Poczai, P.(2012.): Genetic diversity and effect of temperatureand pH on the growth of *Macrophomina phaseolina* isolates from sunflower fields inHungary. Mol Biol Rep.;39:3259-69.
10. Ćosić, J., Vrandečić, K., Jurković, D.(2012.):Značajna pojava ugljenaste truleži u Slavoniji u 2012. godini. Zbornik sažetaka 57. Seminara biljne zaštite. Opatija,2013. 26-27
11. Das, N.D.(1988.): Effect of different sources of carbon, nitrogen and temperature on the growth and sclerotial production of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., causing root rot/charcoal rot disease of castor. Indian Journal of Plant Pathology 6(2): 97-98.
12. Davet, P.,Herbach, M., Rabat, M., Piquemal, G.(1986.):Effect of some intrinsic or extrinsic stress factors in sunflower on susceptibility to charcoal ror. Agronomie 6(9):803-810.

13. Dhingra, O.D., Sinclair, J.B. (1977.): An annotated bibliography of *Macrophomina phaseolina*. 1905-1975. Universidade Federal de Vicosa, Minas Gerais, Brazil.
14. Dhingra, O.D., Sinclair, J.B.(1973.): Variations among the isolates of *Macrophomina phaseolina* (*R. bataticola*) from different regions. *Phytopathology*, 2-76: 200-204.
15. Dhingra, O.D., Sinclair, J.B.(1973a.): Variation among isolates of *Macrophomina phaseoli*(*Rhizoctonia bataticola*) from the same soybean plant. *Phytopathology* 62: 1168.
16. Dhingra, O.D., Schineider, R.W., Sinclair, J.B. (1974.): Cellulolytic and pectolytic enzymes associated with virulent and avirulent isolates of *Macrophomina phaseolina* in vitro and in soybean seedlings. *Phytopath. L.* 80: 324-329
17. Edmunds,L.K.(1964.): Combined relation of plant maturity, temperature, and soil moisture to charcoal stalk rot in grain sorghum. *Phytopathology* 54:514-517
18. Gangopadhyay,S., Wylle, T.D., Oswald, T.H.(1974.): Utilization of soybean galactose by *Macrophomina phaseolina* in charcoal rot disease.*Phytopath.Z.*80:60-66
19. Goidanich, G. (1947.): (Review of the genus *Macrophomina* Petrak.) *Ann. Sper. Agr.Rome, N. S.*, 1: 449-461.
20. Gul, Z., Hassan, S., Ahmad, I.(1989.): Pathogenic variations in *Macrophomina phaseolina* and differential response of some important sunflower varieties to charcoal rot resistance. *Sarhad Journal of Agriculture* 5(6): 659-663
21. Krasnokutskaja, O.H., (1973.):Obsenosti rosta i razvitija vozbuditela pepeljnoj gnjili podslonečnika. *Buleten naučna tehničkoj informaciji po masličnim kulturam*1:41-43
22. Manici, L.M., Caputo, F., Cerato, C.(1995.): Temperature responses of isolates of *Macrophominaphaseolina* from different climatic regions of sunflower production in Italy. *Plant Dis.*;79:834-38.
23. Mirza, M.S., Beg, A.(1983.): Diseases of Sunflower in Pakistan in 1982. *Helia.* 6:55-56.
24. Mirza, M.S.(1984.): Occurrence of sunflower diseases in Pakistan in 1980-83. In: *Proceedings of the National Sunflower Workshop, PARC*, P. 31-32.
25. Norton D.C., (1953.): Linear growth of *Sclerotium bataticola* through soil. *Phytopathology* 43: 633-636.
26. Olaya, G.,Abawi, G.S. (1996.): Effect of water potential on mycelial growth and on production and germination of sclerotia of *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease* 80:1347-1350.

27. Raut, J.G., Bhombe, B.B. (1983.): Efficacy of some fungicides and hot water in the control of seed-borne infection of *Macrophomina phaseolina* in sunflower. *Indian Phytopathology* 36(2):294-296
28. Sadashivaiah, A. S., Ranganathaiah, K.G., Nanje G.D.(1986.): Seed health testing of *Helianthus annuus* with special reference to *Macrophomina phaseolina*. *Indian Phytopathol.* 39:445-446.
29. Sloane, R.J., Patterson, R.P., Carter, T.E. (1990.): Field drought tolerance of a soybean plant introduction. *Crop Sci.* 30:118-123.
30. Smith, G.S., Carvil, O.N.(1977.): Field screening of Commercial and Experimental Soybean Cultivars for their Reaction to *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease* (81). pp. 363-368. The American phytopathological society. St. Paul.
31. Varga, P., Kadlicskó, S., Simay, E. I.(1997.): The charcoal rot and withering of soybean caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. with especial regard to sunflower (I). *Növényvédelem*, 4: 205-208.
32. Wyllie, T.D.(1988.): Charcoal rot of soybean-current status. In *Soybean diseases of the north central region*. T. D. Wyllie and D. H. Scott, eds. APS Press, St. Paul, MN.

Internet stranice:

eBioZone The Growing Biological Sectors in World
<http://ebiozone.com/macrophomina-phaseolina-letting-the-world-know-we-can-final-part/>

Bolesti ratarskih kultura, Ćosić, J.

<http://www.pfos.hr/~jcosic/BOLESTI%20RATARSKIH%20KULTURA.pdf>

8. Sažetak

Macrophomina phaseolina uzročnik je suhe ili ugljenaste truleži. U istraživanju su se koristili izolati *Macrophomina phaseolina* podrijetlom sa suncokreta i mrkve. Za istraživanje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* korištene su četiri podloge; podloge od rajčice, mrkve, PDA i Čapek, a porast se pratio na četiri temperature 15, 22, 25 i 30°C. Za porast micelija *Macrophomina phaseolina* najpogodnije temperature su 25 i 30°C. Na tim temperaturama (kod oba izolata) micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm) prilikom trećeg i petog mjerenja, odnosno šesti i deseti dan od inokulacije. Na temperaturi 15°C micelij se vrlo slabo razvijao, te ova temperatura nije pogodna za razvoj. Najbolja podloga za razvoj micelija bez obzira na izolat na svim temperaturama je PDA podloga. Na 15°C kod izolata sa mrkve i izolata sa suncokreta mikrosklerocije su se razvile samo na podlogama PDA i podlozi od rajčice. Na temperaturama 22, 25 i 30°C najveće mikrosklerocije (bez obzira na izolat) izmjerene su na podlogama PDA i Čapek.

Ključne riječi: *Macrophomina phaseolina*, temperatura, podloga, micelij, mikrosklerocije

9. Summary

Macrophomina phaseolina is a pathogen that causes dry or charcoal rot. The used isolates were originated from sunflowers and carrots. Four growth media, tomatoes, carrots, PDA and Czapek and four temperatures, 15°C, 22°C, 25°C and 30°C was used to study mycelia growth of *Macrophomina phaseolina*. The best temperatures for growth of the isolates were 25°C and 30°C. At these temperatures, both isolates mycelium has grown to the edge of the Petri dish (9,00 cm) in the third and fifth measurements, respectively sixth and tenth day of inoculation. At temperature of 15°C mycelium had poor development, thus 15°C is not suitable for development. The best medium regardless of isolates, for mycelium growth at all tested temperatures is PDA medium. At 15°C, isolates from carrots and sunflowers developed microsclerotia only on PDA and tomato medium. At temperatures of 22, 25 and 30° C the largest microsclerotia (regardless of isolates) were measured on PDA and Czapek medium.

Key words: *Macrophomina phaseolina*, temperature, substrate (medium), mycelium, microsclerotia

10. Popis slika

Slika 1: Priprema i označavanje uzorka (foto: Mazur, M.) (str. 7.)

Slika 2: Ispiranje uzorka (foto: Mazur, M.) (str. 7.)

Slika 3: Sušenje uzoraka u filter papiru (foto: Mazur, M.) (str. 8.)

Slika 4: Priprema za inokulaciju izolata na podloge (foto: Mazur, M.) (str. 9.)

Slika 5: Inokulacija izolata unutar laminara (foto: Mazur, M.) (str. 9.)

Slika 6: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na PDA podlozi pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.) (str. 13.)

Slika 7: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na podlozi Čapek pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.) (str. 13.)

Slika 8: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na PDA podlozi pri temperaturi 15°C (foto: Mazur, M.) (str. 16.)

Slika 9: Porast micelija izolata s mrkve i izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na podlozi Čapek pri temperaturi 22°C (foto: Mazur, M.) (str. 16.)

Slika 10: Porast micelija izolata sa suncokreta i izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlozi PDA pri temperaturi 25°C (foto: Mazur, M.) (str. 19.)

Slika 11: Porast micelija izolata sa suncokreta i izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlozi od mrkve pri temperaturi 30°C (foto: Mazur, M.) (str. 19.)

11. Popis tablica

Tablica 1: Porast micelija izolata sa suncokreta dva dana nakon inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C (str. 11.)

Tablica 2: Porast micelija izolata s mrkve dva dana nakon inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 22, 25 i 30°C (str. 12.)

Tablica 3: Porast micelija izolata sa suncokreta šesti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C (str. 14.)

Tablica 4: Porast micelija izolata s mrkve šesti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C (str. 15.)

Tablica 5: Porast micelija izolata sa suncokreta deseti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C (str. 17.)

Tablica 6: Porast micelija izolata s mrkve deseti dan od inokulacije na podlogama PDA, Čapek, mrkva i rajčica pri temperaturama 15, 22, 25 i 30°C (str. 18.)

Tablica 7: Veličina mikrosklerocija izolata sa suncokreta na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, Čapek, rajčica i mrkva (str. 20.)

Tablica 8: Veličina mikrosklerocija izolata s mrkve na temperaturama 22, 25 i 30°C te podlogama PDA, Čapek, rajčica i mrkva (str. 21.)

Morfološke karakteristike i utjecaj različitih podloga na porast *Macrophomina phaseolina*
Matea Mazur

Sažetak

Macrophomina phaseolina uzročnik je suhe ili ugljenaste truleži. U istraživanju su se koristili izolati *Macrophomina phaseolina* podrijetlom sa suncokreta i mrkve. Za istraživanje porasta micelija *Macrophomina phaseolina* korištene su četiri podloge; podloge od rajčice, mrkve, PDA i Čapek, a porast se pratio na četiri temperature 15, 22, 25 i 30°C. Za porast micelija *Macrophomina phaseolina* najpogodnije temperature su 25 i 30°C. Na tim temperaturama (kod oba izolata) micelij se razvio do ruba Petrijeve zdjelice (9,00 cm) prilikom trećeg i petog mjerenja, odnosno šesti i deseti dan od inokulacije. Na temperaturi 15°C micelij se vrlo slabo razvijao, te ova temperatura nije pogodna za razvoj. Najbolja podloga za razvoj micelija bez obzira na izolat na svim temperaturama je PDA podloga. Na 15°C kod izolata sa mrkve i izolata sa suncokreta mikrosklerocije su se razvile samo na podlogama PDA i podlozi od rajčice. Na temperaturama 22, 25 i 30°C najveće mikrosklerocije (bez obzira na izolat) izmjerene su na podlogama PDA i Čapek.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

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

Broj stranica: 35

Broj grafikona i slika: 11

Broj tablica: 8

Broj literaturnih navoda: 32

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Macrophomina phaseolina*, temperatura, podloga, micelij, mikrosklerocije

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. Nada Parađiković, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies, Plant production, major Plant Protection

Graduate thesis

Morphological characteristics and the influence of different substrates on the growth

Macrophomina phaseolina

Matea Mazur

Abstract:

Macrophomina phaseolina is a pathogen that causes dry or charcoal rot. The used isolates were originated from sunflowers and carrots. Four growth media, tomatoes, carrots, PDA and Czapek and four temperatures, 15°C, 22°C, 25°C and 30 °C was used to study mycelia growth of *Macrophomina phaseolina*. The best temperatures for growth of the isolates were 25°C and 30°C. At these temperatures, both isolates mycelium has grown to the edge of the Petri dish (9,00 cm) in the third and fifth measurements, respectively sixth and tenth day of inoculation. At temperature of 15°C mycelium had poor development, thus 15°C is not suitable for development. The best medium regardless of isolates, for mycelium growth at all tested temperatures is PDA medium. At 15°C, isolates from carrots and sunflowers developed microsclerotia only on PDA and tomato medium. At temperatures of 22, 25 and 30° C the largest microsclerotia (regardless of isolates) were measured on PDA and Czapek medium.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture on Osijek

Mentor: DSc Karolina Vrandečić, Associate Professor

Number of pages: 35

Number of figures: 11

Number of tables: 8

Number of references: 32

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Key words: *Macrophomina phaseolina*, temperature, substrate (medium), mycelium, microsclerotia

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. DSc Jasenka Ćosić, Full Professor, chair
2. DSc Karolina Vrandečić, Associate Professor, mentor
3. DSc Nada Parađiković, Full Professor, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d