Utjecaj pH hranjive podloge na rast gljive Sclerotium cepivorum

Šuman, Goran

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:151:687669

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

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

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Goran Šuman, apsolvent

Diplomski studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

UTJECAJ pH HRANJIVE PODLOGE NA RAST GLJIVE *Sclerotium Cepivorum*

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Goran Šuman, apsolvent
Diplomski studij Bilinogojstvo
Smjer Zaštita bilja

UTJECAJ PH HRANJIVE PODLOGE NA RAST GLJIVE *Sclerotium Cepivorum*

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:
1. Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. Prof. dr. sc. Vlatka Rozman, član

Osijek, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 2
3. MATERIJAL I METODE 5
4. REZULTATI 6
5. RASPRAVA 16
6. ZAKLJUČAK 18
7. POPIS LITERATURE 19
8. SAŽETAK 23
9. SUMMARY 24
10. POPIS TABLICA 25
11. POPIS SLIKA 26
12. POPIS GRAFIKONA 27

1. UVOD

Kiselost supstrata (pH vrijednost) i temperatura vrlo su važni čimbenici koji djeluju na rast i razvoj gljiva. Kiselost supstrata predstavlja koncentraciju vodikovih iona ili hidroksilnih iona u nekoj otopini. To je mjera kiselosti odnosno bazičnosti. Ako je vrijednost pH 7 tada govorimo o neutralnoj sredini, vrijednost u rasponu od 7-14 odnosi se na alkalične otopine, a kisele su ako je vrijednost manja od 7. Većina fitopatogenih gljiva našeg područja najbolje se razvija u slabo kiseloj do neutralnoj sredini.

Pored pH vrijednosti za porast gljiva važna je i temperatura. Kada govorimo o temperaturi mislimo na temperaturu zraka ali i na temperaturu supstrata ili tla. Gljive se uglavnom razvijaju u relativno širokom rasponu temperatura, a optimalne temperature za većinu fitopatogenih gljiva našeg područja su oko 20°C.

Cilj ovoga diplomskoga rada jest utvrditi utjecaj hranjive podloge krumpir dekstrozni agar (PDA) pri tri različite pH vrijednosti (5,5; 6,5 i 8,0) te pri temperaturama 15, 22 i 30 °C na rast, razvoj i formiranje micelija gljive *Sclerotium cepivorum*.

2. PREGLED LITERATURE

Gljiva *Sclerotium cepivorum*Berk (sinonim *Stromatinia cepivora*(Berk; Whetzel.)pripada pododjelu *Deuteromycota*, razred*Agonomxcetes*, rod *Sclerotium*.

Gljiva uzrokuje bijelu trulež luka (slika 1) i široko je rasprostranjena diljem svijeta.Zemljišni je i fakultativni parazit. Ima veliki broj domaćina na kojima parazitira, posebno iz roda *Allium*, a najvažniji domaćini su luk, poriluk i češnjak. *Allium* vrste napada preko 66 uzročnika bolesti, a među njima je jedan od najznačajnijih uzročnika, posebno na češnjaku,*S. cepivorum*. Ova gljiva na češnjaku izaziva velike probleme te dolazi do velikih ekonomskih šteta i gubitaka (Perez i sur. 1994., Crowe i sur. 1980., Andrea i sur. 1996., Pinto i sur. 1998.). Gljiva *Allium* vrste može zaraziti tijekom čitave vegetacije, ali štete su najveće ako do zaraze dođe rano u vegetaciji.

Tako su u Velikoj Britaniji zabilježeni gubici oko 10 %, a u Kanadi oko 65 % (Entwistle, 1990.). U Etiopiji koja je jedan od glavnih proizvođača češnjaka i luka (preko 30 000 ha zasađenog češnjaka) zabilježeni su gubici 20-40 % uslijed zaraze ovom gljivom (Fullerton i Stewart 1991.), a kod osjetljivih sorata može doći i do 100 % gubitka prinosa (Zeray 2011.)



Slika 1. Simptomi na luku nakon zaraze *S.cepivorum*(Izvor:https://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/sclerotium_cepivorum/Sclerotium_cepivorum.html)

Prvi znaci bolesti jesu žućenje listova, zatim dolazi do nekroze i to od vrha lišća prema dolje. Kod jačeg napada dolazi i do odumiranja listova i to nakon jednog ili dva tjedna. Zaražene lukovice postaje trule, prekrivene su voštanim, sivo-bijelim micelijem u kojem se uočava veliki broj crnih sklerocija koje su veličine 1 do 1,5 mm i promjera 200-500 µm, a

miris lukovice je izrazito neugodan. Bolest se javlja u svim fazama razvoja biljke, može doći do potpune ili djelomične zaraze,a zaražene biljkedožive stres i gube vodu (Entwistle, 1990).

Infekcija potječe iz tla gdje i gljiva preživljava u obliku sklerocija (slika 2) i koje u tlu zadržavaju vitalnostnajmanje četiri do pet godina, a ponekada i do deseti više godina. Sklerocije se formiraju na odumrlom tkivu domaćina (Amin i sur. 2014). Sklerocije kliju u miceliji taj micelijzaražava lukovice. Klijanje sklerocija potiču neke izlučevine korijena koje su specifične za *Allium* vrste. Također, za klijanje sklerocija potrebne su nešto niže temperature (9 do 20°C) i vlaga tla koja je povoljna i za rast korijena biljke domaćina (Amin i sur. 2014). Do zaraze dolazi kada micelij dođe u dodir s korijenom. Micelij koji nastaje klijanjem sklerocije može kroz tlo do biljke domaćina prijeći 1 do 2 cm.Vlaga u tlu i temperaturapotrebna za rast korijena domaćina također je pogodna i za klijanje sklerocija.Micelij raste te iz korijena jedne biljke može prijeći na korijen susjedne biljke i tako se zaraza može proširiti. Infekcija se vrši tako što gljiva apresorijem probija staničnu stjenku te prodire duboko u korijen. Gljiva razara biljno tkivo pomoću oksalne kiseline i različitih enzima(Maude 2006). Jedna sklerocija može zaraziti 20-30 susjednih biljaka i do 30 cm ispod površine tla.

Širenje patogena moguće je i putem kontakta korijena zdrave biljke sa zaraženom što je često kod usjeva gustog sklopa. Najčešće do zaraza dolazi u proljeće kada su česte optimalne temperature tla za razvoj gljive i zaraze biljaka(15 do 20 °C). Temperature iznad 30 °C, i ispod 5°C nisu pogodne za zarazu čak iako je tlo jako zaraženo. Sklerocije ne mogu preživjeti temperature tla više od 35 °C.Bolest se javlja na slabo dreniranim površinama.



Slika 2. Prikaz sklerocija gljive (Izvor: https://bib.irb.hr/datoteka/758246.luk_arci_zadnja.pdf)

Tijekom svakog novog životnog ciklusa broj sklerocija se mnogostruko povećava te tako u relativno kratkom vremenu možemo od slabo zaraženog tla dobiti jako zaraženo tlo ovom gljivom.

Bolest se teško kontrolira, potrebno je smanjiti broj sklerocija u tlu ili usporiti rast gljivice. Među najznačajnije preventivne mjere ubrajaju se korištenje zdravog sjemena, čišćenje mehanizacije, pravilan plodored i to u trajanju pet do osam godina jer sklerocije dugo ostaju vitalne u tlu te je iznimno važno uništavati biljne ostatke.

Od fizikalnih mjera preporučase postavljanje polietilenske, plastične folije na tlo kako bi se povećala temparatura tla na 35 do 50 °C i na taj način uništile sklerocije zaostale u tlu (Katan 1987). Potrebno je smanjiti unošenje u tlo kemikalija koji stimuliraju klijavost sklerocija.

Od bioloških mjera možemo koristiti parazitne gljive roda *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum* Rifai) koja može uništiti i do 80 % sklerocija. Osim navedenog roda tu su i gljive iz rodova *Giocladium* i *Talaromyces.*

Kemijske mjere su najučinkovitije u borbi protiv bijele truleži. Djelatne tvari tebukonazol i kaptan učinkovito smanjuju napredak bolesti (Melero-Vara i sur. 2000). Također primjena vinklozolina i karbendazima 45 i 75 dana nakon sjetve uvelike smanjuje pojavu bolesti (Avila De Moreno 1991).

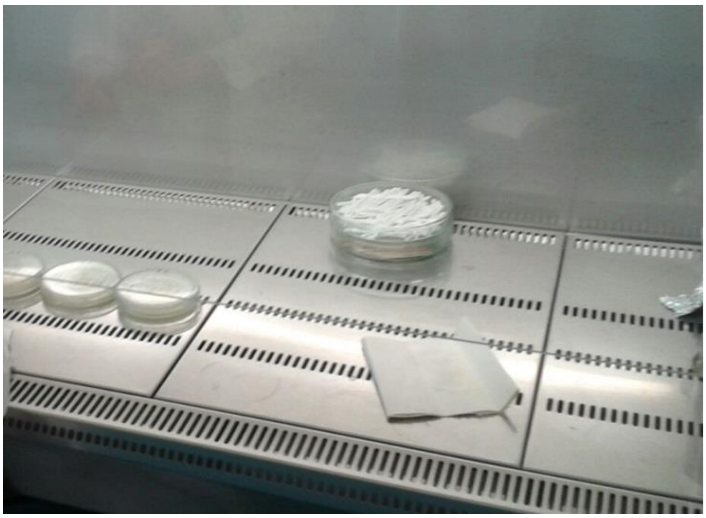
3. MATERIJAL I METODE

Ispitivanje utjecaja temperature uzgoja i kiselosti hranjive podloge na rast i razvoj patogene gljive *Sclerotium cepivorum*provedeno je tijekom 2015. godine u Laboratoriju za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. Za istraživanje je korištena hranjiva podloga krumpir dekstrozni agar (PDA) pri tri različite pH vrijednosti (5,5, 6,5 i 8,0) te pri temperaturama 15, 22 i 30 °C. Pokus je proveden u četiri ponavljanja za svaku varijantu.

PDA je gotova smjesa za podlogu, a dodavanjem tehničkog agara dobije se kruta podloga. U standardnoj podlozi pH je u prosjeku oko 6,5. Ukoliko kiselost podloge nije odgovarajuća potrebno je dodati 0,1 mol NaOH ili 0,1 mol HCl, ovisno o izmjerenom pH. Smjesa od 42 g gotove podloge, 3 g agara te1000 ml destilirane vode se kuha u vodenoj kupelji dok se podloga i agar ne otope. Tako pripremljena podloga se sterilizira 20 minuta u autoklavu pri temperaturi od 121 °C i tlaku od 1,5 bar, zatim se hladi do 60 °C i dodaje se antibiotik. Pripremljena podloga razlijeva se u Petrijeve zdjelice (10 ml/zdjelica).

Petrijeve zdjelice promjera su 9 cm, a prije provođenja pokusa sterilizirane su u autoklavu u trajanju od 20 minuta te pri temperaturi od 121 °C i tlaku 1,5 bar.

U Petrijeve zdjelice pomoću sterilne igle u komori za rad u čistom (slika 3) nacijepljena je gljiva *S. cepivorum*. Petrijeve zdjelice su inkubirane u termostat komori na temperaturama 15, 22 i 30°C i svjetlosnom režimu 24 sata tama. Razvoj gljive praćen tijekom 10 dana, a porast gljive mjeren je 3., 7., 10. dan nakon nacjepljivanja.



Slika 3. Precijepljivanje gljive na PDA podlogu u laminariju (foto: Goran Šuman)

4. REZULTATI

Istraživanjima je utvrđeno da kiselost hranjive podloge i temperatura imaju značajan utjecaj na porast micelija i razvoj sklerocija gljive*S. cepivorum*. Rezultati su prikazani u sljedećim tablicama i grafikonima.

Prvo mjerenje razvoja micelija obavljeno je 23.07.2015 (treći dan od nacjepljivanja) pri temperaturi od 15 °C (tablice 1 i 2) gdje vidimoda je početni razvoj micelija najboljina hranjivoj podlozi čija je pH vrijednost bila 6,5, dok se na podlozi čiji je pH 8,0 gljiva nije počela razvijati. Nakon provedene analize varijance i LSD testa vidimo da nema značajnih razlika u porastu micelija napodlogama čija je pH vrijednost 6,5 i 5,5, ali zato postoji statistički vrlo značajna razlika u porastumicelija na podlogama čiji je pH 5,5 i 6,5imicelijakoji je nacijepljen na podlogu čiji je pH 8,0.

Tablica 1. Razvoj micelija 3 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C

Datum mjerenja 23.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-15°C**	**PH 6,5-15°C**	**PH 8,0-15°C**
Veličina micelija	1	1,0	0,7	0,0
	2	1,0	1,0	0,0
	3	0,7	1,1	0,0
	4	0,9	1,2	0,0
	Srednja vrijednost	0,90	1,00	0

Tablica 2. Analiza varijance za mjerenje provedeno 23.10.2015 na 15 °C.

IZVORI VARIJACIJA	STUPNJEVI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F test
TRETMANI	2	2,4267	1,2133	54,599**
POGREŠKA	9	0,2000	0,0222	
UKUPNO	11	2,6267		
LSD 0,05 **LSD 0,01**	0,2384 0,3426			

U tablici 3 prikazani su podaci o razvoju micelija 7 dana nakon nacjepljivanja te možemo zaključiti da je porast micelija bio dobar na svim podlogama u odnosu na prethodno mjerenje. Analizom varijance i LSD testom utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u porastu micelija na podlogama s pH vrijednošću 8,0 i 6,5, dok nema statistički značajnih razlika u porastu micelijana podlogama čiji je pH 8,0 i 5,5 (tablica 4.).

Tablica 3. Razvoj micelija 7 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C

Datum mjerenja 27.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-15°C**	**PH 6,5-15°C**	**PH 8,0-15°C**
Veličina micelija	1	7,5	8,2	7,2
	2	6,9	8,9	6,7
	3	7,6	8,4	7,9
	4	8,2	8,3	7,6
	Srednja vrijednost	7,55	8,45	7,35

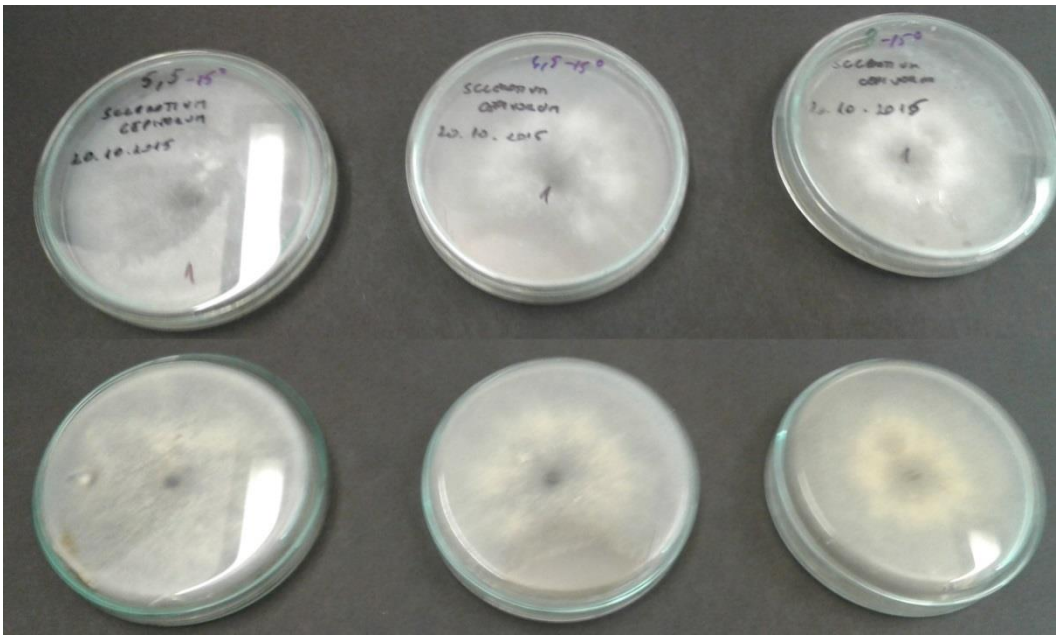
Tablica 4. Analiza varijance za mjerenje provedeno 27.10.2015 na 15 °C.

IZVORI VAriJACIJA	STUPNJEVI SLOBODE	SUMA KVADRATA	SREDINA KVADRATA	F test
TRETMANI	2	2,7466	1,3733	6,338**
POGREŠKA	9	1,9500	0,2167	
UKUPNO	11	4.6966		
LSD 0,05 **LSD 0,01**	0,7445 1,0697			

Posljednje mjerenje obavljeno je 30.10.2015 odnosno 10 dana nakon nacjepljivanja gdje je micelij pri svim pH vrijednostima podloga u potpunosti prerastao petrijeve zdjelice te je iznosio 9 cm u promjeru (tablica 5, slika 4).

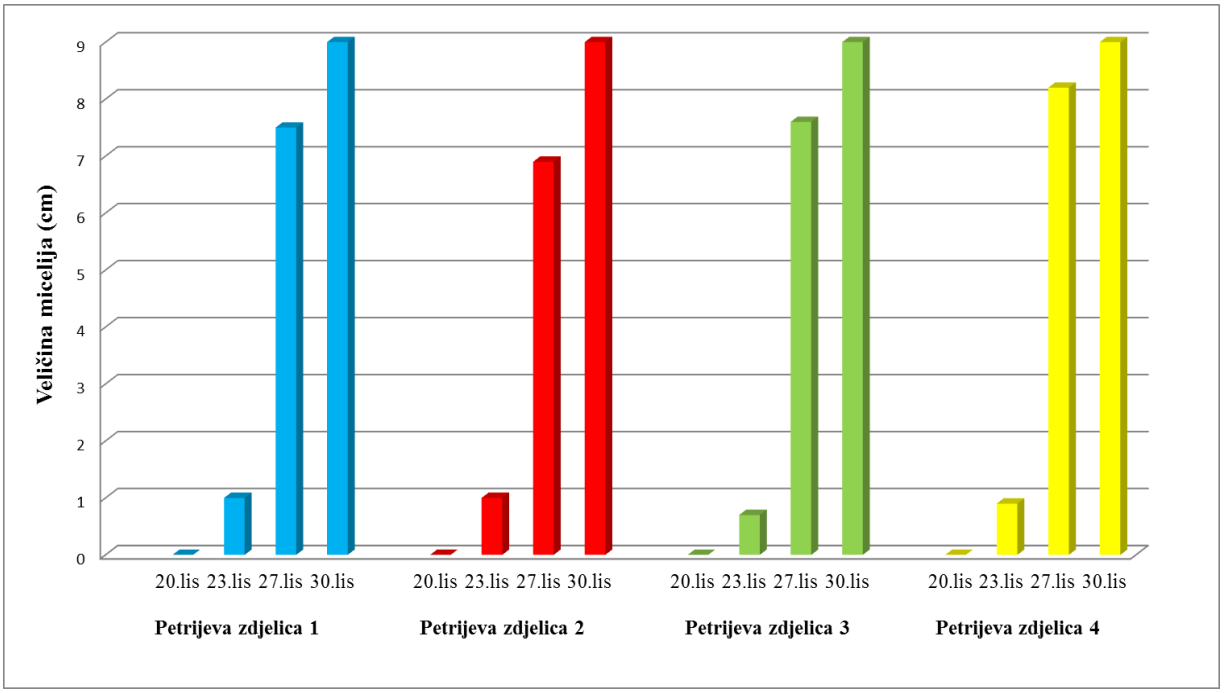
Tablica 5. Razvoj micelija 10 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C

Datum mjerenja 30.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-15°C**	**PH 6,5-15°C**	**PH 8,0-15°C**
Veličina micelija	1	9,0	9,0	9,0
	2	9,0	9,0	9,0
	3	9,0	9,0	9,0
	4	9,0	9,0	9,0
	Srednja vrijednost	9,00	9,00	9,00

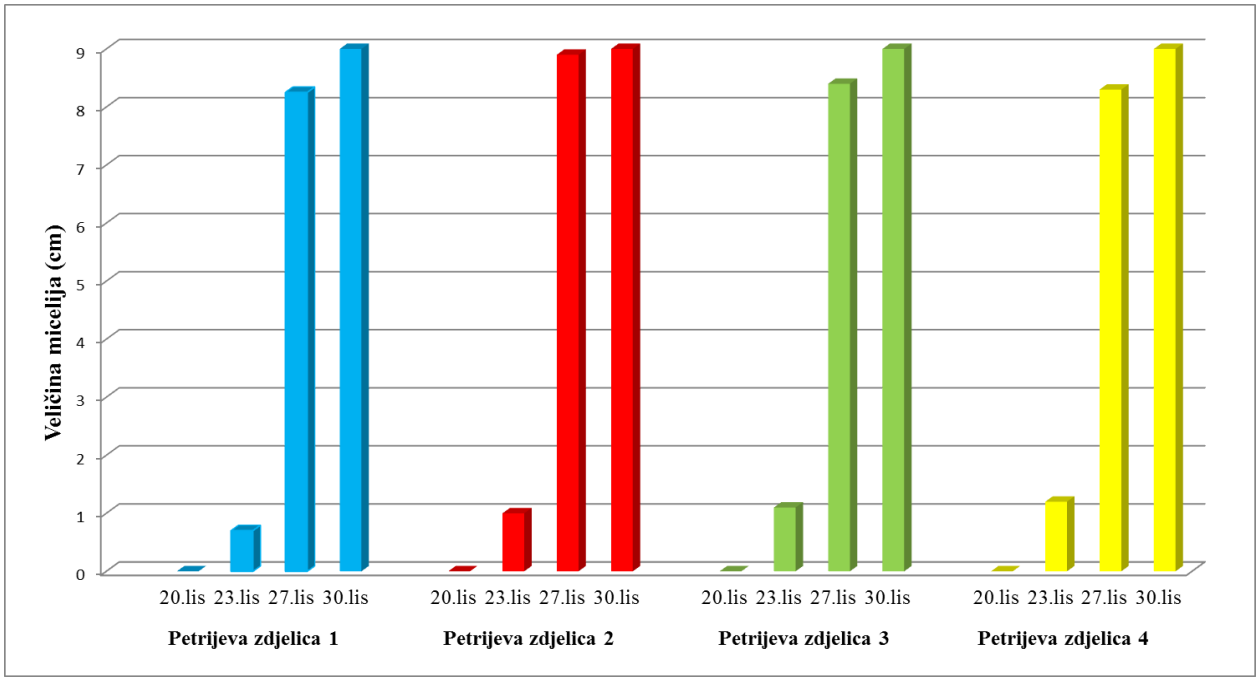


Slika 4. Izgled micelija na PDA podlozi pri 15 °C (foto: Goran Šuman)

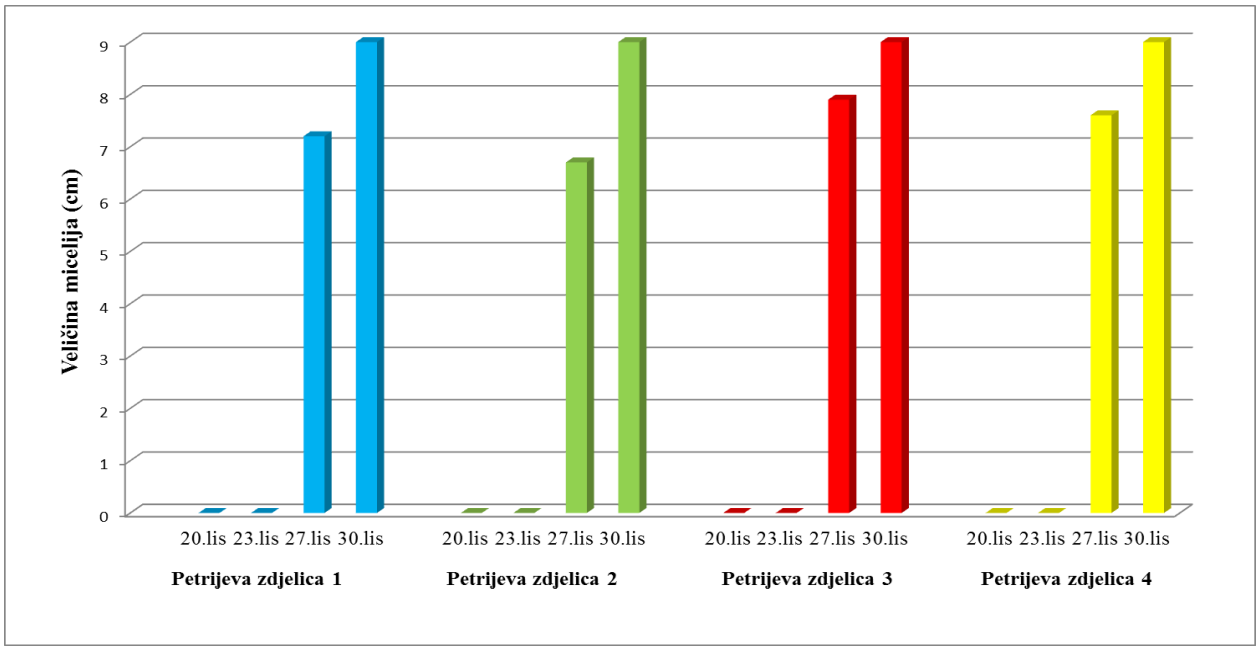
Porast micelija gljive *Sclerotium cepivorum* na PDA podlozi tijekom 10 dana na 15°C prikazan je u grafikonima 1 (pH 5,5), 2 (pH 6,5) i 3 (pH 8,0).



Grafikon 1. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 5,5



Grafikon 2. Prikaz razvoj micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 6,5



Grafikon 3. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 8,0

Na temperaturi 22°C tri dana od nacjepljivanja micelij se najbolje razvijao na pH 5,5, a najslabije na pH 8,0 (tablica6).Analizom varijance i LSD testom utvrđene su statistički vrlo značajne razlike u porastu micelija na podlozi čiji je pH 5,5 u odnosu na porast na podlozi s pH 8,0 (tablica 7.).

Tablica 6. Razvoj micelija 3 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C

Datum mjerenja 23.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-22°C**	**PH 6,5-22°C**	**PH 8,0-22°C**
Veličina micelija	1	2,2	2,5	1,3
	2	2,4	2,3	1,3
	3	3,2	1,9	1,6
	4	3,6	1,8	1,4
	Srednja vrijednost	2,80	2,13	1,40

Tablica 7. Analiza varijance za mjerenje provedeno 23.10.2015 na 22°C

IZVORI VAriJACIJA	**STUPNJEVI SLOBODE**	**SUMA KVADRATA**	**SREDINA KVADRATA**	**F test**
TRETMANI	2	4,2050	2,1025	11,147**
POGREŠKA	9	1,6975	0,1886	
UKUPNO	11	5,9025		
LSD 0,05	0,6946			
LSD 0,01	0,9980			

U drugom mjerenju 7 dana nakon nacjepljivanja (tablica 8) porast micelija bio najbolji na pH 6,5 (8,2 cm), a najslabiji na podlozi pH vrijednosti 8,0. Provedena analiza varijancei LSD test pokazuju da nema statistički značajnih razlika između tretmana (tablica 9).

Tablica 8. Razvoj micelija 7 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C

Datum mjerenja 27.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-22°C**	**PH 6,5-22°C**	**PH 8,0-22°C**
Veličina micelija	1	8,3	7,8	8,7
	2	7,7	8,5	7,8
	3	7,9	8,4	8,2
	4	8,5	8,0	7,2
	Srednja vrijednost	8,10	8,20	7,98

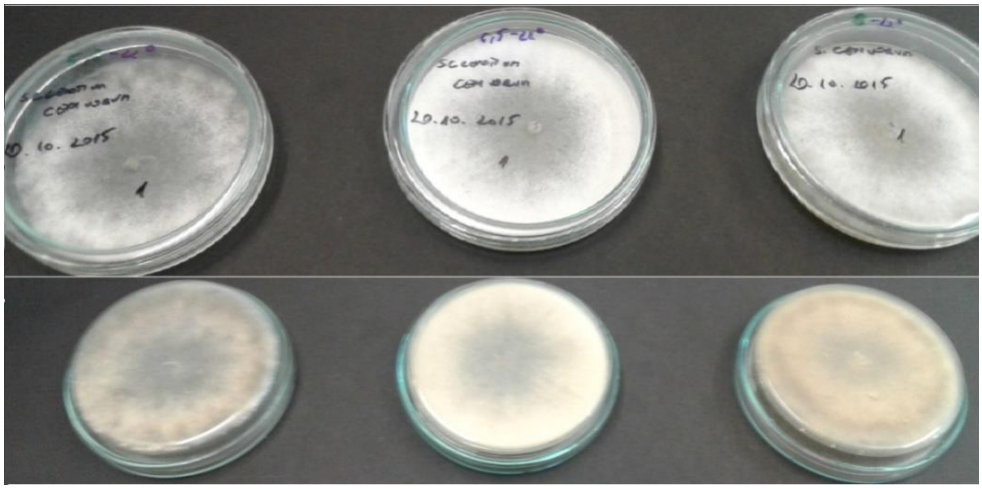
Tablica 9.Analiza varijance za mjerenje provedeno 27.10.2015 na 22 °C

IZVORI VAriJACIJA	**STUPNJEVI SLOBODE**	**SUMA KVADRATA**	**SREDINA KVADRATA**	**F test**
TRETMANI	2	0,0818	0,0409	0,1903
POGREŠKA	9	1,9350	0,2150	
UKUPNO	11	2,0168		
LSD 0,05	0,7416			
LSD 0,01	1,0656			

Nakon 10 dana od nacjepljivanja na podloge različitih pH vrijednosti i pri temperaturi od 22 °C micelij je također u potpunosti prerastao petrijeve zdjelice te je promjer micelija iznosio 9,0 cm.

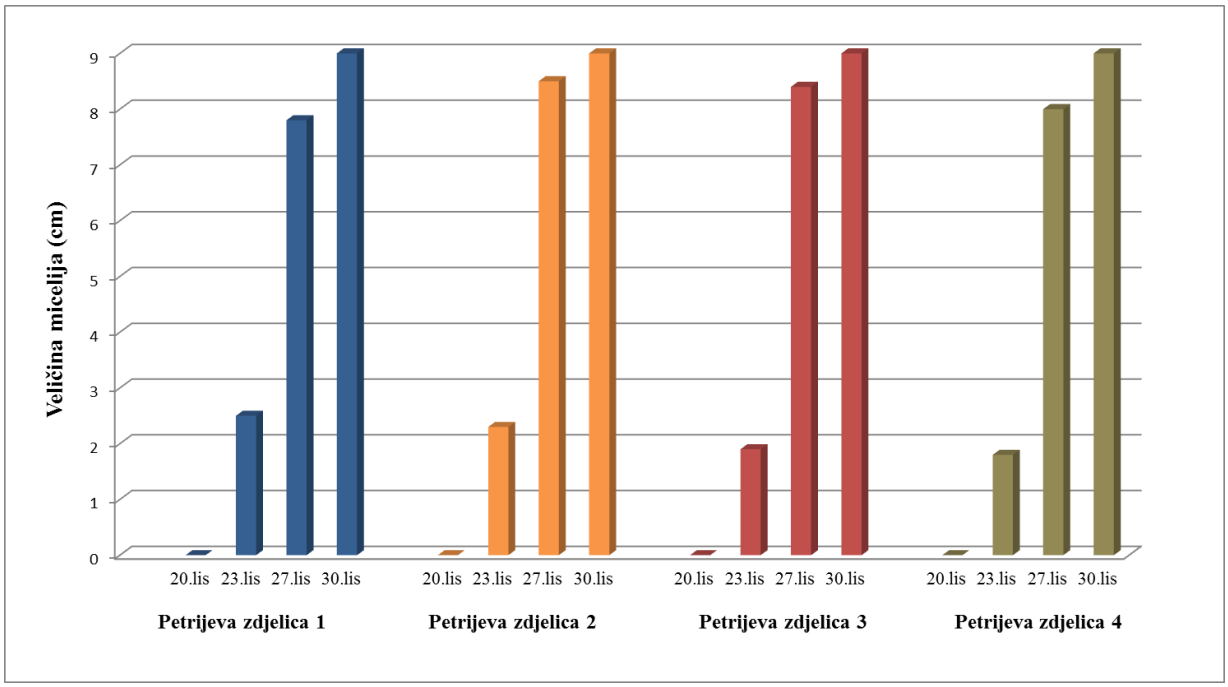
Tablica 10. Razvoj micelija 10 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C

Datum mjerenja 30.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-22°C**	**PH 6,5-22°C**	**PH 8,0-22°C**
Veličina micelija	1	9,0	9,0	9,0
	2	9,0	9,0	9,0
	3	9,0	9,0	9,0
	4	9,0	9,0	9,0
	Srednja vrijednost	9,00	9,00	9,00

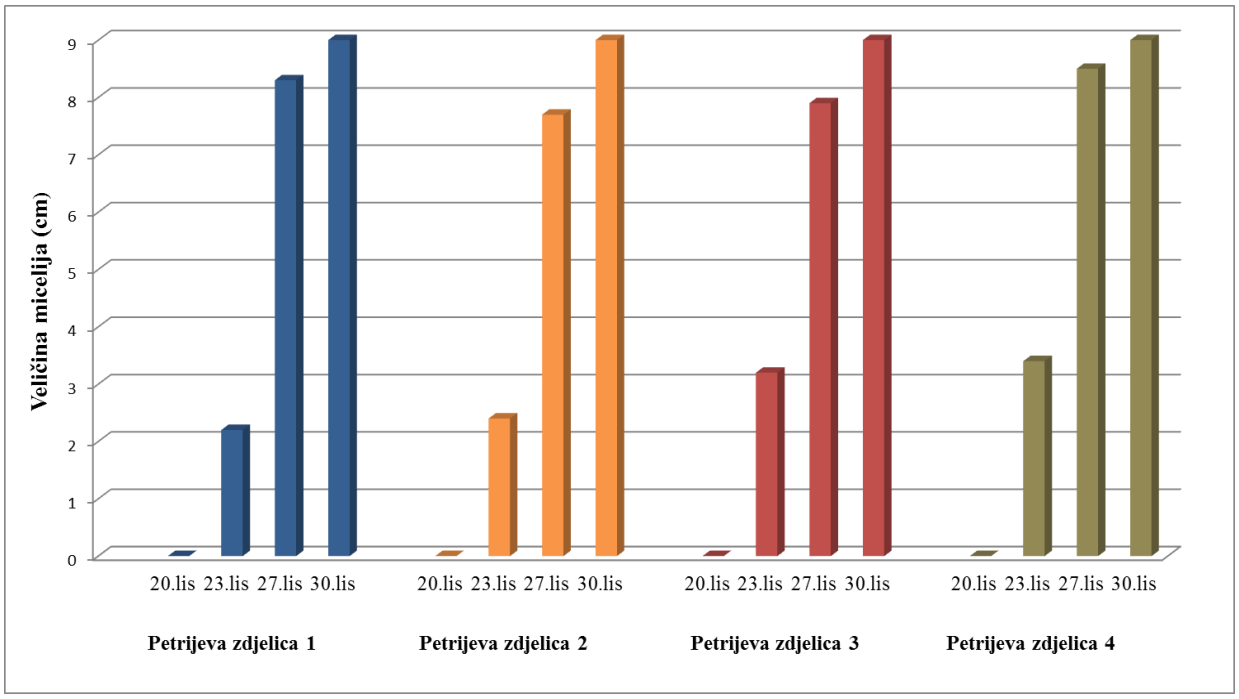


Slika 5. Izgled micelija na PDA podlozi pri 22 °C (foto: Goran Šuman)

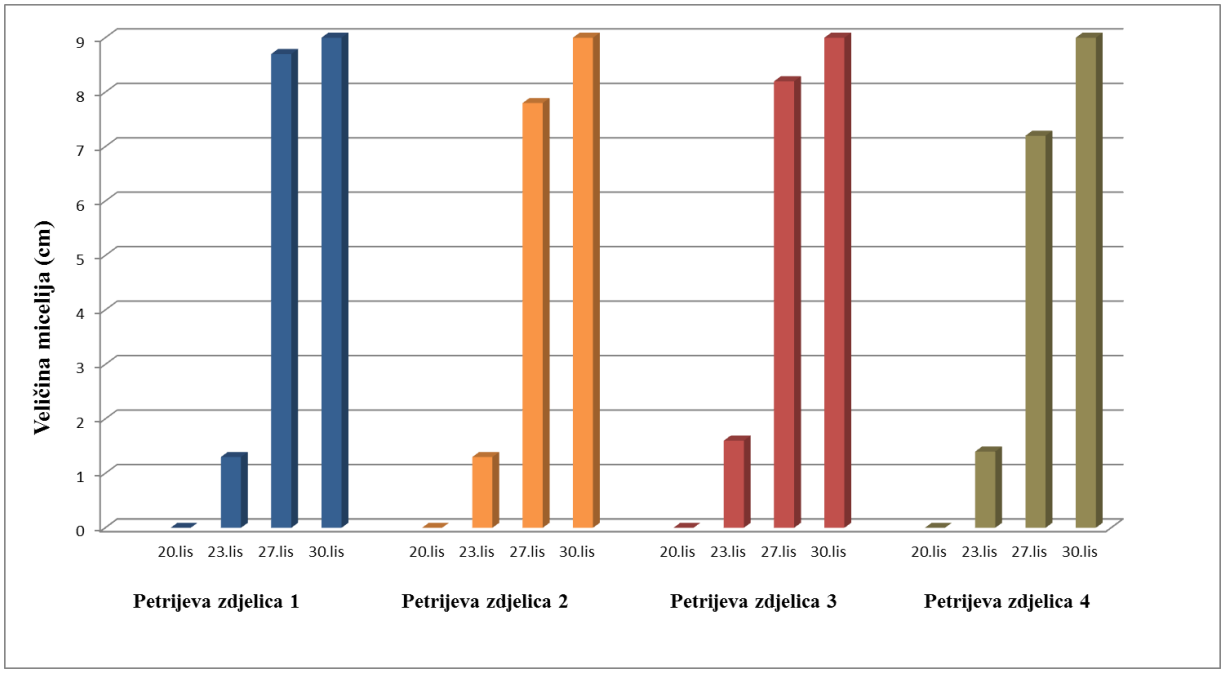
Porast micelija gljive *Sclerotium cepivorum* na PDA podlozi tijekom 10 dana na 22°C prikazan je u grafikonima 4 (pH 5,5), 5 (pH 6,5) i 6 (pH 8,0).



Grafikon 4. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 5,5



Grafikon 5. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 6,5



Grafikon 6. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 8,0

Tijekom cijelog pokusa u trajanju od 10 dana, micelij gljive uopće se nije razvio pri temperaturi od 30 °C bez obzira na kiselost PDA podloge (tablica 11).

Tablica 11. Porast micelija 10 dana od nacjepljivanja pri 30 °C

Period trajanja pokusa 23.10.2015-30.10.2015				
pH vrijednost i temperatura		**PH 5,5-30°C**	**PH 6,5-30°C**	**PH 8,0-30°C**
Veličina micelija	1	0,0	0,0	0,0
	2	0,0	0,0	0,0
	3	0,0	0,0	0,0
	4	0,0	0,0	0,0

5. RASPRAVA

Mnogi autori navode da su temperature između 9 i 22 °C povoljne za klijanje sklerocija, a bolest serazvija u temperaturnom rasponu između 6 i 25°C.

Istraživanje provedeno na Novom Zelandu 2001. godine sklerocije gljive *S. Cepivorum*stavljene su na PDA podlogu, a petrijeve zdjelice su držane u termostat komori na 20, 30, 35, 40, 45 i 50 °C. Mjerenja su vršena nakon 6 i 12 h, a zatim nakon 2, 8,16 i 28 dana. Na kraju je utvrđeno da su sklerocije pri temperaturama većim od 30 °C već nakon 8 dana prestale klijati, također je utvrđeno da su sklerocije pri visokim temperaturama potpuno degradirane, pucaju i raspadaju se te prestaju biti vitalne (Adams, 1987.).

Bakterije i mikroorganizmi naseljavaju pukotine sklerocija nakon što se sklerocija raspadne i oslabi pri visokim temperaturama (Lifshitz i sur., 1983.).

Također je utvrđeno da sklerocije klijaju u temperaturnom rasponu između 9 i 24 °C te da vlažnije tlo povećava količinu inokuluma (Entwistle, 1990.).

Sklerocije gljive *S. cepivorum* različito kliju u tlima različitih pH vrijednosti. Tako je u tlu čija je pH 4,8 klijavost bila 20 % od ukupnog broja sklerocija, u tlu pH vrijednosti 6,0 iznosila je 60 % dok je u tlu pH vrijednosti 7,6 klijavost bila 95 % (Coley-Smith i sur., 1987.).

U istraživanjima provedenim u Australiji gljiva *S. cepivorum* se najbolje razvijala u kiselim tlima pri pH 5,5 do 6,5 dok seu alkalnim tlima pH vrijednosti 7,5 do 8 sklerocije nisu razvijale (Harrison, 1954.).

U pokusu provedenom u SAD-u, izolirana je gljiva iz biljaka starih 4 tjedna, nacjepljenja na podlogu krumpir-mrkva agar (PCA) te je utvrđeno da je najbolje klijanje gljive bilo pri 20 °C i pH vrijednosti 5,5 do 6,0 (Adams i sur.).

Sklerocije klijaju pri pH vrijednostima između 4,8 i 8,5 (Entwistle i Granger, 1977.), a do pada klijavosti sklerocija dolazi u vlažnijim tlima (Crowe i Hall, 1980.).

Porastom temperature smanjuje se postotak klijavih sklerocija, tako da je potrebno samo nekoliko sati dnevno temperature iznad 45 °C da bi uginulo 50 % sklerocija (Adams, 1987.).

Istraživanjima provedenim od 2003. do 2005. godine u Etiopiji u Debre Zeit-u gdje je prosječna temperatura 16 °C uz 850 mm godišnjih oborina, utvrđeno je da se *S. Cepivorum*najbolje može suzbiti fungicidima na bazi djelatnih tvari tebukonazol, mankozeb i kaptan. Prosječan broj sklerocija bio je 42 na 500 g tla. Nakon tretiranja tebukonazolom taj broj se smanjio na 25 skelrocija na 500 g tla, a nakon tretiranja kaptanom broj sklerocija je bio 31 na 500 g tla (Zewide i sur.).

Kompostiranjem otpada uvelike se može smanjiti broj sklerocija u tlu, s obzirom da otpad potiče razvoj mikroorganizama i parazitnih gljivica (*Trichoderma spp*.) koji djeluju na gljivu (De Ceuster i Hoitink, 1999., Hoitink i Fahy, 1986.).

Ararsa i Thangavel (2013.) radili su tretiranje različitim sojevima iz roda *Trichoderma*. Tako je *T. hamatum* imala najveći učinak od 59,3 %, zatim *T. harzianum* 53,3 %, *T. oblongisporum* 52,7 %, *T .viride* 51,8 % i *T. asperillum* 50,2 %.

Brix i Zinkernagel (1992.) utvrdili su da spojevi koji se nalaze u češnjaku tj. 1 propyl i 2 propenyl (diallyl) disulphide-DDS potiču klijanje *S. cepivorum*. Tako je utvrđeno da je broj sklerocija porastao za 20 do 30 % nakon izloženosti DDS-u u trajanju od 2 mjeseca. Analizama rađenim na Novom Zelandu u razdoblju od 6 mjeseci, gdje je izolirano 5 posudica s po 25 sklerocija, utvrđeno je da se broj sklerocija nakon jednog mjeseca povećao od 20 do 40 %, da bi nakon 6 mjeseci porovedenih istraživanja taj broj bio između 89 i 98 %.

Nakon provedenih istraživanja u SAD-u u periodu od 1998.-2001. godinena 3 lokacije u Kaliforniji i Nevadi, podijeljenih u 4 pokusa u kojima su korišteni metil bormid, diallyl disulfid i češnjak u prahu, utvrđeno je da senajbolji rezultati postižu nakon tretiranja DDS-om i metil bromidom gdje je uništeno preko 90 % sklerocija, dok je nešto slabiji rezultat bio nakon tretiranja prahom češnjaka (Davis i sur.).

6. ZAKLJUČAK

Na temelju dostupne literature i dobivenih rezultata nakon provedenog istraživanja koje je obavljeno u *in vitro* uvjetima na Poljoprivrednom Fakultetu u Osijeku možemo donijeti sljedeće zaključke:

- Gljiva *S. cepivorum* uzrokuje velike probleme u proizvodnji češnjaka, što dovodi do velikih ekonomskih šteta i gubitka prinosa i do 50 %.
- Optimalne temperature koje pogoduju razvoju gljive su od 15 do 25 °C, dok pri temperaturama iznad 30 °C i ispod 5°C nisu pogodne.
- U našem istraživanju najbolji razvoj micelija bio je pri temperaturama 15 i 22 °C, dok sena 30 °C micelij uopće nije razvio.
- PDA podlogapogodna je za razvoj micelija gljive.
- Gljiva se može razvijatina pH vrijednostima između 5,5 i 8,0 što je i potvrđeno našim istraživanjem.

7. POPIS LITERATURE

1. Adams, P.B. (1987.): Effects of soil temperature, moisture and depth on survival and activity of Sclerotinia minor, Sclerotium cepivorum and Sporidesmium sclerotivorum. Plant Disease 71:170-174.

2. Adams, P.B.Papavizas, G.C. (1971.): Effectof inoculumdensity of Sclerotiumcepivorum and somesoil environmental factors on disease severity, 1253-1256.

3. Andrea, T.B., Emma, Z.M., Carmen, G.C., Ronald, F.C., (1996.): The use of arbuscular mycorrhizae to control onion white rot (Sclerotium cepivorum Berk) under field conditions. Mycorrhizae 6, 253–257.

4. Amin, M., Tadele, S., Selvaraj, T., (2014.): White rot (Sclerotium cepivorum Berk) – an aggressive pest of onion and garlic in Ethiopia: An overview. Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development, 6(1):6-15.

5. Avila De Moreno, C. (1991.): Chemical control of Sclerotium cepivorum Berk. causing white rot of garlic. Fitopatol. Colombiana 15:62–69.

6. Ararsa L, Thangavel S. (2013.): Evaluation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Trichoderma Species for the Control of Onion White Rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) J. Plant Pathol. Microbiol., 4:159.

7. Bob, E.. Ferry, A,. Turini, T.. Crowe, F. (2012.): White rot on Onion and Garlic: Symptomps and Controls, University of California agriculture & natural resources, California Onion and Garlic Research Advisory Board Resources.

8. Brix, H. D.; Zinkernagel, V. (1992.): Effects of cultivation, conditioning and isolate on sclerotium germination in Sclerotium cepivorum. Plant Pathology, 41: 13-19.

9. Cherry, K. (2008.): Sclerotium cepivorum. Deparment of plant patology, NC State University.

10. Coley-Smith, J.R., Parfitt, D., Taylor, I.M. (1987.): Studies of dormancy in sclerotia of Sclerotium cepivorum Berk. Plant Pathol. 36, 594–599.

11. Coventry, E.; Noble, R.; Mead, A.; Whipps, J.M. (2012.): Control of Allium white rot (Sclerotium cepivorum) with composted onion waste, Soil biochem, 34, 1037-1045.

12. Crowe, F.J., Hall, D.H., Greathead, A.S., Baghott, K.G. (1980.): Inoculums density of Sclerotium cepivorum and the incidence of white rot of onion and garlic. Phytopathology 70, 64–69.

13. Davis, R. M.; Hao, J. J.; Romberh, M. K., Nunez, J.J.; Smirth, R.F. (2007.): Efficacy of Germination Stimulants of Sclerotia of *Sclerotium cepivorum* for Management of White Rot of Garlic.Department of Plant Pathology, University of California, Davis, University of California Cooperative Extension, Bakersfield, University of California Cooperative Extension, Salinas, 204-208.

14. De Ceuster, T.J.J., Hoitink, H.A.J. (1999.): Prospects and biocontrol agents as substitutes for methyl bromide in biological control of plant disease. Compost Sci. Util. 7:6–15.

15. Entwistle AR, Granger J. (1977.): Sclerotium germination studies. Report of the National Vegetable Research Station for the British Society for the Promotion of Vegetable Research, Wellesbourne, Warwick, UK, 97-98.

16. Entwistle A. R. (1990.):Root diseases, in Onions and Allied Crops: Volume 11 - Agronomy, Biotic Actions, Pathology, and Crop Protection, (eds H. D. Rabinowitch and J. L. Brewster) CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida,103-154.

17. Entwistle, A.R. (1990.): Measuring net changes in populations of Sclerotium cepivorum sclerotia to evaluate the long term potential of control measures. U: Entwistle, A.R., Mattusch, P. (Eds.). Proceedings of fourth international workshop on Allium white rot. Neustdat/Weinstrasse, 59–68.

18. Fullerton, R.A., Stewart, A. (1990.): Chemical control of onion white rot (Sclerotium cepivorum Berk) in the Pukekohe district of New Zealand. NZ J. Crop Horticult. Sci. 19:121–127.

19. Harrison, D.E. (1954.): Whiterot of onionsinVictoria. J.Dep.Agr.Victoria,52:510-520,525.

20. Hrvatska enciklopedija, http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=48063

21. Hoitink, H. A. J; Fahy, P. C. (1986.): Basis oft he control of soil born eplant pathogens with compost. Annual review of Phytopathology 24:93-114.

22. Lifshitz, R., Tabachnik, M., Katan, J., Chet, I. (1983.): The effect of sublethal heating on sclerotia of Sclerotium rolfsii. Canadian Journal of Microbiology 29:1607-1610.

23. Katan J. (1986.): Soil Solarization, in Innovative Approaches to Plant Disease Control. Wiley Interscience, New York, 77-106.

24. Maude R. B. (2006.): Onion Diseases. Kaye and Springer.

25. Mclean, K. L., Harper, G. E., Frampton, C. M., Stewart, A. (2005.): Dormancy of slerotium cepivorum sclerotia in New Zeland solis. Nation Centre for advanced bio-protection techologies, Lincoln University, Canterbury, New Zeland

26. Mclean, K. L., Swaminathan, J., Stewart, A. (2001.): Increasing soil temperature to reduce sclerotial viability of Sclerotium cepivorum in New Zealand soils; Soil, Plant and Ecological Sciences Division, Plant Sciences Group, P.O.Box 84, Lincoln University, Canterbury, New Zealand.

27. Melero-Vara, J.M., Parados-Ligero, A.M., Basallote, U.M.S. (2000.): Comparison of physical and chemical and biological methods of controlling garlic white rot. Eur. J. Plant Pathol. 166:581–588.

28. Maceljski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Igrc Barčić, J., Pagliarini, N., Oštrec, LJ., Barić, K., Čizmić, I.: (2004.): Štetočinje povrća. Zrinski Čakovec.

29. Obradović, A., Moravčević. Đ., Sinčev, I., Vajgand, D., Rekanović, E.: (2011.): Priručnik za integralnu proizvodnju i zaštitu crnog luka. Institut za primenu nauke u poljoprivredi, Beograd.

30. Perez, M.L., Salinas, G.J., Redondo, J.E. (1994.):Main disease on Allium species in Mexico with emphasis on white rot (Sclerotium cepivorum Berk.). Proceedings of the Fifth International Workshop on Allium white rot, 6–11.

31. Pinto, C.M.F., Mafia, L.A., Casali, V.W.D., Berger, R.D., Mizubuti, E.S.G. (1994.): Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. Plant Dis. 82:1142–1146.

32. Vrandečić, K., Jurković, D., Ćosić, J.: Sistematika gljiva, Fitopatologija II, http://www.pfos.hr/upload/documents/Sistematika%20gljiva%20-%20fito%202%20parazitski%20%C5%A1teto%C4%8Dine%20vo%C4%87njaci%20i vino.pdf

33. Zewide, T., Fininsa, C., Sakhuja, P. K. (2007.): Management of white rot Sclerotium cepivorum of garlic using fungicides in Ethiopia. Deparment of plant sciences, Haramaya University, Dire Dawa, Ethiopia, 1566-1573.

34. Zewide, T.; Fininsa, C,; Sakhuja, P. K. (2007.): Association of white rot of garlic with enviromental factors and cultural practices in the Nort Shewa highlands of Ethiopia. Deparment of plant sciences, Haramaya University, Ethiopian Institute of Agricultural Research, Addis Ababa, Ethiopia, 856-866.

35. Zeray, S. (2011.): Distribution and Management of Garlic White Rot in Northern Ethiopia: Distribution, Significance and Management of Garlic White Rot in Northern Ethiopia. Ambo University, Ambo Ethiopia.

8. SAŽETAK

Gljiva *Sclerotium cepivorum* je zemiljišni i fakultativni parazit i uzrokuje velike štete na *Allium* vrstama. Uzročnik je bijele truleži luka i češnjaka. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj temperature i pH vrijednosti na rast micelija gljive *Sclerotium cepivorum*. Pokus je proveden u *in vitro* uvjetima u četiri ponavljanja. Gljiva je uzgajana na temperaturama 15, 22 i 30°C, svjetlosnom režimu 24 sata tama te pri pH vrijednosti PDA podloge 5,5, 6,5 i 8,0. Porast micelija mjeren je tri puta tijekom deset dana. Micelij gljive uspješno se razvio pri 15 i 22 °C i svim navedenim pH vrijednostima podloge dok se micelij natemperaturi 30 °C i svim pH vrijednostima podloga nije razvio.

Ključne riječi: pH vrijednost, *Sclerotium cepivorum*,PDA, temperatura

9. SUMMARY

The fungus *Sclerotium cepivorum* is soil and facultative parasite that causes great damage to *Allium* species. The causative agent of white rot of onion and garlic. The aim oft his study was to determine the infuence of temperature and pH on the growth oft he mycelium fungus *Sclerotium cepivorum*. The experiment was performed *in vitro* with four repetitions. The fungus was grown at temperatures of 15, 22 and 30 °C, using 24 hours of light and dark at a pH 5.5, 6.5, 8.0 PDA substrate. Mycelium growth was measured three times over ten days. Mycelium successfully developed at 15 and 22 °C and all pH values and the mycelium at a temperature of 30 °C and the pH values of all substrate is not developed.

Keywords: pH value, Sclerotium cepivorum, PDA, teperature

10.POPIS TABLICA

Tablica 1. Razvoj micelija 3 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C.....6

Tablica 2. Analiza varijance za mjerenje provedeno 23.10.2015 na 15 °C.....7

Tablica 3. Razvoj micelija 7 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C.....7

Tablica 4. Analiza varijance za mjerenje provedeno 27.10.2015 na 15 °C.....8

Tablica 5. Razvoj micelija 10 dana nakon nacjepljivanja pri 15°C.....8

Tablica 6. Razvoj micelija 3 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C.....11

Tablica 7. Analiza varijance za mjerenje provedeno 23.10.2015 na 22 °C.....11

Tablica 8. Razvoj micelija 7 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C.....12

Tablica 9. Analiza varijance za mjerenje provedeno 27.10.2015 na 22 °C.....12

Tablica 10. Razvoj micelija 10 dana nakon nacjepljivanja pri 22°C.....13

Tablica 11. Porast micelija 10 dana od nacjepljivanja pri 30 °C..... 15

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Simptomi na luku nakon zaraze *S. cepivorum*(Izvor:https://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/sclerotium_cepivorum/Sclerotium_cepivorum.html).....2

Slika 2. Prikaz sklerocija gljive (Izvor:https://bib.irb.hr/datoteka/758246.luk_arci_zadnja.pdf).....3

Slika 3. Precijepljivanje gljive na PDA podlogu u laminariju (foto: GoranŠuman).....5

Slika 4. Izgled micelija na PDA podlozi pri 15 °C (foto: Goran Šuman).....9

Slika 5. Izgled micelija na PDA podlozi pri 22 °C (foto: Goran Šuman).....13

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 5,5.....9

Grafikon 2. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 6,5.....10

Grafikon 3. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 15 °C i pH 8,0.....10

Grafikon 4. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 5,5.....14

Grafikon 5. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 6,5.....14

Grafikon 6. Prikaz razvoja micelija tijekom 10 dana pri 22 °C i pH 8,0.....15

TEMELJA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

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

Utjecaj pH hranjive podloge na rast gljive *Sclerotium cepivorum*

Goran Šuman

Sažetak
Gljiva *Sclerotium cepivorum* je zemiljišni i fakultativni parazit, uzrokuje velike štete na *Allium* vrstama. Uzročnik je bijele truleži luka i češnjaka. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj temperature i pH vrijednosti hranjive podloge krumpira-krumpir dekstrozni agar (PDA) na rast micelija gljive *Sclerotium cepivorum*. Pokus je proveden u *in vitro* uvjetima u četiri ponavljanja. Podloge su bile nacjepljene u 36 petrijevih zjedlica pri tri pH vrijednosti (5,5; 6,5; 8,0) te u termostat komori na temperaturama 15, 22 i 30°C i svjetlosnom režimu 24 sata tama. Porast micelija mjeren je tri puta tijekom deset dana. Najbolji razvoj micelija gljive bio je pri 15 i 22 °C i navedenim pH vrijednostima podloge, dok se micelij pri temperaturi od 30 °C i sve tri pH vrijednostima podloga nije razvio.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 27
Broj grafikona i slika: 6
Broj tablica: 11
Broj litetaturnih navoda: 35
Broj priloga: -
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: pH vrijednost, *Sclerotium cepivorum*,PDA, temperatura,

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. Prof. dr. sc. Vlatka Rozman, član

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek Graduate thesis
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies, Plant production, course Plant Protection

Influence of pH of nutrition media on growth of *Sclerotium cepivorum*

Goran Šuman

Abstract
The fungus *Sclerotium cepivorum* is soil and facultative parasite that causes great damage to *Allium* species. The causative agent of white rot of onion and garlic. The aim oft his study was to determine the infuence of temperature and pH on the growth oft he mycelium fungus *Sclerotium cepivorum*. The experiment was performed *in vitro* with four repetitions. The fungus was grown at temperatures of 15, 22 and 30 °C, using 24 hours of light and dark at a pH 5.5, 6.5, 8.0 PDA substrate. Mycelium growth was measured three times over ten days. Mycelium successfully developed at 15 and 22 °C and all pH values and the mycelium at a temperature of 30 °C and the pH values of all substrate is not developed.

Keywords: pH value, Sclerotium cepivorum, PDA, teperature

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: DSc Jasenka Ćosić, Full Professor

Number of pages: 27
Number of figures: 6
Number of tables: 11
Number of references: 35
Number of appendices: -
Original in: Croatian

Key words: pH value, Sclerotium cepivorum, PDA, teperature

Thesis defended on date:

Reviewers:
1. DSc Karolina Vrandečić, Associate Professor, chair
2. DSc Jasenka Ćosić, Full Professor, mentor
3. DSc Vlatka Rozman, Full Professor, member

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