Utjecaj hranjive podloge i temperature na vrste roda Fusarium

Mujkanović, Tatjana

Master's thesis / Diplomski rad

2015

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:364873

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

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

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

1. Uvod

Gljive roda *Fusarium* pripadaju razredu *Hyphomycetes*, redu *Hyphales*. Rod *Fusarium* sadrži veliki broj vrsta od kojih su neke vrste saprofitske, a neke vrste su fakultativni paraziti te napadaju velik broj korovnih i kultiviranih biljnih vrsta i stoga se s razlogom ubrajaju u ekonomski najznačajnije gljive (Ćosić i sur., 2006.). Jedan od razloga zašto je rod *Fusarium* toliko rasprostranjen u svim područjima svijeta je velika sposobnost prilagođavanju različitim agroklimatskim uvjetima i okolišu (Ćosić i sur., 2004.).

Osim što nanosi štete biljkama u vidu smanjenja prinosa, gljiva također nanosi štete na taj način da proizvodi mikotoksine koji djeluju toksično na organizam ljudi i životinja te je to još jedan razlog zašto se gljive iz ovoga roda smatraju izrazito štetnim.

U fitopatologiji za istraživanje uzgoja gljive koriste se različite hranjive podloge koje se razlikuju po kemijskom sastavu. Razvoj gljive i njezinih reproduktivnih organa na podlozi ovisi o vrsti gljive, ali i o ekološkim čimbenicima kao što su temperatura, vlaga i svjetlost (Svitlica i sur., 2011.). Za većinu *Fusarium* vrsta najpogodnija je PDA podloga, no ipak postoje vrste kojima pogoduju hranjive podloge siromašne ugljikohidratima kao što je podloga od lišća karanfila koja ima prednost po tome što potiče sporulaciju gljive u odnosu na razvoj micelija (Nelson i sur., 1997.). Osim toga na podlogama koje su siromašne hranjivima spore su značajno uniformnije po svom obliku i veličini.

Cilj rada bio je pratiti porast gljiva iz roda *Fusarium* na tri različite vrste hranjivih podloga (Čapek, PDA i podloga od rajčice) na temperaturama 15°C i 22°C te utvrditi utjecaj tih čimbenika na razvoj 12 *Fusarum* vrsta.

2. Pregled literature

Kod najznačajnijih ratarskih vrsta razlikujemo nekoliko tipova bolesti uzrokovane napadom gljiva iz roda *Fusarium* ovisno o dijelu biljke koji je napadnut te vremenu infekcije. Kod kukuruza su to palež klijanaca, trulež korijena, stabljike i klipa, a kod pšenice i ostalih strnih žita palež klijanaca, trulež korijena i donjeg dijela vlati i palež klasova. Izvor zaraze mogu biti biljni ostaci u tlu, zaraženo sjeme i alternativni domaćini. Plodored u kojem se izmjenjuju pšenica i kukuruz višestruko pospješuje pojavu bolesti. Vrlo bitna mjera u suzbijanju je zaoravanje žetvenih ostataka gdje se količina inokuluma kao izvor zaraze reducira te se na taj način smanjuje mogućnost pojave bolesti koje uzrokuju ove gljive (Ćosić i sur., 2004.).

Porast i sporulacija izolata *F. graminearum, F. verticillioides* i *F. subglutinans* proučavani su tijekom 15 dana na sedam hranjivih podloga različite kiselosti i dva svjetlosna režima. Uzgoj istog izolata na različitim podlogama može rezultirati potpuno drugačijim izgledom micelija, jačinom sporulacije te oblikom i veličinom konidija. Svi izolati formirali su najbujniji micelij i imali su najbrži porast na PDA podlozi i u tami. Najslabija sporulacija utvrđena je za *F. graminearum* bez obzira na podlogu, dok su *F. verticillioides* i *F. subglutinans* dobro sporulirali na svim podlogama. Statistički značajno sporiji porast micelija svih vrsta utvrđen je kod pH 4,5 (Svitlica i sur., 2011.).

Pokus koji je proveden kako bi se utvrdio utjecaj temperature na patogenost *Fusarium* vrsta i *Microdochium nivale* izoliranim u laboratorijskim uvjetima potvrdio je kako je patogenost testiranih vrsta u skladu s rezultatima dobivenim od drugih autora koji su ispitivali isto (Gerlach i Nirenberg, 1982., Brennan i sur., 2003.).

Razvoj *F. culmorum, F. graminearum, F. poae i F. avenaceum* je bolji na 25°C u odnosu na razvoj gljive na 15°C. Općenito, *M. nivale* i *F. culmorum* poznati su kao vrste koje imaju mogućnost da se razvijaju u velikom rasponu temperatura (Hudec i Muchova, 2010.).

Slične rezultate navode i Pettit i sur. (1996.) te Brennan i sur. (2003.) koji su utvrdili da je optimalna temperatura za *F. culmorum, F. graminearum i F. avenaceum* između 20°C i 25°C, a razvoj *M. nivale* značajno je bolji pri temperaturama nižim od 20°C.

Najbolja hranjiva podloga i svjetlosni režim za razvoj i sporulaciju *F. chlamydosporum* je krumpir saharoza agar i krumpir dekstroza agar pri stalnom svjetlu (Lazarotto i sur., 2013.). Isti autori navode da je hranjiva podloga od lista karanfila također vrlo pogodna za sporulaciju ove vrste pod istim svjetlosnim režimom. Kontinuirana noć nije bila odgovarajuća za razvoj micelija i sporulaciju *Fusarium chlamydosporum*. Autori također navode da se vodeni agar ne preporučuje kada je u pitanju masovna proizvodnja makrokonidija.

Napad bolesti koje uzrokuju *Fusarium* vrste utječe na prinos na kojem se javljaju značajne štete te urod može biti smanjen za više od 50%, a iznimno i do 85%. Smanjenje uroda je direktna šteta koju uzrokuju ove gljive, ali i indirektne štete su iznimno značajne, a očituju se u produkciji mikotoksina te smanjenju klijavosti i energije klijanja. Mikotoksini su otrovni za toplokrvne životinje i ljude. U 2002. godini u Hrvatskoj bio je veliki problem u sjemenskoj i merkantilnoj proizvodnji zbog izuzetno jakog napada *Fusarium* spp. na klasu (Korić, 2003.). Istraživanja su pokazala da se tu radilo o dvije vrste i to *Fusarium graminearum*i i *Fusarium* (*Microdochium*) *nivale*. Obje vrste produciraju opasne mikotoksine. U sjemenskoj proizvodnji 13,14% površina je odbijeno jer je bilo više od 15% zaraženih klasova. Isti autor navodi da je posebno jaka zaraza bila na površinama zasijanim kukuruzom.

Fusarium vrste formiraju tri vrste spora: makrokonidije, mikrokonidije i hlamidospore, a neke gljive i sve tri vrste spora odjednom. Mikrokonidije su jednostanične, ovalne, nastaju na monofijalidama u lažnim glavicama. Makrokonidije su višestanične, blago srpastog oblika s bazalnom stanicom u obliku stopice, nastaju na monofijalidama u sporodohijama krem boje. (Nelson i sur., 1994.).

Iako rijetko, neke vrste (*Fusarium oxysporum*) mogu stvarati sklerocije. Tijekom istraživanja *Fusarium oxysporum* f. sp. *gerberae* u nasadu gerbera u Magadenovcu, prisutnost sklerocija nije utvrđena. S druge strane, produkcija mikrokonidija i makrokonidija je bila obilna (Parađiković i sur., 2000.).

Sever i sur. (2012.) su istraživali Fusarium vrste na jabukama te su sakupili 32 izolata sa zaraženih plodova jabuke kultivara Golden Delicious, Jonagold, Idared i Pink Lady u skladištima u ULO („Ultra Low Oxygen“) uvjetima. Napad *Fusarium* vrsta je utvrđen na 9,4 do 33,2 % plodova zahvaćenih različitim skladišnim bolestima. Simptomi su se javljali u obliku smeđe, mekane nekroze koja se postepeno širila, uz pojavu ili bez pojave sporulacije na površini ploda. Vrste su identificirane na temelju morfoloških karakteristika na PDA i KLA hranjivim podlogama. Ukupno je 21 izolat determiniran kao vrsta *Fusarium avenaceum*. Vrste *F. pseudograminearum, F. semitectum, F. crookwellense* i *F. compactum* identificirane su na temelju morfologije. Istraživanjem je utvrđeno da je *F. Avenaceum,* vrsta koja je potencijalni producent nekoliko mikotoksina, dominantan uzročnik truleži ploda jabuke nakon skladištenja. Visok postotak zaraze truleži koju uzrokuju *Fusarium* vrste može imati za posljedicu i kontaminaciju sokova jabuke i ostalih proizvoda mikotoksinima te time značajno ugroziti zdravlje ljudi.

Vrsti *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* kao uzročniku venuća rajčice pogoduju toplo vrijeme i kisela i pjeskovita tla. Virulentnost patogena se pojačava primjenom mikrohranjiva, fosfora i amonijaka. Patogen se u tlu održava u obliku konzervacijskih spora - hlamidospora na biljnim ostacima. Pri povoljnim uvjetima hlamidospore prokliju dajući hife, konidije ili nove hlamidospore. Hifa se probija kroz epidermu te prodire u ksilem i u njemu se razvija. Na bolesnim dijelovima biljke micelij stvara konidiofore s makrokonidijama i mikrokonidijama kojima se bolest širi s biljke na biljku (Nastić, 2014.).

Temperatura, vlaga, intenzitet svjetla i vjetar su vrlo bitni čimbenici koji utječu na produkciju i širenje spora. Prema Sutton (1982.). *F. graminearum* bolje sporulira u toplim vremenskim uvjetima za razliku od hladnijih uvjeta kada je produkcija manja.

Optimalna temperatura za zarazu klasova ovom gljivom je 25^{o}C te visoka relativna vlaga zraka tijekom cvatnje. Primarnu zarazu vrše askospore iz peritecija koji prezime na biljnim ostatcima. Ova vrsta nanosi direktne štete koje se manifestiraju smanjenjem prinosa te indirektne štete koje nanose mikotoksini koje producira fitopatogen (Doohan i sur., 2003.).

Gljive iz roda *Fusarium* mogu biti saprofiti, odnosno sekundarni kolonizatori mrtvoga biljnog tkiva ili endofiti. Ono što je za nas puno značajnije je to što veliki broj *Fusarium* vrsta parazitira na biljkama i uzrokuju manje ili više važne biljne bolesti. Do početka ovoga stoljeća determinacija *Fusarium* vrsta temeljila se isključivo na morfološkim karakteristikama (Booth, 1971.). Kako bi se standardizirao postupak determinacije navedenih gljiva za neke vrste, odnosno njihove formae specialis, kao što su *F. oxysporum* i *F. solani*, potrebno je provesti testove patogenosti (Miličević i sur., 2013.).

Prema višegodišnjim istraživanjima Ćosić i sur. (2004.) te Ćosić i Vrandečić (2003.), najčešća vrsta na zrnu pšenice u Hrvatskoj je *F. graminearum*, nakon koje slijede *F. verticillioides* i *F. avenaceum*. Ostale *Fusarium* vrste na zrnu pšenice u Hrvatskoj zastupljene su u manjem postotku.

U istraživanju koji su proveli Ivić i sur. (2009.) proučavan je utjecaj 37 izolata gljiva roda *Fusarium* na klijanje pšenice nakon inkubacije od sedam dana kako bi se utvrdio broj neproklijalih zrna te prosječna duljina koleoptile. Najveći postotak neproklijalih zrna (85%) utvrđen je za izolat *F. avenaceum*, a najmanji do 3% za izolat *F. oxysporum* dok je za kontrolni izolat *R. stolonifer* iznosio 7%. Značajno veći broj neproklijalih zrna pšenice u odnosu na *R. stolonifer* utvrđen je za 17 izolata, koji su pripadali vrstama *F. avenaceum, F. graminearum i F. crookwellense*. Značajno smanjenje duljine koleoptile pšenice također su uzrokovali samo izolati vrsta *F. avenaceum, F. graminearum* i *F. crookwellense*. Vrste koje nisu dovele do značajno većeg smanjenja klijavosti zrna nisu uzrokovale niti značajno smanjenje prosječne duljine koleoptile u odnosu na saprofitsku vrstu *R. stolonifer*.

Ledenčan i sur. (2000.) su tijekom dvije godine proučavali koje su vrste iz roda *Fusarium* najučestaliji uzročnici truleži stabljike kukuruza. Iz stabljike kukuruza izolirali su osam *Fusarium* vrsta. U 1999. godini najučestalije su vrste *F. subglutinans, F. graminearum i F. verticillioides* s podjednakom zastupljenošću kako po istraživanim lokacijama tako i u ukupnom broju izolata (od 24 do 29%). U 2000. godini najzastupljenije vrste su ponovno *F. verticillioides* (42%) i *F. subglutinans* (37%), ali je zastupljenost *F. graminearum* dosta mala na svim lokacijama i ukupno iznosi 6,7%. Najveću patogenost imala je vrsta *F. graminearum,* a zatim slijede *F. culmorum, F. subglutinans* i *F. verticillioides*.

Tijekom četverogodišnjeg (1996-1999.) istraživanja ispitivala se taksonomija izoliranih vrsta s kultiviranog bilja (pšenica, ječam, kukuruz i soja) i korovnog bilja te patogenost *Fusarium* vrsta za pšenicu. Provedena istraživanja polazala su da nema značajnih razlika u patogensoti izolata istih *Fusarium* vrsta podrijetlom s kultiviranog i korovih vrsta (Ćosić, 2002.).

3. Materijali i metode

Istraživanje je provedeno u laboratoriju Katedre za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. Za proučavanje porasta gljiva korištene su tri vrste hranjivih podloga: Čapek, PDA i podloga od rajčice (modificirana V-8 podloga). Pripremanje hranjivih podloga u laboratoriju prikazano je na slikama 1 i 2. Proučavanje razvoja gljiva na hranjivim podlogama provedeno je na temperaturi 15ºC i 22ºC u termostat komori pri svjetlosnom režimu 12 h dan/ 12 h noć. U laboratorijskim uvjetima izolirano je 12 vrsta gljiva: *Fusarium acuminatum, Fusarium venenatum, Fusarium semisectum, Fusarium proliferatum, Fusarium solani, Fusarium equiseti, Fusarium oxysporum, Fusarium graminearum, Fusarium verticillioides, Fusarium avenaceum, Fusarium sporotrichioides* i *Fusarium subglutinans*. Od svake vrste u sredinu Petrijeve zdjelice promjera 9 cm stavljen je izolat u obliku diska promjera 5 mm pri sterilnim uvjetima u komori za rad u čistom. Razvoj gljive na hranjivim podlogama ispitivan je u dva ponavljanja.

Prvo mjerenje razvoja gljive obavljeno je nakon četiri dana od inokulacije izolata. Ravnalom se mjerio porast micelija (Slika 3) te su se prikupljali i bilježili podatci tijekom deset dana. Nakon 10 dana obavljeno je posljednje mjerenje, a svi prikupljeni podatci statistički su obrađeni (LSD test).



Slika 1. Pripravci za pripremu hranjivih podloga (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 2. Pripremanje hranjive podloge u laboratoriju (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 3. Mjerenje micelija ravnalom (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

4. Rezultati

4. 1. Utjecaj PDA podloge na razvoj micelija Fusarium vrsta na 15^{o}C i 22^{o}C

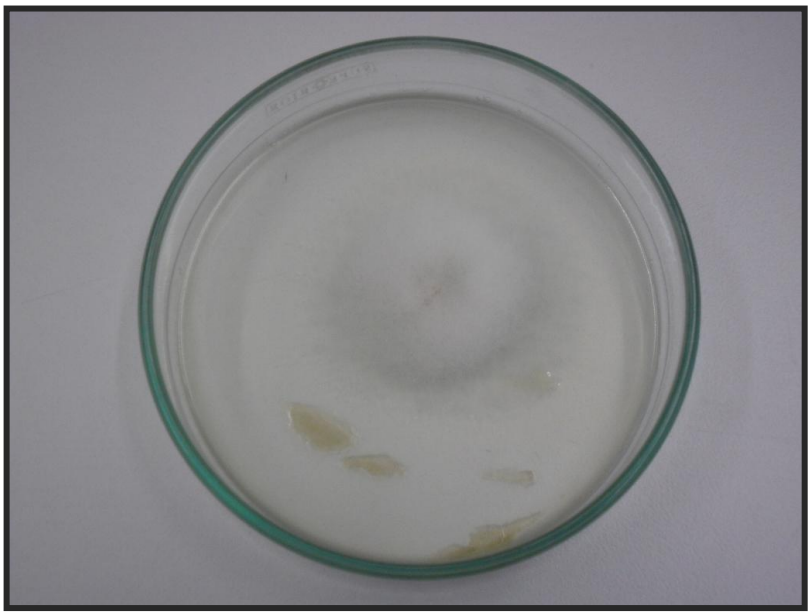
Rezultati razvoja *Fusarium* vrsta na PDA podlozi pri 15 i 22°C prikazani su u tablicama 1 i 2.

Tablica 1. Utjecaj PDA podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 15ºC

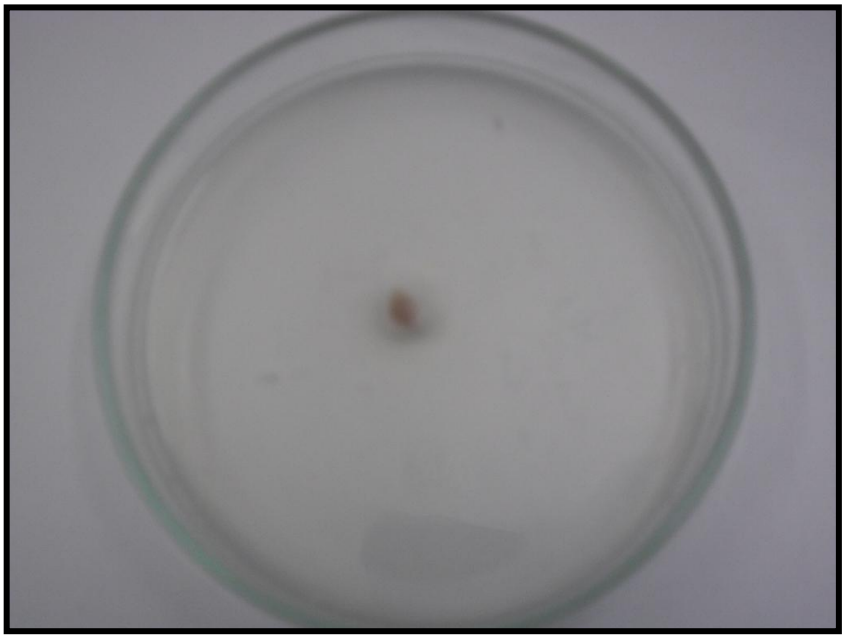
15ºC	Četvrti dan (mm)	Osmi dan (mm)
F. acuminatum	39,0	90,0
F. venenatum	35,0	88,5
F. semitectum	14,0	42,0
F. proliferatum	16,0	41,0
F. solani	16,5	43,5
F. equiseti	31,5	83,5
F. oxysporum	37,0	90,0
F. graminearum	27,5	90,0
F. verticillioides	42,5	90,0
F. avenaceum	32,0	84,0
F. sporotrichoides	48,5	90,0
F. subglutinans	25,0	75,0
LSD 0,05	**4,47**	**2,78**
LSD 0,01	**6,27**	**3,89**

Pri ispitivanju razvoja *Fusarium* vrsta na PDA podlozi na temperaturi 15^{o}C četvrti dan nakon inokulacije najveći početni porast imala je vrsta *F. sporotrichioides* (slika 4). Početni porast micelija ove gljive bio je statistički značajno brži u odnosu na porast *F. verticillioides* (slika 5) te statistički vrlo značajno brži u odnosu na sve ostale ispitivane gljive.
Najslabiji porast u početnoj fazi razvoja imala je vrsta *F. semitectum,* a za njim slijede *F. proiferatum* i *F. solani*. Početni porast F. semitectum bio je statistički vrlo značajno slabiji u odnosu na sve gljive izuzev *F. proiferatum* i *F. solani*.

Osmog dana od inokulacije najslabiji razvoj imale su vrste *F. semitectum, F. proliferatum* i *F. solani*. Između porasta navedenih gljiva nisu utvrđene statistički značajne razlike, a porast navedene tri gljive bio je statistički vrlo značajno slabiji u odnosu na ostale ispitivane gljive.



Slika 4. *F. sporotrichioides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 5. *F.verticillioides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

Razvoj gljiva na PDA podlozi na temperaturi 22^{O}C mjerili smo tri puta budući da osmi dan od nacjepljivanja većina gljiva nije ispunila cijelu Petrijevu zdjelicu. Četvrtog dana nakon nacjepljivanja statistički vrlo značajno slabiji razvoj micelija u odnosu na sve ostale ispitivane gljive utvrđen je za gljive *F. verticillioides, F. oxysporum* i *F. avenaceum*. Osmog dana od nacjepljivanja micelij gljiva *F. acuminatum, F. oxysporum, F. verticillioides, F. avenaceum* i *F. sporotrichioides* u potpunosti je ispunio Petrijevu zdjelicu. Na slikama 6 i 7 prikazan je izgled micelija *F. solani* i *F. semitectum.*

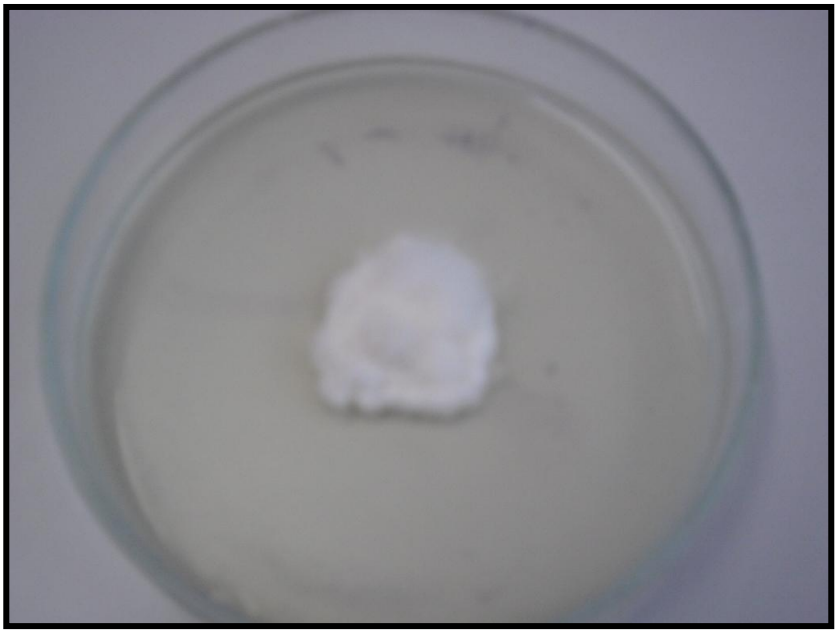
Desetog dana od nacjepljivanja statistički vrlo značajno slabiji porast (60,0 mm) u odnosu na sve ostale gljive imao je *F. semitectum*.

Tablica 2. Utjecaj PDA podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 22 ^{o}C

22^{o}C	Četvrti dan (mm)	Osmi dan (mm)	Deseti dan (mm)
F. acuminatum	57,5	90,0	90,0
F. venenatum	39,5	66,0	85,0
F. semitectum	30,0	44,5	60,0
F. proliferatum	30,5	49,5	70,0
F. solani	29,0	52,0	82,0
F. equiseti	46,0	67,5	85,5
F. oxysporum	84,5	90,0	90,0
F. graminearum	48,5	84,5	90,0
F. verticillioides	85,0	90,0	90,0
F. avenaceum	79,0	90,0	90,0
F. sporotrichioides	51,5	90,0	90,0
F. subglutinans	48,5	84,5	90,0
LSD 0,05	**2,63**	**2,4**	**2,63**
LSD 0,01	**3,69**	**3,36**	**3,69**



Slika 6. *F. solani* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 7. *F. semitectum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

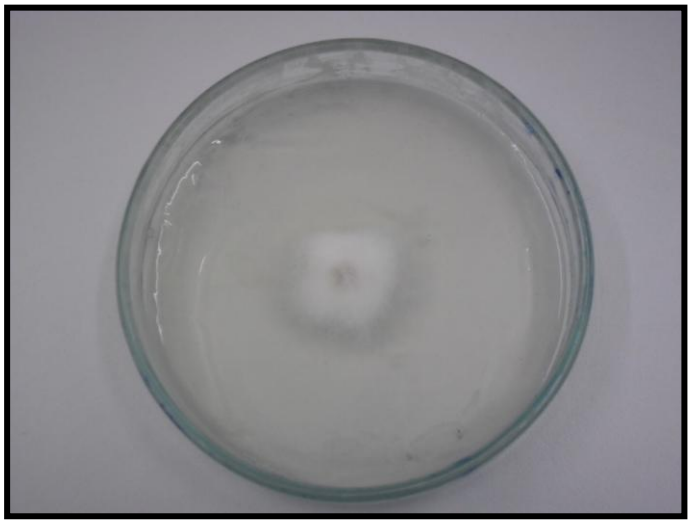
4.2 Utjecaj Čapek podloge na razvoj micelija *Fusarium* vrsta na 15^{o}C i 22^{o}C

Rezultati razvoja *Fusarium* vrsta na PDA podlozi pri 15 i 22°C prikazani su u tablicama 3 i 4.

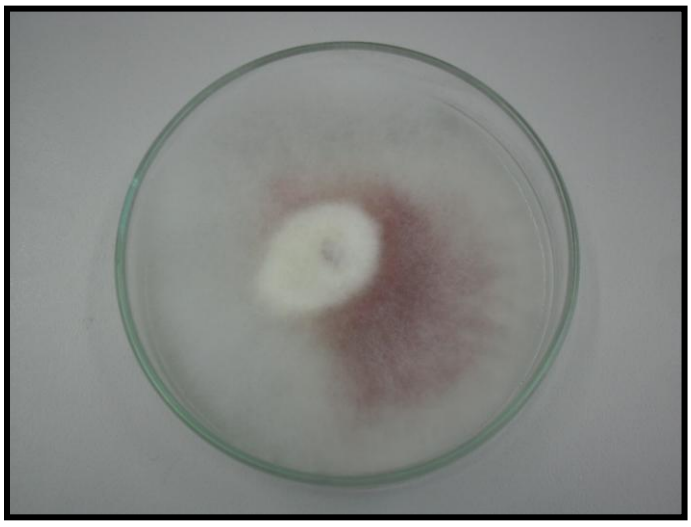
Tablica 3. Utjecaj Čapek podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 15^{o}C

15^{o}C	Četvrti dan (mm)	Osmii dan (mm)
F. acuminatum	37,5	80,0
F. venenatum	37,0	90,0
F. semitectum	26,5	68,0
F. proliferatum	26,0	60,5
F. solani	17,0	42,5
F. equiseti	30,5	82,5
F. oxysporum	23,5	90,0
F. graminearum	33,0	90,0
F. verticillioides	27,5	90,0
F. avenaceum	24,0	57,5
F. sporotrichioides	38,0	85,0
F. subglutinans	23,0	57,5
LSD 0,05	**5,28**	**5,13**
LSD 0,01	**7,40**	**7,19**

Na Čapek podlozi na 15^{O}C najbrži početni porast (četvrti dan od nacjepljivanja) imali su *F. sporotrichioides, F. venenatum i F. acuminatum* (slika 8). Početni porast navedenih gljiva bio je statistički vrlo značajno bolji u odnosu na sve ostale gljive osim *F. graminearum*. Osmi dan od nacjepljivanja najbolji porast utvrđen je za *F . graminearum, F. verticillioides* (slika 9), *F. oxysporum* te *F. venenatum* (90 mm) i on je bio stistički značajno brži od porasta svih ostalih gljiva osim porasta *F. sporotrichioides*. Statistički vrlo značajno lošiji porast u odnosu na sve ostale gljive imala je vrsta *F. solani.*



Slika 8. *F. acuminatum* četvrti dan (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 9. *F. verticillioides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

Tablica 4. Utjecaj Čapek podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 22^{o}C

22^{o}C	Četvrti dan (mm)	Osmi dan (mm)	Deseti dan (mm)
F. acuminatum	60,0	90,0	90,0
F. venenatum	42,5	80,0	90,0
F. semitectum	51,5	83,5	90,0
F. proliferatum	39,0	65,5	90,0
F. solani	31,0	52,0	80,0
F. equiseti	51,0	81,0	89,0
F. oxysporum	55,5	90,0	90,0
F. graminearum	77,5	90,0	90,0
F. verticillioides	79,5	90,0	90,0
F. avenaceum	23,0	38,5	50,5
F. sporotrichioides	45,0	80,0	87,5
F. subglutinans	40,0	67,5	86,5
LSD 0,05	**4,89**	**3,33**	**2,92**
LSD 0,01	**6,86**	**4,67**	**4,09**

Na Čapek podlozi pri 22^{o}C *F. verticillioides* i *F. graminearum* (slika 10) su vrste koje su imale najbrži početni razvoj te su svoj brzi razvoj nastavile sve do desetog dana (slika 11).

Njihov početni porast bio je statistički vrlo značajno brži u odnosu na porast svih ostalih ispitivanih gljiva. Najslabiji početni porast imale su vrste *F. avenaceum* (23,0 mm). *F. solani* (31,0 mm) i *F. proliferatum* (39,0 mm). Osmi i deseti dan od nacjepljivanja statistički vrlo značajno slabiji porast u odnosu na sve druge gljive imao je *F. avenaceum*.



Slika 10. *F. graminearum,* četvrti dan mjerenja (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 11. *F. graminearum,* deseti dan mjerenja (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

4.3 Utjecaj podloge od rajčice na razvoj micelija *Fusarium* vrsta na 15^{o}C i 22^{o}C

Rezultati razvoja *Fusarium* vrsta na PDA podlozi pri 15 i 22°C prikazani su u tablicama 5 i 6.

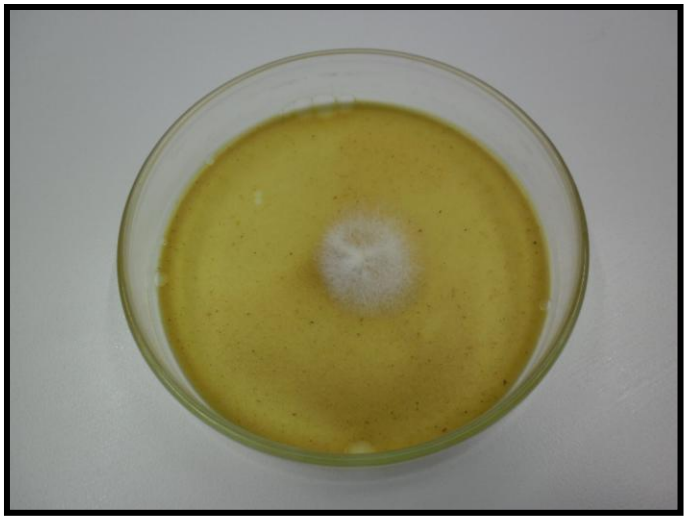
Tablica 5. Utjecaj podloge od rajčice na razvoj *Fusarium* vrsta na 15 ^{o}C

15 ^{o}C	Šesti dan (mm)	Osmi dan (mm)	Dvanaesti dan (mm)
F. acuminatum	43,0	59,5	88,0
F. venenatum	56,0	81,5	90,0
F. semitectum	22,5	40,5	46,5
F. proliferatum	45,0	69,5	90,0
F. solani	22,5	37,5	51,5
F. equiseti	43,0	66,0	87,0
F. oxysporum	47,0	74,0	90,0
F. graminearum	41,5	72,5	90,0
F. verticillioides	18,0	39,5	52,0
F. avenaceum	40,0	57,5	78,5
F. sporotrichioides	43,0	60,0	78,0
F. subglutinans	38,5	52,5	90,0
LSD 0,05	**4,36**	**4,81**	**4,12**
LSD 0,01	**6,11**	**6,75**	**5,78**

Na podlozi od rajčice na temperaturi 15^{o}C vrste *F. venenatum, F. proliferatum* (slika 12) i *F. oxysporum* su vrste s najbržim početnim razvojem micelija. Najslabiji početni porast imale su vrste *F. verticillioides* (18,0 mm) te *F. semitectum* (slika 13). i *F. solani* (22,5 mm). Deseti dan od nacjepljivanja statistički vrlo značajno slabiji razvoj micelija u odnosu na sve ostale gljive imali su *F. semitectum, F. solani, F. verticillioides, F. avenaceum* i *F. sporotrichioides*.



Slika 12. *F. proliferatum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



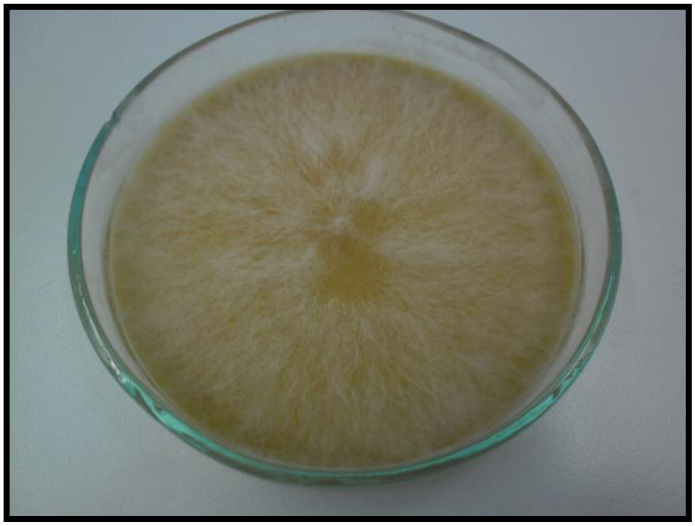
Slika 13. *F. semitectum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

Tablica 6. Utjecaj podloge od rajčice na razvoj *Fusarium* vrsta na 22^{o}C

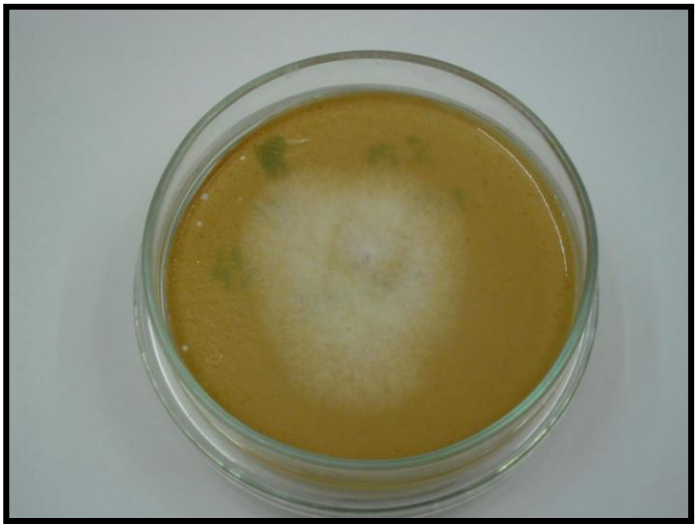
22^{o}C	Četvrti dan (mm)	Sedmi dan (mm)	Deseti dan (mm)
F. acuminatum	43,0	66,0	48,0
F. venenatum	57,5	90,0	90,0
F. semitectum	47,0	72,0	90,0
F. proliferatum	50,5	79,0	90,0
F. solani	32,0	57,5	72,5
F. equiseti	53,5	90,0	90,0
F. oxysporum	50,5	90,0	90,0
F. graminearum	77,0	90,0	90,0
F. verticillioides	84,0	90,0	90,0
F. avenaceum	29,5	38,5	87,5
F. sporotrichioides	52,5	79,0	90,0
F. subglutinans	39,5	68,5	88,0
LSD 0,05	**4,15**	**4,6**	**2,59**
LSD 0,01	**5,82**	**6,45**	**3,64**

Pri temperaturi 22^{o}C na podlozi od rajčice gljive *F. graminearum* (77 mm) i *F. verticillioides* (84 mm) su imale najbrži početni porast. Njihov porast je bio statistički vrlo značajno bolji u odnosu na sve druge ispitivane gljive. Najslabije razvijene gljive četiri dana od nacjepljivanja bile su *F. solani* i *F. avenaceum.*

Deseti dan od nacjepljivanja statistički vrlo značajno slabiji porast u odnosu na sve ostale gljive imala je vrsta *F. solani.* Na slikama 14 i 15 prikazan je porast *F. verticillioides* i *F. avenaceum* na podlozi od rajčice na 22^{o}C.



Slika 14. *F. verticillioides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)



Slika 15. *F. avenaceum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.)

5. Rasprava

Vrste roda *Fusarium*, kao i sve ostale gljive, za svoj razvoj zahtijevaju određene uvjete okoline, a osobito su važni temperatura, vlaga, podloga na kojoj se razvijaju i vlaga (zraka ili tla). Pri optimalnim uvjetima taj je razvoj najbrži, a što se više udaljavamo od optimalnih vrijednosti razvoj postaje sve sporiji.

Prvo mjerenja je izvršeno četiri do šest dana nakon inokulacije. Na PDA podlozi je utvrđeno kako je porast micelija brži na 22^{o}C u odnosu na temperaturu 15^{o}C kod svih ispitivanih *Fusarium* vrsta. Najznačajnija razlika je uočena kod vrste *F. graminearum* kojoj je na 15^{o}C početni porast micelija bio 27,5 mm a na 22 ^{o}C 85,0 mm. Također, za *F. verticillioides* se temperatura 22^{o}C pokazala kao pogodnija (79,0 mm) u odnosu na 15^{o}C na kojoj je porast micelija bio 42,5 mm.

Na Čapek podlozi kao i na PDA podlozi sve *Fusarium* vrste su se razvijale brže na temperaturi 22^{o}C u odnosu na porast micelija na 15^{o}C. Tako je na primjer kod *F. graminearum* nakon četiri dana od nacjepljivanja na temperaturi 15^{o}C promjer micelija bio 33,0 mm, a na temperaturi 22^{o}C 79,0 mm.

Iznimka je vrsta *F. avenaceum* kod kojeg je u početnim fazama utvrđen bolji razvoj na temperaturi 15^{o}C (24,0 mm) u odnosu na razvoj na 22^{o}C (23,0 mm).

Na podlozi od rajčice također je temperatura 22^{o}C bila povoljnija za razvoj ispitivanih gljiva u odnosu na temperaturu 15^{o}C. Tako je kod *F. verticillioides* promjer micelija bio 18,0 mm na 15 ^{o}C, a 84,0 mm na 22^{o}C. Promjer micelija gljive *F. graminearum* je na 15^{o}C dosegao veličinu 41,5 mm, a na 22^{o}C 77,0. Rezultati naših istraživanja u skladu su s rezultatatima istraživanja Svitlica i sur. (2011.) koji navode da je optimalna temperatura za razvoj navedenih gljiva između 20 i 25^{o}C. Slične rezultate navode i Ćosić i Vrandečić (2002.).

Fusarium vrste mogu se uzgajati na velikom broju različitih hranjivih podloga. U našim smo istraživanjima utvrdili da se micelij ispitivanih gljiva u pravilu najbrže razvija na PDA podlozi te je na toj podlozi micelij i najbujniji. Slične rezultate navode i Svitlica i sur. (2011.). Sastav hranjive podloge ne utječe samo na brzinu rasta micelija i njegovu bujnost već i na sporulaciju, klijavost konidija, duljinu klične cijevi i virulentnost.

6. Zaključak

Vrste roda *Fusarium* su vrlo značajne vrste te u velikoj mjeri utječu na biljke, ljude i životinje. Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj temperature i hranjive podloge na razvoj *Fusarium* vrsta.

Nakon dobivenih rezultata može se zaključiti:

Vrsta hranjive podloge i temperatura imaju značajan utjecaj na razvoj micelija i sporulaciju.
Hranjiva podloga od rajčice je bila povoljnija za razvoj gljive pri temperaturi od 22^{o}C u odnosu na temperaturu 15^{o}C.
Na Čapek podlozi temperatura 22^{o}C je bila pogodnija za razvoj svih ispitivanih gljiva. Vrsta *F. avenaceum* je imala bolji razvoj micelija pri temperaturi 15^{o}C u svim mjerenjima.
Na PDA podlozi bolji porast micelija svih gljiva bio je pri temperaturi 22^{o}C.

7. Popis literature

1. Booth, C. (1971): The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, London.
2. Ćosić, J. (2002.): Taksonomija *Fusarium* vrsta izoliranih s kultiviranog bilja, korova, i njihova patogenost za pšenicu. Poljoprivreda, 8(1): 63-64
3. Ćosić, J., Vrandečić, K. (2002.): Biološke karakteristike *Fusarium graminearum* Schw. i *F. culmorum* (WG Smith) Sacc. Poljoprivreda, 8 (1): 16-20
4. Ćosić, J., Vrandečić, K. (2003.): Fuzarijske bolesti pšenice. Glasilo biljne zaštite, 5: 284-288
5. Ćosić, J., Vrandečić, K., Svitlica, B. (2004.): *Fusarium* vrste izolirane s pšenice i kukuruza u istočnoj Hrvatskoj. Poljoprivreda, 10 (1): 5-8
6. Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K. (2006): Praktikum iz fitopatologije. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakutet u Osijeku
7. Doohan, F.M., Brennan, J., Cooke, B. M. (2003): Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenicto cereals. Europian Journal of plant patology, 109:755-768
8. Gerlach, W., Nirenberg, H. (1982.): The genus *Fusarium* - a pictorial atlas. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt fur Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Kommissionsverlag P. Parey, 406 pp.
9. Hudec, K., Muchova, D. (2010.): Influence of temperature and species origin on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* pathogenicity to wheat seedling,. Plant protect science, 46 (2): 59-65.
10. Korić, B. (2003): *Fusarium* spp. na sjemenskim i merkantilnim usjevima pšenice u hrvatskoj u 2002. godini. Zbornik radova i eseja. XI. Slovenska konferencija o zaštiti bilja, Zreče, 165-169.
11. Lazarotto, M.,Mezzomo, R., Marciel, C.G., Finger, G., Muniz., M.F.B. (2013): Mycelia growth and sporulation on *Fusarium chlamydosporum* species complex under different culture conditions. Amazon journal of Agriculture and environmental sciences, 57 (1): 35-40.
12. Miličević, T., Kaliterna, J., Ivić, D., Stričak, A. (2013.): Identifikacija i zastupljenost *Fusarium* vrsta na sjemenu grahorice, bijele vučike te nekih samoniklih mahunarki.

Poljoprivreda, 19 (1): 25-32

13. Nelson, P. E., Dignani, M.C., Anaissie, E.J.(1994.): Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. Clinical microbiology reviews, 7 (4): 479-504
14. Parađiković, N., Ćosić, J., Jurković, D. (2000.): Suzbijanje *Fusarium oxysporum* na gerberama (Gerbera Jamesonii H. Bolus ex JD Hook) biološkim pripravkom. Agriculture Scientific and Professional Review, 6 (2): 58-61
15. Pettit, T.R., Parry D.W. (1996): Effects of climate change on *Fusarium* foot root of winter wheat in the United Kingdom. British Mycological Society Symposia, Fungi and environmental change. 20 : 20-31
16. Sever, Z., Ivić, D.,Kos, T., Miličević, T. (2012): Identifikation od *Fusarium* species isolated from stored apple fruit in Croatia. Arhiv za higijenu rada i toksikologiju, 63 (4): 463-470
17. Sutton, J.C. (1982.): Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Journal plant pathology, 4: 195–209.
18. Svitlica, B., Ćosić, J.,Šimić, B.,Vrandečić, K.,Bunjevac. I., Božić, M. (2011.): Utjecaj uvjeta uzgoja na porast i sporulaciju *Fusarium* vrsta. Poljoprivreda, 17 (1): 42-46

Internet stranice:

Predrag Nastić. Fuzariozno uvenuće paradajza - *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. 05.01.2014.http://agronomija.rs/2014/fuzariozno-uvenuce-fusarium-oxysporum/. 15.09.2015.

8. Sažetak

Rodu *Fusarium* pripadaju mnoge vrste koje su vrlo značajne za razvoj biljaka te zdravlje ljudi i životinja. U istraživanju su ispitivani izolati 12 vrsta roda *Fusarium* kako bi se utvrdio utjecaj hranjive podloge na razvoj micelija. Korištene su tri hranjive podloge: podloga od rajčice, PDA podloga i Čapek podloga, a razvoj gljive se pratio na dvije različite temperature: 15^{o}C i 22^{o}C. Porast micelija se bilježio tijekom deset dana. Za razvoj *Fusarium* vrsta najpogodnija temperatura je 22^{o}C, dok je na nižim temperaturama (15^{o}C) slabiji razvoj micelija. Najpovoljnija podloga za razvoj Fusarium vrsta je PDA podloga.

Ključne riječi: *Fusarium*, hranjiva podloga, temperatura, micelij

9. Summary

Many species which belong to the genus *Fusarium* are very important and they have negative consequences for human and animal health. In this study we examinated the influence of nutrition media and temperature on the development of mycelium of 12 Fusarium species. The trial was conducted at three nutrition media; tomato agar, PDA and Czapek agar, and at two temperatures: 15^{o}C and 22^{o}C. For the development of *Fusarium* species the most suitable temperature is 22^{o}C, while a lower temperature (15^{o}C) causes lower growth of mycelia. The fastest growth of mycelium was found on PDA nutrition media.

Keywords: *Fusarium,* nutrition media, temperature, mycelia

10. Popis slika

Slika 1. Pripravci za pripremu hranjivih podloga (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 7)
Slika 2. Pripremanje hranjive podloge u laboratoriju (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 8)
Slika 3. Mjerenje micelija ravnalom (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 8)
Slika 4. Porast micelija *F. sporotrichioides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 10)
Slika 5. Porast micelija *F.verticiloides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 11)
Slika 6. Porast micelija *F. solani* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 13)
Slika 7. Porast micelija *F. semisectum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 13)
Slika 8. Porast micelija *F.acuminatum* četvrti dan (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str.15)
Slika 9. Porast micelija *F. verticiloides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 15)
Slika 10. Porast micelija *F. graminearum,* četvrti dan mjerenja (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 17)
Slika 11. micelija *F. graminearum,* deseti dan mjerenja (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 17)
Slika 12. Porast micelija *F. proliferatum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 19)
Slika 13. Porast micelija *F. semisectum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str.19)
Slika 14. Porast micelija *F. verticiloides* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 21)
Slika 15. Porast micelija *F. avenaceum* (Foto Mujkanović Tatjana, 2014.) (str. 21)

11. Popis tablica

Tablica 1. Utjecaj PDA podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 15ºC (str. 9)
Tablica 2. Utjecaj PDA podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 22ºC (str. 12)
Tablica 3.Utjecaj Čapek podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 15ºC (str.14)
Tablica 4.Utjecaj Čapek podloge na razvoj *Fusarium* vrsta na 22ºC (str. 16)
Tablica 5. Utjecaj podloge od rajčice na razvoj *Fusarium* vrsta na 15ºC (str. 18)
Tablica 6. Utjecaj podloge od rajčice na razvoj *Fusarium* vrsta na 22ºC (str. 20)

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA Diplomski rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij Bilinogojstvo, smjer Zaštita bilja

Utjecaj hranjive podloge i temperature na vrste roda *Fusarium*

Tatjana Mujkanović

Sažetak

Rodu *Fusarium* pripadaju mnoge vrste koje su vrlo značajne za razvoj biljaka te zdravlje ljudi i životinja. U istraživanju su ispitivani izolati 12 vrsta roda *Fusarium* kako bi se utvrdio utjecaj hranjive podloge na razvoj micelija. Korištene su tri hranjive podloge: podloga od rajčice, PDA podloga i Čapek podloga, a razvoj gljive se pratio na dvije različite temperature: 15^{o}C i 22^{o}C. Porast micelija se bilježio tijekom deset dana. Za razvoj *Fusarium* vrsta najpogodnija temperatura je 22ºC, dok je na nižim temperaturama (15ºC) slabiji razvoj micelija. Najpovoljnija podloga za razvoj Fusarium vrsta je PDA podloga.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 30
Broj grafikona i slika:15
Broj tablica: 6
Broj literarnih navoda: 19
Broj priloga: 0
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Fusarium*, hranjiva podloga, temperatura, micelij

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. izv. prof. dr. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. prof. dr.Jasenka Ćosić, mentor
3. prof.dr. Nada Parađiković, član

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

BASIC DOCUMENTATION CARD Graduate thesis

Josip Juraj Strossmayer Univerity of Osijek
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies, Plant production, major Plant Protection

Influence of nutrition media and temperature on *Fusarium* species

Tatjana Mujkanović

Summary

Many species which belong to the genus *Fusarium* are very important and they have negative consequences for human and animal health. In this study we examinated the influence of nutrition media and temperature on the development of mycelium of 12 Fusarium species. The trial was conducted at three nutrition media; tomato agar, PDA and Czapek agar, and at two temperatures: 15ºC and 22ºC. For the development of *Fusarium* species the most suitable temperature is 22ºC, while a lower temperature (15ºC) causes lower growth of mycelia. The fastest growth of mycelium was found on PDA nutrition media.

Thesis performend at. Faculty of Agriculture on Osijek

Mentor: DSc Jasenka Ćosić, Full professor

Number of pages: 30
Number of figures: 15
Number of tables: 6
Number of references: 19
Number of appendices: 0
Original in: Croatian

Keywords: *Fusarium*, nutrition media, temperature, mycelia

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

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