UTJECAJ HRANJIVE PODLOGE I TEMPERATURE NA RAZVOJ GLJIVE

Jukić, Antonija

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 Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:329558

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 U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Antonija Jukić

Sveučilišni diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

UTJECAJ HRANJIVE PODLOGE I TEMPERATURE NA RAZVOJ GLJIVE *Chalara elegans*

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Antonija Jukić

Sveučilišni diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

UTJECAJ HRANJIVE PODLOGE I TEMPERATURE NA RAZVOJ GLJIVE *Chalara elegans*

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. Nada Parađiković, član

Osijek, 2015.

Sadržaj

1. Uvod ... 1

2. Pregled literature ... 2

2.1. Chalara elegans ... 2

2.2. Utjecaj temperature na razvoj fitopatogenih gljiva ... 4

2.3. Utjecaj hranjivih podloga na razvoj fitopatogenih gljiva ... 5

2.4. Utjecaj eteričnih ulja na fitopatogene gljive ... 6

3. Materijali i metode ... 10

3.1. Priprema hranjivih podloga ... 10

3.2. Nacjepljivanje uzoraka na podlogu ... 11

3.3. Utjecaj eteričnih ulja na porast Chalare elegans ... 11

3.4. Umjetna infekcija mrkve ... 12

4. Rezultati ... 14

5. Rasprava ... 21

6. Zaključak ... 22

7. Popis literature ... 23

8. Sažetak ... 26

9. Summary ... 27

10. Popis tablica ... 28

11. Popis slika ... 29

Temeljna dokumentacijska kartica

Basic documentation card

1. Uvod

Temperatura je jedan od bitnih čimbenika koji utječe na rast i razvoj gljive, a svaka gljiva ima specifične temperature pri kojima se razvija. Kada govorimo o temperaturi misli se prvenstveno na temperaturu zraka iako neki znanstvenici tvrde da je bitna i sama temperatura biljnoga organa unutar kojega se gljiva razvija.

U današnje vrijeme sve se više govori o zaštiti okoliša te potrebi smanjenja uporabe sintetički proizvedenih sredstava za zaštitu bilja. Znamo da je u današnje vrijeme biljna proizvodnja gotovo nemoguća bez uporabe sintetičkih fungicida, ali oni ostavljaju rezidue u tlu i hrani, te doprinose stvaranju rezistentnih patogena zbog često nesavjesne i neprimjerene upotrebe. Isprva su fungicidi smatrani relativno sigurnim, ali kasnija su istraživanja dokazala suprotno, oni često imaju kancerogeno djelovanje na čovjeka (Wilson i sur., 1997.). Upravo je iz toga razloga bitno istraživati alternativne načine zaštite biljaka. Zbog toga korištenje eteričnih ulja postaje sve zanimljivije u cilju iznalaženja novih komponenti za proizvodnju biofungicida.

Cilj ovoga diplomskoga rada jest utvrditi kako različite podloge i temperature utječu na brzinu razvoja gljive *Chalara elegans* te istražiti djelovanje osam eteričnih ulja na razvoj navedene gljive. Ispitivan je utjecaj PDA podloge, vodenog agara i podloge od mrkve pri uzgoju gljive na tri temperature (15°C, 20°C, 25°C). Pri ispitivanju djelovanja eteričnih ulja gljivu smo uzgajali na dvije različite podloge te je uspoređen utjecaj ulja lavande, timijana, anisa, mente, bijeloga bora, klinčićevca, gorke naranče i kadulje.

2. Pregled literature

2.1. Chalara elegans

Chalara elegans je uzročnik crne truleži korijena, a gljiva parazitira na više od 15 biljnih porodica (Walker, 2008.). Po načinu ishrane faklultativni je parazit (Josifović, 1956.). Nalazi se u tresetištima, a na uzgojne površine često dolazi u supstratima za sadnju (Leahy, 1998.).

Gljiva je izolirana i prvi puta identificirana 1938. godine na pamuku u Sacatonu, SAD (King i Presley, 1942.). Kasnije je utvrđena i na duhanu. Od povrća su na zarazu najosjetljivije *Solanaceae*, a zaraza se ostvaruje u prvim stadijima vegetacije (Slika 1.) (Maceljski i sur., 2004.). Najvažnije poljoprivredne kulture koje su domaćini ovoj bolesti su mrkva, grah, duhan, pamuk, kikiriki i maćuhice (Hood i Shew, 1996.).



Slika 1. Korijen mlade biljke zaražen gljivom *Chalara elegans* (izor: http://comp.uark.edu/~rothrock/tbroot.jpg)

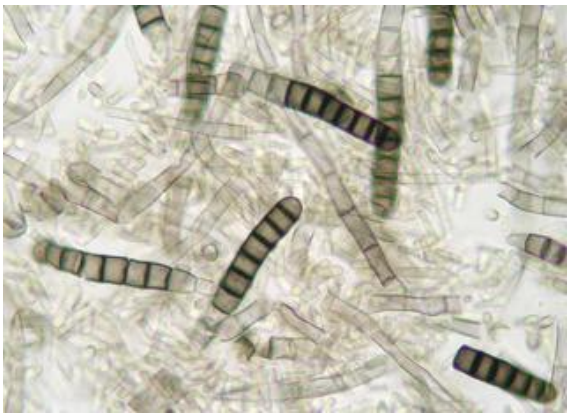
Zaraza i njezin intenzitet ovise o više faktora uključujući: osjetljivost kultivara, soj *C. elegans* koji je prisutan u trenutku infekcije te količini inokuluma (Trebilco i sur, 1999.). Bolest se javlja pojedinačno i zahvaća manje ili veće dijelove klijališta u oazama (Maceljski i sur., 2004.). Kod utvrđivanja zaraze često dolazi do pogrešnih dijagnoza jer se simptomi bolesti često mjenjaju sa simptomima suviška ili manjka vode, simptomima ozljeda nastalih zbog hladnoće ili previsokih temperatura ili se pak

može zamjeniti s *Rhizoctonia* sp. i *Pythium* sp. (Trebilco i sur, 1999.). Leahy (1998.) navodi kako pH iznad 8 i niži od 4,5 dovodi do veće mogućnosti zarazom ovom gljivom, dok Maceljski (2004.) tvrdi kako su infekcije na tlima s pH nižim od 5,6 rijetke.

Simptomi bolesti na nadzemnim dijelovima su kloroza i venuće nadzemnih dijelova, dolazi do defolijacije te zaostajanja u rastu i razvoju biljke (Walker, 2008.) dok napadnuti dijelovi korijena prvo pocrne, a nakon toga protrunu (Maceljski. i sur., 2004.). Zaraženi dijelovi korijena su oštro odjeljeni od zdravih dijelova, a zaraza najčešće kreće od središnjih dijelova otkuda se širi u svim pravcima sve dok cijeli korijen ne propadne (Ward i sur., 2012.).

Ukoliko do zaraze dolazi u kasnijim stadijima razvoja, bivaju zaražene samo pojedinačne žile koje se mjenjaju novima tako da je utjecaj *Chalare elegans* minimalan (Josifović, 1956.).

Chalara elegans se održava u obliku hlamidospora (Slika 2.) koje zadržavaju sposobnost infekcije 4 do 5 godina i primarni su izvor zaraze (Maceljski i sur., 2004.), a za vrijeme vegetacije gljiva se širi konidijama. Hlamidospore se formiraju u kratkim nizovima koji se kasnije razbijaju pa hlamidospore dolaze pojedinačno (Walker, 2008.). Bolest se razvija u temperaturnom rasponu od 12 do 23 °C, dok je optimalna temperatura za njen razvoj od 17 do 23°C (Maceljski i sur., 2004.). Kod temperatura od 26 do 30°C i osjetljive sorte duhana postaju otporne na napad *C. elegans* (Josifović, M., 1956.).



Slika 2. Izgled hlamidospora *C. elegans* (Izvor: http://www.discoverlife.org/IM/I_MWS/0730/320/Thielaviopsis_basicola,I_MWS73070.jpg)

*Chalara elegans*na mrkvi se spominje kao skladišna bolest koja uništava korijen biljke nakon što se on skladišti pri visokoj vlažnosti i temperaturi. Razvija se na svim korijenima mrkve, bez obzira na način njihovoga uzgoja, a simptome infekcije u vidu hlamidospora, koje su vidljive po cijelomu korijenu, možemo vidjeti nakon inkubacije u plastičnim vrećicama. Prvi simptomi infekcije vidljivi su već nakon pet dana čuvanja mrkve na sobnoj temperaturi (Weber i Tribe, 2004.).

Bolest se razvija sporadično te ne postoje sredstva koja učinkovito smanjuju pojavu bolesti nakon vađenja. Pojava bolesti je češća na korijenu koji je nakon berbe podvrgnut dodatnim operacijama kao što su pranje, sortiranje i klasiranje čime se korijen oštećuje. Razvoj bolesti je najuočljiviji na plodovima koji su pakirani u plastične vrećice i skladišteni na temperaturi od 20 do 25°C. Također, mrkva koja je tretirana kalcijevim propionatom i kalijevim karbonatom bila je otpornija na pojavu zaraze, ali primjena ovih kemijskih sredstava nije ekonomski opravdana (Punja, 1993.).

2.2. Utjecaj temperature na razvoj fitopatogenih gljiva

Iako su u prirodi prisutni odgovarajući domaćin i patogen do zaraze neće doći ukoliko okolišni uvjeti nisu odgovarajući. Čimbenici kao što su vlažnost, temperatura i pH tla, mogu uvelike utjecati na pojavu bolesti. Kontrolirajući ove čimbenike smanjuje se ili u potpunosti sprječava pojava bolesti. Tako temperatura utječe na trajanje vremena infekcije, inkubacije i latentni period (Keane i Kerr, 1997.).

U laboratoriju je proučavan utjecaj temperature na razvoj gljive *Sphaeropsis pyriputrescens*. Gljiva je inkubirana na temperaturama -3, 0, 5, 10, 15, 17, 20, 22, 25, 30 i 35°C. Utvrđen je porast gljive pri temperaturama od -3 do 25°C, s tim da je optimalna temperatura za njen razvoj 20°C, a na temperaturi od 30°C gljiva se nije razvijala (Kim i Xiao, 2005.).

Granke i Hausbeck (2010.) su radili istraživanje u kojemu su ispitivali patogenost *Phytophtora capsici* na krastavce kornišone. Ispitivali su utjecaj temperatura u rasponu od 10 do 35 °C na zarazu pri čemu su utvrdili da se bolest nije razvijala na temperaturi od 10 i 30 °C. Najbrži razvoj bolesti zabilježili su na temperaturi od 25°C, dok se ista bolest na paprici bolje razvijala na 27°C.

Biljni patogen *Lasiodiplodia theobromae* se razvija u temperaturnom rasponu od 4 do 30°C, s tim da je optimalna temperatura za razvoj gljive 28°C, dok rast na temperaturi od 40°C nije zabilježen (Saha i sur. 2008.).

Kod istraživanja koja su provođena s *Rhizoctonia solani* utvrđeno je da su optimalne temperature za razvoj ovoga biljnog patogena između 20 i 24° C (Ritchie i sur., 2009.).

Siwulski i sur. (2011.) su ispitivali utjecaj temperatura na razvoj *Verticillium fungicola* i *Mycogena perniciosa*. Gljive su uzgajane na PDA podlozi na temperaturama 15, 20, 25 i 30°C, a inkubacija je trajala 21 dan. Najbolji rast kod obje gljive uočen je na temperaturama 25°C, dok je temperatura 15°C djelovala inhibitorno na razvoj obje gljive.

Phytophtora colocasiae je uzročnik plamenjače na biljci taro koja se uzgaja zbog svojih podanaka bogatih škrobom i zelenih listova. Nakon što je 2010. godine utvrđen ovaj uzročnik bolesti Gaston i sur. (2014.) proučavali su utjecaj temperatura i pH podloge na razvoj ovo gljive. Gljiva je uzgajana na V8 podlozi i inkubirana na temperaturama 18, 21, 24, 27 i 30°C. Nakon istraživanja došli su do zaključka da se povećanjem pH na temperaturama 18, 21, 24, 27 °C smanjuje sporulacija, a da je inače najpogodnija temperatura za razvoj navedenoga patogena temperatura 25°C.

2.3. Utjecaj hranjivih podloga na razvoj fitopatogenih gljiva

Gljiva *Sphaeropsis pyriputrescens* je uzgajana na OMA (podloga od zobi), MEA (slad), V-8, CDA (Čapek), AJA (podloga s jabukovim sokom), PJA (podloga s kruškinim sokom), CMA (podloga od kukuruza) i PDA podlozi. Gljiva je najbolji porast imala na PJA i AJA podlozi, dok je najmanji porast imala na CMA podlozi na kojoj je formirala tanak i oskudan micelij (Kim i Xiao, 2005.).

Lasiodiplodia theobromae se dobro razvija na PDA podlozi uz dodatak čaja korijena biljke *Camellia sinensis* pa se ova podloga preporučuje za laboratorijski uzgoj inokuluma ove gljive (Saha i sur., 2008.).

Kod ispitivanja utjecaja podloge na razvoj gljive *Rhizoctonia solani* korištena je PDA podloga, vodeni agar, MYA (podloga od slada) i SEA podloga. Najbolji razvoj je zabilježen na MYA i PDA podlozi, odnosno gljiva je pokazivala bolji razvoj na podlozi

bogatoj hranjivima ili bi se razvoj pospješio njenim prenošenjem s podloge siromašne hranjivima na podlogu koja je bogatija hranjivima (Ritchie i sur., 2009.).

Razvoj *Fusarium verticillioides, Fusarium graminearum* i *Fusarium subglutinans* praćen je 15 dana na sedam različitih podloga, koje su imale različitu pH vrijednost i na dva svjetlosna režima (24 sata tama, 12 sati svjetlo/12 sati tama). U istraživanju je korištena PDA podloga, modificirana V-8 podloga (sok od rajčice s 8 začina, zamjenjen je sokom bez začina), vodeni agar, podloga s lišćem karanfila (CLA), vodeni agar s dodatkom mljevenoga zrna pšenice (WA1), vodeni agar sa samljevenim zrnom kukuruza (WA2), vodeni agar sa djelovima stabljike kukuruza (WA3). Utvrđeno je da je na podlogama bogatijim ugljikohidratima bujnost i porast micelija značajno bolji za sve tri proučavane *Fusarium* vrste. Sporulacija *F. graminearum* bolja je na CLA podlozi i V-8 agaru, odnosno na podlogama siromašnijim ugljikohidratima. *F. verticillioides* i *F. subglutinans* su dobro sporulirali na svim podlogama (Svitlica i sur., 2011.).

Mikić i sur. (2014.) ispitivali su utjecaj podloge i temperature na razvoj micelija i formiranje sklerocija *Sclerotinia sclerotiorum*. Promatran je njen razvoj na PDA podlozi i podlozi od mrkve pri inkubaciji na temperaturama 15, 22 i 30°C. Micelij se najbrže i nabolje formirao na PDA podlozi pri temperaturi 22°C, dok se na 30°C gljiva sporo razvijala. Sklerocije su se formirale samo na PDA podlozi pri temperaturi 15 i 22 °C, dok na temperaturi 30°C ni na PDA podlozi nije dolazilo do stvaranja sklerocija.

Diaporthe helianti uzgajan je na PDA podlozi, maltz agaru, V-8 podlozi te vodenom agaru uz dodatak tkiva različitih biljnih vrsta, a sve s ciljem da se ispita utjecaj podloge na razvoj reproduktivnih struktura. Nakon nacjepljenja na podloge uzorci su inkubirani na temperaturi 24°C pri svjetlosnom režimu 12 sati svjetlo/12 sati tama. Vodeni agar s dodatcima biljnih dijelova pokazao se dobrim za razvoj askusa s askosporama. Razvoj je promatran 80 dana te je uočeno da na maltz agaru, PDA i V-8 gljiva prvo formira prozračan micelij. Najveći broj piknida uočen je na maltz podlozi te na vodenom agaru uz dodatak stabljike soje, sjemena soje i *Abutilon theophrasti* (Vrandečić i sur., 2009.).

2.4. Utjecaj eteričnih ulja na fitopatogene gljive

Eterična ulja su, prema Hrvatskoj enciklopediji, hlapljive tvari jakoga, uglavnom ugodnoga mirisa koje se dobivaju od biljaka, odnosno biljnih dijelova. Prema

kemijskome sastavu to su tvari koje su smjesa terpena, s aldehidima, esterima, alkoholima, ketonima, fenolima i drugim organskim spojevima. Teško su topljivi u vodi. Dobivaju se iz biljnoga meterijala: ekstrakcijom otapalima, prešanjem, destilacijom s vodom ili vodenom parom, te maceracijom s voskovima, mastima i masnim uljima. Kemijski sastav im se mijenja kod dužeg izlaganja svijetlu ili zraku. Primjenu su pronašla u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, proizvodnji mirisa i medicini. Manje je poznata njihova primjena u poljoprivredi.

Analizu eteričnih ulja možemo vršiti na dva načina: pomoću plinske kromatografije (GC-gas chromatography) i pomoću kombinacije plinske kromatografije i masene spektrometrije (CG- mass spectrometry (MS)) (Iacobelis i sur.2005.).

Quintanilla i sur. (2002.) su istraživali utjecaj 19 eteričnih ulja na razvoj gljive *Phytophthora infestans*, pri čemu je ispitivan utjecaj ulja na razvoj gljive u laboratoriju i u stakleniku. U laboratorijskom pokusu četiri su ulja imala zonu inhibicije veću od 80% u odnosu na kontrolu, pri čemu je ulje timijana imalo zonu ihibicije 89%, dok u stakleničkome pokusu isto ulje je imalo fitotoksično djelovanje. Ulje miloduha (*Hyssopus officinalis*) je u laboratorijskome pokusu imalo zonu inhibicije 49%, dok je u pokusima u stakleniku zaustavilo razvoj gljive i povoljno je utjecalo na rast biljke bez toksičnoga učinka.

Zbog potrebe za smanjenjem upotrebe fungicida El-Mougy i sur. (2012.) istraživali su utjecaj mješavine ulja timijana, kalcijeva klorida i biofungicida kojima su tretirali sjeme kultura kao što su rajčica, paprika i krastavac, s ciljem smanjenja pojave truleži korijena koju izazivaju gljive kao što su *Alternaria solani, Rhizoctonia solani, Macrophomina phaseolina* i *Pythium* spp. Pojava bolesti je bila značajno smanjena u odnosu na kontrolnu varijantu u pokusu. Pozitivan učinak ulja dovodi se u vezu sa stabilnošću njegovih aktivnih komponenti, a kod ulja timijana to je timol.

U istraživanju utjecaja eteričnoga ulja luka (*Allium cepa*), crnog kumina (*Nigella sativa*) i eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) na gljive *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis, Fusarium solani, Fusarium verticilloides, Sclerotinia sclerotiorum* i *Rhizoctonia solani* dobiveni su sljedeći rezultati: eterično ulje luka u potpunosti inhibira razvoj gljiva *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Fusarium solani* i *Sclerotiniasclerotiorum* pri koncentraciji od 500 ppm, učinkovitost ulja crnoga kumina

na razvoj navedenih gljiva varirala je od 28,6 do 73,9%, dok je ulje eukaliptusa djelovalo inihibitorno od 93 do 100% na razvoj gljive (Elgorbani sur., 2015.).

Vitoratos i sur. (2013.) istraživali su utjecaj eteričnih ulja origana (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), limuna (*Citus limon*) i timijana (*Thymus vulgaris*) na *Botrytis cinereu, Penicillium italicum i Penicillium digitatum*. Eterična ulja origana i limuna sprječavaju razvoj *Botrytis cinereae,* dok su sva tri ulja utjecala na smanjeno klijanje spora. Ulje timijana imalo je jak utjecaj na zaustavljanje rasta *P. italicum.*

Eterična ulja origana (*Origanum syriacum* var. *bevanii*) i komorača (*Foeniculumvulgare*) usporavaju rast i razvoj *Sclerotinia sclerotiorum* (Soylu i sur, 2007.).

Tretiranje tla eteričnim uljem klinčića pokazalo je dobre rezultate kod smanjenjenja pojave bakterijskih bolesti koje uzrokuju *Agrobacterium tumefaciens, Ralstonia solanacearum, Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Smatra se kako se na ovaj način biljke rajčice i pelargonija mogu efikasno zaštititi od bakterijskoga venuća (Huang i Lakshman, 2010.).

Wilson i sur. (1997.) su istraživali utjecaj 345 biljnih ekstakata i 49 eteričnih ulja na razvoj *Botrytis cinerea*. Trinaest biljnih ekstrakata je pokazalo visoku učinkovitost za sprječavanje razvoja gljive, dok su od eteričnih ulja najbolji učinak imala ulja timijana, palmarose i klinčića.

Unutar istraživanja u kojemu je promatran utjecaj jedanaest eteričnih ulja (klinčićevac, ružmarin, list cimeta, kadulja, bor, gorka naranča, metvica, anis, kim, lavanda i timijan) na porast četrnaest fitopatogenih gljiva (*Fusarium graminearum, Fusarium verticillioides, Fusarium subglutinans, F. oxysporum, F. avenaceum, Diaporthe helianthi, D. Phaseolorum var. caulivora, Phomomopsis longicolla, Phomopsis viticola, Helminthosporium sativum, Colletotrichum coccodes, Thanatephorus cucumeris*, dva izolata iz roda *Alternaria*). Mjerenjima je utvrđeno da je najbolji inhibitorni utjecaj imalo ulje timijana na trinaest od četrnaest gljiva. Osim njega dobro inhibitorno djelovanje pokazala su ulja lista cimeta, klinčićevca i anisa, dok su ulja bora, gorke naranče, kadulje i ružmarina pozitivno utjecala na porast micelija pojedinih gljiva (Ćosić i sur, 2010.).

Iacobelis i sur.(2005.) su istraživali utjecaj ulja kumina (*Cuminum cyminum*) i kima (*Carum carv*) na bakterije rodova *Clavibacter, Curtobacterium, Rhodococcus, Erwinia, Xanthomonas, Pseudomonas, Ralstonia i Agrobacterium*. Dominantne komponente ulja *Cuminum cyminum* su p-menta-1,4-dien-7-al, kumin aldehid, γ-terpinen i β-pinen, dok su dominantne komponente ulja *Carum carvi* karvon, limonen, germacren D i trans-dihidrokarvon. Ulja su imala jak negativan utjecaj na razvoj bakterija iz svih rodova, osim na rod *Pseudomonas*.

El- Mohamedy i sur. (2013.) su istraživali alternativne načine zaštite rajčice od različitih uzročnika truleži korijena kao što su *Fusarium oxysporum radicis-lycopersici, F. oxysporum lycopersici, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii, Macrophomina phaseolina, Pythium sp. i Phytophthora sp*. te je ispitivan utjecaj ulja limunske trave i timijana. Sva ulja su značajno umanjila razvoj micelija navednih gljiva. Na ovaj način su potvrdili ranija istraživanja drugih znanstvenika koji su tvrdili da mnoga eterična ulja djeluju inhibitorno na razvoj fitopatogenih gljiva. Ulja timijana, limunske trave, paprene metvice i klinčića imaju bolje inhibitorno djelovanje nego ulja cimeta, limuna i gorušice (Ragab i sur., 2012.).

3. Materijali i metode

Ispitivanje je provedeno u laboratoriju Katedre za fitopatologiju na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku.

3.1. Priprema hranjivih podloga

Za hranjive podloge smo pripremili Petrijeve zdjelice koje su prethodno sterilizirane u autoklavu, na temperaturi od 120°C pri tlaku od 1 atmosfere u vremenskome trajanju od 20 minuta. Pertijeve zdjelice koje su korištene u pokusu bile su promjera 9 centimetara. Nakon što se Petrijeve zdjelice rashlade do temperature 95 °C vade se iz autoklava i raspoređuju se po površini, koja je prethodno sterilizirana 70 %-tnim etanolom ili nekim drugim dezificijensom.

PDA je standardna podloga koja se koristi u laboratoriju. Pripravlja se na način da 42 grama gotove podloge s 3 grama čistog agara stavljamo u Erlenmeyer tikvicu s 1000 ml destilirane vode. Podloga se kuha u vodenoj kupelji da se sadržaj dobro otopi, a nakon kuhanja mjerimo pH vrijednost. U standardnoj podlozi pH se treba kretati oko 6.5. Ukoliko pH vrijednost podloge nije odgovarajuća dodajemo 0,1 mol NaOH ili 0,1 mol HCl , ovisno o izmjerenom pH. Nakon toga tikvica se zatvara aluminijskom folijom ili čepovima od medicinske vate i stavlja se u autoklav na 120°C u vremenu od 20 minuta kako bi se izvršila sterilizacija podloge. Nakon što se podloga rashladi na 60°C u nju dodajemo antibiotik koji je prethodno razrjeđen u steriliziranoj vodi. Nakon toga razlijevamo po 10 ml podloge po Petrijevoj zdjelici.

Za pripremu vodenog agara, 20 grama agara u Erlenmeyer tikvici miješamo s 1000 ml vode i kuhamo ga u vodenoj kupelji dok se agar ne otopi. I u ovoj podlozi se mjeri pH vrijednost i ovisno o njoj dodaje se NaOH ili HCl kako bismo postigli pH vrijednost od 6,5. Tikvica se zatvara i stavlja u autoklav na temperaturu od 120 °C na 20 minuta, a nakon hlađenja na temperaturu od 60 °C dodajemo antibiotik. Podloga se razlijeva u Petrijeve posudice promjera 9 mm u količini od 10 ml/posudici.

Prilikom pripreme podloge od mrkve, 20 grama mrkve potrebno je izrezati na kolutiće i namakati ih 1 sat u litri destilirane vode te kuhati 5 minuta. Nakon kuhanja procijedimo mrkvu i u litru vode u kojoj je kuhana mrkva dodamo 20 grama agara, pa podlogu stavljamo u autoklav na 20 minuta na temperaturu 120°C. Kada se podloga ohladi na temperaturu 60°C dodajemo antibiotik.

3.2. Nacjepljivanje uzoraka na podlogu

U prvome dijelu pokusa istraživan je utjecaj 3 različite hranjive podloge (PDA podloga, podloga od mrkve i vodeni agar) na razvoj gljive *Chalara elegans*.

U laminariju smo pomoću sterilne igle na sredinu Petrijevih zdjelica na sve tri podloge nacijepili gljivu *Chalara elegans*. Petrijeve zdjelice su inkubirane u termostat komori na temperaturama 15, 20 i 25°C i svjetlosnom režimu 24 sata tama. Pokus je postavljen u tri ponavljanja.

Porast gljive mjeren je 3., 6., 10. i 13. dan od nacjepljivanja.

3.3. Utjecaj eteričnih ulja na porast Chalare elegans

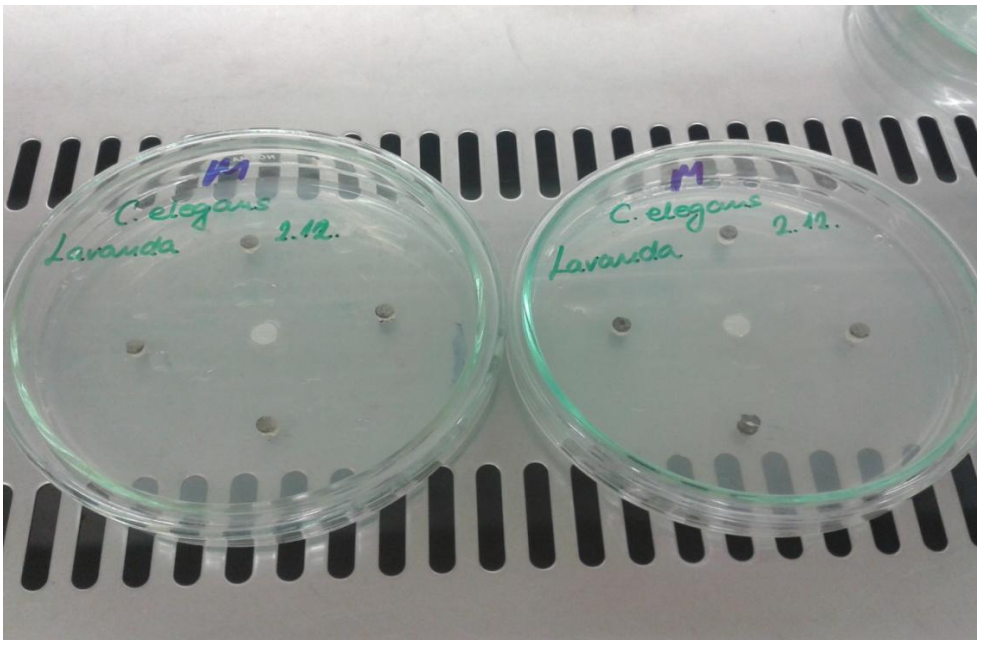
U drugome dijelu istraživanja ispitivan je utjecaj 8 različitih eteričnih ulja (Slika 3.) na porast micelija. Korištena su eterična ulja lavande (*Lavandula angustifolia* Mill. *ssp. angustifolia*), timijana (*Thymus vulgaris* L.), anisa (*Pimpinella anisum* L.), mente (*Mentha piperita* L.), bijeloga bora (*Pinus sylvestris* L.), klinčićevac (*Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullock & Harr.), gorke naranče (*Citrus aurantium* L. *ssp. amara*) i kadulje (*Salvia officinalis* L.).



Slika 3. Eterična ulja (foto Antonija Jukić)

U pokusu je osim utjecaja ulja ispitivan i utjecaj podloge pa je pokus postavljen na PDA podlozi i podlozi od mrkve. Za pokus su korištene Petrijeve zdjelice promjera 9 cm. U laminariju smo na sredinu svake Petrijeve zdjelice stavili papirni disk filter

papira promjera 5 mm. Na svaki disk smo odpipetirali po 5 µl eteričnoga ulja, odnosno 5 µl destilirane vode kada se radi o kontroli. Zatim smo na četiri mjesta, s podjednakom udaljenošću od diska, nacijepili micelij gljive (Slika 4.). Za svako ulje smo imali dva ponavljanja. Nakon toga su Petrijeve zdjelice stavljene u komoru na 22°C.



Slika 4. Nacjepljivanje *C.elegans* na podlogu od mrkve (foto Antonija Jukić)

Na PDA podlozi mjerenje je obavljeno trećeg, sedmoga, desetoga, četrnaestoga, sedamnaestoga, dvadesetprvoga, dvadesetčetvrtoga i dvadesetsedmoga dana od nacjepljivanja, dok je na podlozi od mrkve mjerenje obavljeno treći, sedmi, deseti, četrnaesti i sedamnaesti dan od nacjepljivanja.

3.4. Umjetna infekcija mrkve

U trećemu dijelu istraživanja obavljena je umjetna infekcija mrkve gljivom *Chalara elegans*. Mrkvu je potrebno dobro oprati i odstraniti sve nečistoće. Nakon toga se odstrane vršni dijelovi mrkve. Na sredini korijena mrkve napravimo oštećenje pomoću sklapela i na njega polažemo micelij. Micelij je potrebno pokriti komadićem navlažene vate te omotati aluminijskom folijom. Uzorci su inkubirani na dvije temperature: 21 i 30°C. u po tri ponavljanja (Slika 5.).



Slika 5. Umjetna infekcija mrkve (foto Antonija Jukić)

Mjerenje je obavljeno četvrti, osmi, jedanaesti i trinaesti dan od infekcije.

4. Rezultati

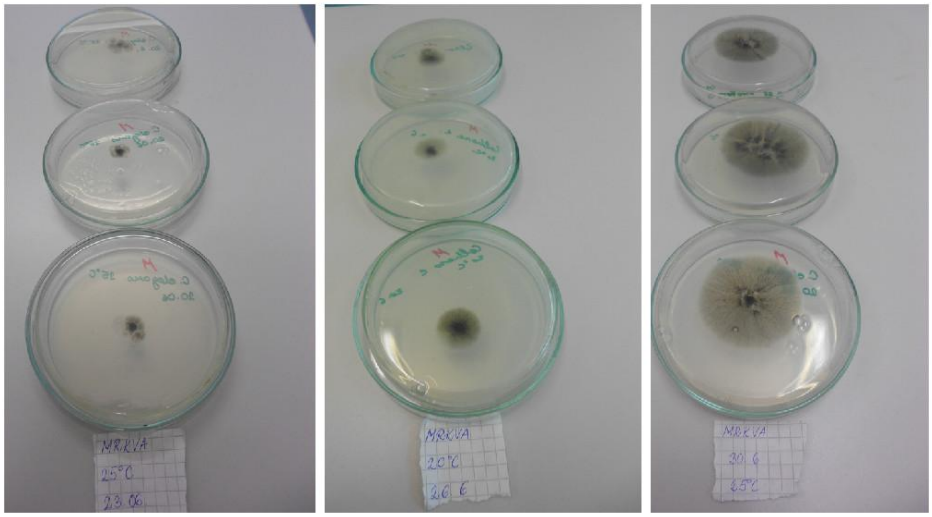
Na temperaturi 15°C (Tablica 1.) treći dan od nacjepljivanja gljiva se najbolje razvijala na PDA podlozi te je promjer kulture gljive bio 5 mm. Na vodenom agaru promjer kulture je bio najmanji i iznosio je 4 mm. Šesti dan nakon nacjepljivanja došlo do promjene, rast gljive na PDA podlozi i podlozi od mrkve bio je dvostruko bolji (9,66 i 10,66 mm)u odnosu na porast na vodenom agaru(4 mm). Zadnji dan mjerenja, trinaest dana nakon nacjepljivanja,*Chalara elegans* je imala najbolji porast na podlozi od mrkve u odnosu na PDA podlogu i vodeni agar pri čemu je porast na podlozi od mrkve bio statistički vrlo značajno bolji u odnosu na porast na preostale dvije podloge. Također, porast na PDA podlozi bio je statistički vrlo značajno bolji u odnosu na porast na vodenom agaru.

Tablica 1. Porast (mm) *Chalara elegans* na različitim podlogama i temperaturama

15°C	3.dan	6.dan	10.dan	13.dan
PDA	5,00	9,66	17,33	21,33
vodeni agar	4,00	4,00	8,33	12,00
podloga od mrkve	4,33	10,66	21,33	28,00
LSD 0,05 0,01				2,40 3,64
20°C	3.dan	6.dan	10.dan	13.dan
PDA	9,66	20,66	35,33	47,33
vodeni agar	5,00	16,66	28,33	35,66
podloga od mrkve	10,33	25,33	43,66	57,66
LSD 0,05 0,01				4,47 6,77
25°C	3.dan	6.dan	10.dan	13.dan
PDA	16,00	29,33	46,00	62,33
vodeni agar	4,66	16,33	37,33	50,00
podloga od mrkve	19,00	33,66	52,66	69,33
LSD 0,05 0,01				4,42 6,70

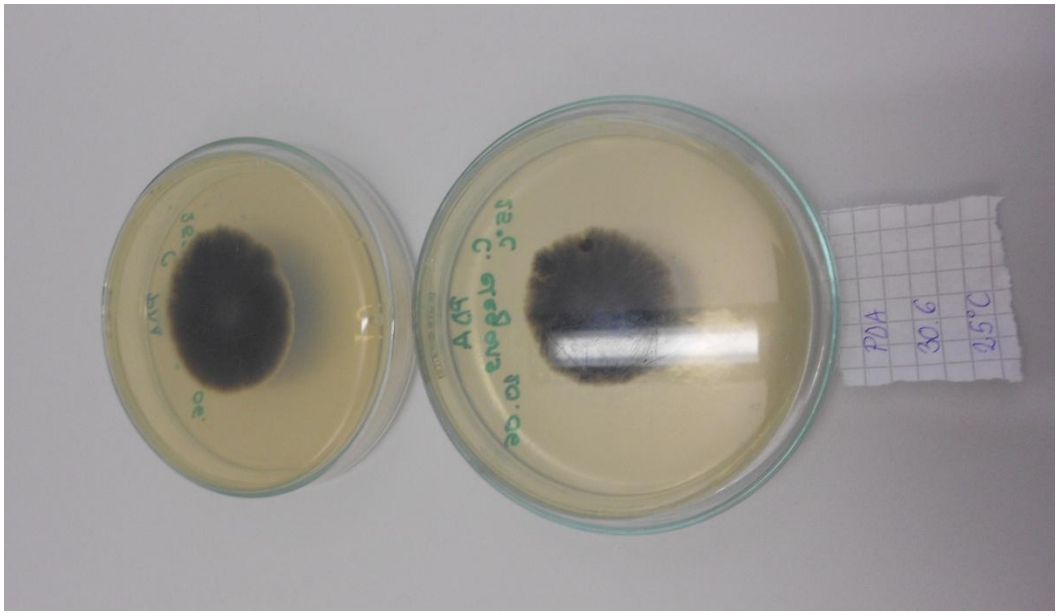
Ispitivana gljiva *C. elegans* na temperaturi 20°C (Tablica 1.) treći dan od nacjepljivanja imala je bolji početni porast na PDA i podlozi od mrkve u odnosu na porast na vodenom agaru. Desetoga i trinaestoga dana mjerenja porast micelija gljive na podlozi od mrkve je bio bolji u odnosu na porast gljive na PDA podlozi i vodenome agaru.Trinaestoga dana porast na podlozi od mrkve (57,66 mm) bio je statistički vrlo značajno bolji u odnosu na porast na preostale dvije podloge.

Na temperaturi 25°C najbolji rast *C. elegans* bio je na podlozi od mrkve (slika 6.). Prilikom mjerenja 3. dan od nacjepljivanjanajbolji porast utvrđen je na podlozi od mrkve (19 mm), a četiri puta slabiji porast na vodenom agaru (4,66 mm). Trinaestog dana od nacjepljivanja najbolji porast je bio na podlozi od mrkve pri čemu je porast na toj podlozi bio statistički vrlo značajno bolji u odnosu na porast na preostale dvije podloge.



Slika 6. Porast *C.elegans* na podlozi od mrkve pri temperaturi od 25°C (foto Antonija Jukić)

Na PDA podlozi je micelij bio tamnije boje i gušći nego na podlozi od mrkve (Slika 7.).

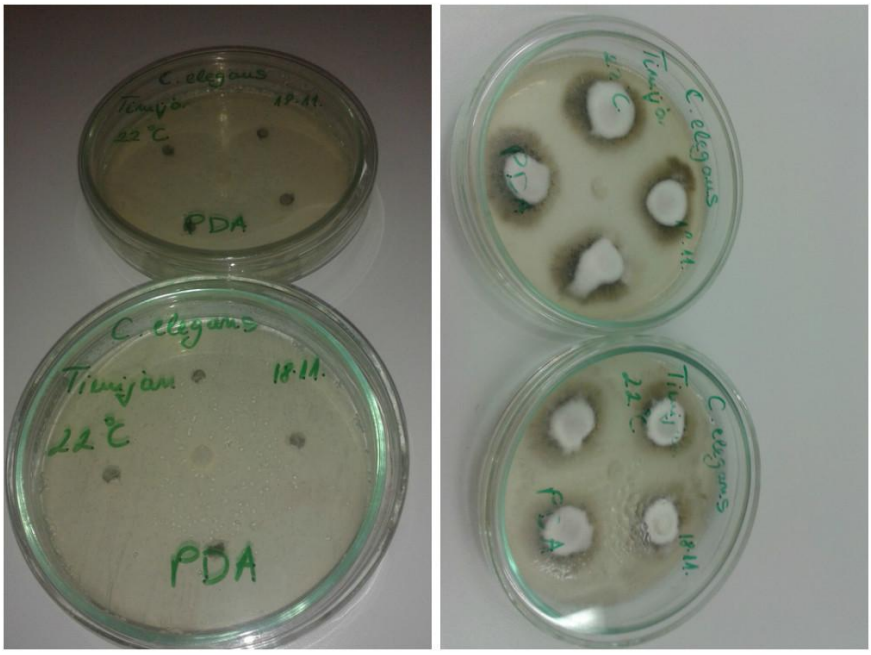


Slika 7. Izgled micelija na PDA podlozi (foto Antonija Jukić)

Kod ispitivanja utjecaja eteričnih ulja na razvoj *Chalara elegans* na temperaturi 22°C i PDA podlozi mjerena je zona inhibicije (Tablica 2.). Treći dan inkubacije najslabiji porast gljive utvrđen je u varijantama pokusa s uljem timijana (zona inhibicije 19,63 mm), anisa (zona inhibicije 19,38 mm), mente (zona inhibicije 19,13 mm) te klinčićevca (zona inhibicije 18,50 mm) i lavande (zona inhibicije 18 mm). U kontroli zona inhibicije je bila 15 mm. Sve do 27. dana zona inhibicije je bila najveća u varijanti pokusa s uljem timijana. U zadnjem mjerenju najveća zona inhibicije utvrđena je u varijanti s uljem mente. Posljednjega, dvadesetsedmog dana mjerenja, u odnosu na kontrolu najbolji fungistatični utjecaj na razvoj gljive imalo je ulje metvice i timijana (Slika 8.).Ulje gorke naranče statistički je značajno inhibiralo, a ulja klinčićevca, timijana i mente statistički je vrlo značajno inhibiralo porast micelija *Chalara elegans*.

Tablica 2. Utjecaj eteričnih ulja na porast *Chalara elegans* na PDA podlozi i 22°C

	3.dan	7. dan	10.dan	14.dan	17.dan	21.dan	24.dan	27.dan
Kadulja	17,00	9,88	7,00	5,38	4,38	4,75	4,75	4,25
Menta	19,13	16,38	13,25	9,25	7,13	6,38	6,50	6,50
Lavanda	18,00	12,25	8,25	5,50	4,88	4,88	4,00	3,88
Timijan	19,63	18,00	16,75	14,38	12,00	9,13	7,38	6,38
Klinčić	18,50	16,63	14,38	10,13	8,00	6,75	6,25	5,88
Anis	19,38	18,00	14,13	8,38	5,50	4,38	3,88	3,88
Gorka naranča	16,00	9,50	6,88	6,00	5,38	5,00	4,63	4,63
Bijeli bor	16,00	9,50	6,63	5,00	4,63	4,25	3,75	3,38
Kontrola	15,00	9,25	7,25	5,50	4,63	4,25	3,50	2,50
LSD 0,05 0,01								1,95 2,80



Slika 8. Utjecaj eteričnoga ulja timijana na porast C. elegans na PDA nakon 3. dana(lijevo) i 27. dana(desno) (foto Antonija Jukić)

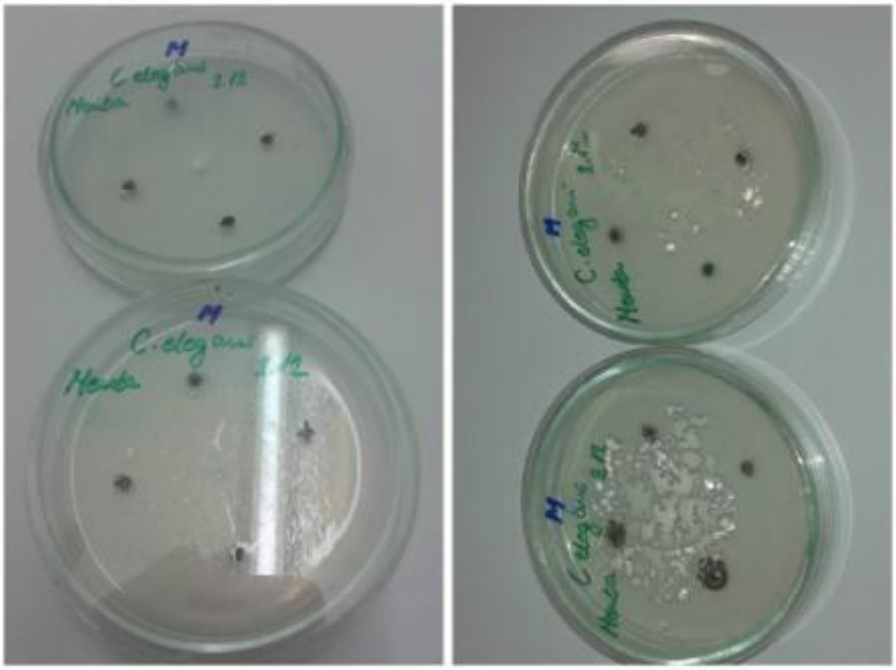
Kod ispitivanja utjecaja eteričnih ulja na razvoj *C. elagans* na podlozi od mrkve (Tablica 3.) mjerenja su vršena 17 dana jer se gljiva sporije razvijala.

Tablica 3. Utjecaj eteričnih ulja na porast *Chalara elegans* na podlozi od mrkve i 22°C

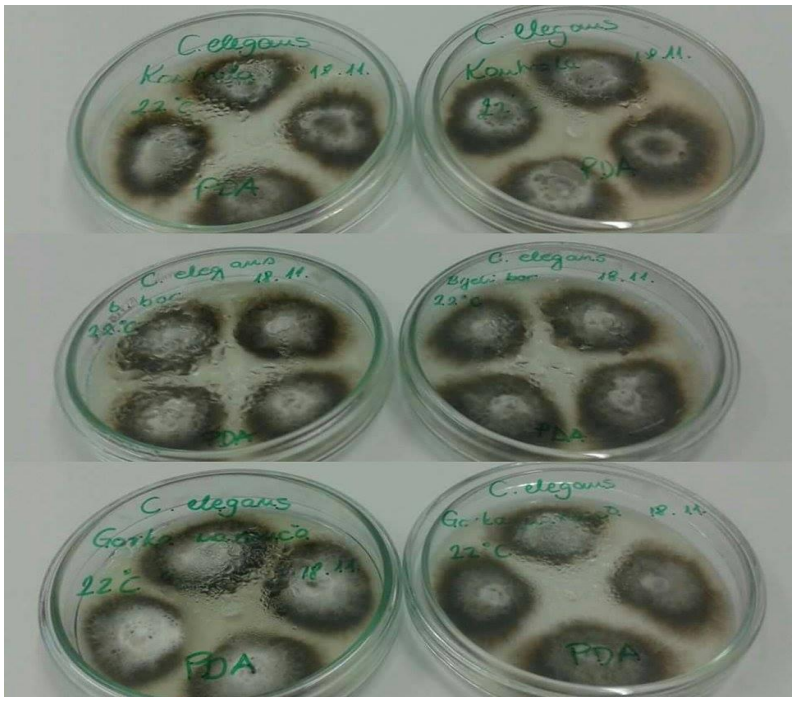
	3.dan	7.dan	10.dan	14.dan	17.dan
Kadulja	19,50	18,63	18,00	16,50	15,25
Menta	19,63	19,63	19,50	19,38	18,75
Lavanda	19,75	19,63	19,50	19,38	17,5
Timijan	19,38	19,13	19,13	19,13	18,75
Klinčić	19,00	18,88	18,75	18,63	18,25
Anis	20,13	19,75	19,00	18,13	17,25
Gorka naranča	18,13	13,25	12,88	12,25	9,75
Bijeli bor	17,25	14,13	12,63	10,63	8,75
Kontrola	19,00	17,75	17,50	15,38	13,25
LSD 0,05 0,01					2,35 3,38

Treći dan od nacjepljivanja zona inhibicije je u kontroli bila 19 mm, a u varijntama s eteričnim uljima između 17,25 i 20,13 mm.

Zadnjega dana mjerenja utvrdili smo da je porast micelija gljive bio statistički vrlo značajno bolji u odnosu na kontrolu u varijantama s uljem bijelog bora i gorke naranče.Ulja timijana, mente, lavande, klinčićevca i anisa su statistički vrlo značajno usporila porast micelija u odnosu na kontrolu (Slika 9) te možemo reći da su ta ulja ima fungistatični utjecaj. Ulja gorke naranče i bijelog bora djelovala su stimulativno na porast gljive (Slika 10).



Slika 9. Utjecaj eteričnog ulja mente na porast *C. elegans* na podlozi od mrkve (3. i 17. dan od nacjepljivanja) (foto Antonija Jukić)



Slika 10. Utjecaj eteričnih ulja bijelog bora i gorke naranče na *C. elegans* (foto Antonija Jukić)

Kod umjetne infekcije mrkve *Chalarom elegans* četvrti dan od infekcije na korijenu nije bilo simptoma truleži niti na jednoj temperaturi. Osmoga dana od infekcije razvoj gljive na temperaturi 21°C bio je značajno bolji. Na jednoj mrkvi utvrđena je trulež i pojava trajnih spora hlamidospora, a na druge dvije mrkve utvrđeno je formiranje hlamidospora neravnomjerno gotovo po cijelom korijenu. Pregledom mrkvi koje su bile na temperaturi 30°C (Slika 11.) samo je na jednome korijenu utvrđena pojava hlamidospora, a veličina trulog tkiva je u prosjeku iznosila 15,33 mm, dok je trinaestog dana mjerenja iznosila 24, 66 mm.



Slika 11. Porast *C. elegans* na 30°C (foto Antonija Jukić)

5. Rasprava

*Chalara elegans*je zemljišni patogen koji zaražava više od 200 biljnih vrsta iz različitih porodica.

Gljiva se u našim istraživanjimapodjednako dobro razvijala pri svim temperaturama na podlozi od mrkve, s tim da je najbolji porast bio na temperaturi od 25°C iako je raspon optimalnih temperatura za razvoj bolesti od 17-23°C (Maceljski i sur., 2004.). Obzirom da je mrkva uz pamuk, duhan i soju jedna od kultura koju *Chalara elegans* napada (Chittaranjan i sur., 1993.), bilo je za očekivati da će se gljiva nabolje razvijati na ovoj podlozi pri sve tri temperature.

U nama dostupnoj literaturi nema podataka o utjecaju eteričnih ulja na rast gljive *Chalara elegans*. Ipak, dobiveni rezultati istraživanja utjecaja eteričnih ulja na porast ove gljive slažu se s rezultatima ranijih istraživanja o utjecaju ulja na rast različitih fitopatogenih gljiva.Tako brojna istraživanja potvrđuju vrlo dobro antifungalno djelovanje ulja timijana i klinčićevca na većinu gljiva (Wilson i sur, 1997.), dok je i ranije uočeno da eterična ulja gorke naranče i bijeloga bora pozitivno utječu na razvoj pojedinih gljiva (Ćosić i sur., 2010.).

Trulež korijena mrkve čiji je uzročnik *Chalara elegans*vrlo je značajna bolest mrkve u mnogim uzgojnim područjima ove biljne vrste i to i u polju i tijekom čuvanja (Punja i Gaye, 1993.). Intenzitet pojave bolesti ovisi o količini inokuluma u tlu, kiselosti i strukturi tla. Hlamidospore ove gljivu u tlu mogu preživjeti nekoliko godina. Bolest se osobito brzo razvija ukoliko se mrkva skladišti u u neuvjetnim prostorima. Tako je inkubacija samo 5 dana ukoliko je u skladištu povišena vlaga zraka i temperatura 20 do 22°C (Weber i Tribe, 2004.).Bolest se razvija u relativno uskom temperaturnom rasponu od 12 do 23 °C, a optimalna temperatura za njen razvoj jeizmeđu 17 i23°C (Maceljski i sur., 2004.) s čim se slažu i rezultati naših istraživanja. Razvoju bolesti jednako je podložna mrkva iz konvencionalnog kao i iz ekološkog uzgoja. Korijen mrkve zaražen gljivom u našem pokusu pokazivao je tipične simptome za ovu bolest: dijelovi korijena prvo pocrne, a nakon toga potrunu što odgovara simptomima koje opisuju Maceljski. i sur. (2004.).

6. Zaključak

Chalara elegans je široko rasprostranjen biljni patogen koji pravi štete i gubitke u biljnoj proizvodnji. Najveće štete u polju pravi na duhanu, dok na mrkvi izaziva propadanje korijena u skladištima. Uglavnom zaražava korijenje koje je oštećeno. Također, napada biljke iz porodice *Solanacea* dok su u stadiju klijanaca. Razvoju gljive pogoduje povišena vlaga zraka i temperatura od 25°C. Iako je njihov utjecaj na *Chalaru elegans* nedovoljno istražen, ulja timijana, metvice i klinčicevca usporavaju razvoj gljive, dok su ulja bijeloga bora i gorke naranče pogodovala razvoju gljive. Bez obzira što niti jedno ispitivano ulje nije u potpunosti onemogućilo razvoj *Chalara elegans*, možda bi se pojedina eterična ulja moglo primjenjivati kod uzgoja rasada kako bismo usporili razvoj gljive i na taj način onemogućili zarazu presadnica koje su u kasnijim razvojnim stadijima otpornije na zarazu. Djelovanje eteričnih ulja na biljne bolesti se iz godine u godinu sve više promatra jer je potrebno smanjiti štetno djelovanje sintetički proizvedenih kemijskih sredstava na čovjeka i okoliš.

7. POPIS LITERATURE

1. Brown, J. F., Ogle, H., J. (1997.): Plant pathogens and plant disease, Keane, P., Kerr, A.: Factors affecting disease development (287-297).
2. Chittaranjan, S., Punja, Z. K. (1993.): A semiselective medium and procedures for isolation and enumeration of *Chalara elegans* from organic soils. Plant disease, 77(9):930-932.
3. Ćosić, J., Vrandečić, K., Postić, J., Jurković, D., Ravlić, M. (2010.) In vitro antigungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda, 16(2): 25-28.
4. El Mohamedy, S. R., Abdel-Kader, M. M., Abd-El-Kareem, F., El-Mougy (2013.): Essential oils, inorganic acids and potassium salts as control measures against the growth of tomato root rot pathogens in vitro. Journal of Agricultural Technology, 9 (6):1507-1520.
5. Elgorban, A. M., Bahkali, A. H., El- Metwally, M. A., Elshestawi, M., Abdel-Wahab, M. A. (2014.): In vitro antifungal activity of some plant essential oils. International Journey of Farmacology 11(1):56-61.
6. El-Mougy, N. S., Abdel-Kader, M. M., Aly, M. D. E., Lashin, S. M. (2012.): Application of fungicedes alternatives as seed treatment for controlling root rot of some vegetables in pot experiments. Advances in Life Sciences, 2(3):57-64.
7. Gaston, R., Appolinaire, J. L., Megatche, C. J. P., Ajong, F. D. (2014.): Effect of different pH and temperature levels on in vitro growth and sporulation of *Phytophthoracolocasiae*, taro leaf blight pathogen. International Journal of Agronomy and Agriculture research, 4(4):202-206.
8. Granke, L. L., Hausbeck, M. K. (2010.): Effects of temperature, humidity and wounding on development of *Phytphthora* rot of cucumber fruit. Plat disease, 94(12):1417-1424.
9. Hood, M. E., Shew, H. D. (1996.): Pathogenesis of *Thielaviopsis basicola* on a susceptible and resistant cultivar of Burley Tabacco. Phytopathology, 86: 38-43.
10. Hrvatska enciklopedija, http://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=18482 (30.6.15.)
11. Huang, Q., Lakshman, D. K. (2010.): Effect of clove oil on plant pathognic bacteria and bacterial wilt of tomato and geranium. Journal of Plant Pathology, 92(3):701-707.

12. Iacobellis, N. S., Lo Cantore, P., Capasso, F., Senatore, F. (2005.): Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carvum carvi* L. essential oils. Jurnal of agricultar and food chemistry, Vol 53, No1
13. Josifović, M. (1956.): Poljoprivredna fitopatologija. Naučna knjiga, Beograd.
14. Kim, Y. K., Xiao, C. L. (2005.): Influence of culture media and enviromental factors on mycelial growth and pycnidial production of *Sphaeropsis pyriputrescens*. Mycologia 97 (1): 25-32.
15. King, C. J., Presley, J. T. (1942.): A root rot of Cotton caused by Thielaviopsis basicola. Phytopathology, 32(9): 752-761.
16. Leahy, R. M. (1998.): Black root rot of Panesies. Plant Pathology Circular No.387
17. Maceljki, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Igrac Barčić, J., Pagliarini, N., Oštrec, LJ., Barić, K., Čizmić, I. (2004.): Štetočinje povrća. Zrinski, Čakovec.
18. Mikić, I., Radan, Z., Ćosić, J., Vrandečić, K. (2014.): Utjecaj hranjive podloge i temperature na razvoj Sclerotinia sclerotiorum. Poljoprivreda, 20(2):8-11.
19. Punja, Z. K., Gaye, M. M., (1993.): Influence of postharvest handling practices and dip treatments on development of black root rot on fresh market carrots. Plant disease, 77: 989-995.
20. Quintanilla, P., Rohloff, J., Iversen, T.-H. (2002.): Influence of essential oils On *Phytophtora infestans*. Potato Research 45:225-235.
21. Ragab, M.M.M., Ashour, A. M. A., Abdel-Kader, M.M., El Mohamady, R., Abdel-Aziz, A.(2012.) In vitro evaluation of some fungicides alternatives against *Fusarium oxysporum* the casual of wilt disease of pepper (*Capsicum annum* L.). International Journal of Agriculture and Forestry 2(2):70-77.
22. Ritchie, F., Bain, R. A., McQuilken, M. P. (2009.): effects of nutrient status, temperature, and pH on mycelial growth, sclerotial production and germination of Rhizoctonia solani from potato. Journal of Plant Pathology, 91 (3):589-596.
23. Saha, A., Mandal, P., Dasgupta, S., Saha, D. (2008.): Influence of culture media and environmental factors on mycelial growth and sporulation of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. Journal environ biol, 29 (3).
24. Siwulski, M., Sobieralski, K., Gorski, R., Lisiecka, J., Sas- Golak, I. (2011.): Temperature and pH impact on the mycelium growth of *Mycogene perniciosa* and *Verticillium fungicola* isolates derived from polish and foreign mushroom growing houses. Journal of plant protection research, 51(3).

25. Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E. M., Kurt, S. (2007.): Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotina sclerotiorum*. Juornal of applied microbiology, 103:1021-1030.
26. Svitlica, B., Ćosić, J., Šimić, B., Vrandećić, K., Bunjevac, I., Božić, M. (2011.): Utjecaj uvjeta uzgoja na porast i sporulaciju *Fusarium* vrsta. Poljoprivreda, 17(1): 42-51.
27. Vitoratos, A., Bilalis, D., Karkanis, A., Efthimiadou, A. (2013.): Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Horti Agrabo, 41(1):86-92.
28. Vrandečić, K., Jurković, D., Ćosić, J. (2009.): Influence of nutrition media on formation of perithecia of *Diaporthe helianti (Phomphosis helianti)* Munt.-Cvet. Poljoprivreda, 15(1):5-10.
29. Walker, M. (2008.): Black root rot: *Thielaviopsisis basicola*.Plant Disease Diagnostic Clinic, Ithaca.
30. Ward, N. A., Bachi, P. R., Kaiser, C. A. (2012.): Black root rot of ornamentals. Plant Pathology Fact Sheet, University of Kentucky.
31. Weber, R. W. S., Tribe, H. T. (2004.): Moulds That should be better known: Thielaviopsis basicola and T. thielavioides, two ubiquitous moulds on carrots sold in shops. Mycologist, 1(1):6-10.
32. Wilson, C. L., Solar, J. M., El Ghaouth, A., Wisnniewski, M. E. (1997.): Rapid evaluation of planr extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant disease, 81 (2):204-210.

8. Sažetak

U radu je istraživan utjecaj različitih temperatura (15, 20, 25 °C) i tri različite hranjive podloge (PDA, vodenog agara, podloga od mrkve) na razvoj gljive *Chalara elegans* koja je uzročnik truleži korijena. Unutar trinaest dana, koliko je u ovome dijelu istraživanja praćen porast gljive, gljiva se na svim temperaturama najbolje razvijala na podlozi od mrkve. Ipak je najbolji porast micelija utvrđen na temperaturi od 25°C.

U drugome dijelu rada istraživano je djelovanje osam eteričnih ulja (lavanda, timijan, anis, menta, bijeli bor, klinčićevac, gorka naranča, kadulja) na dvije podloge (PDA i podloga od mrkve) na gljivu. Na PDA podlozi mjerenje su vršena 27 dana, dok su na podlozi od mrkve zbog sporog rasta gljive mjerenja vršena 17 dana. Najbolje antifungalno djelovanje kod obje podloge pokazala su ulja timijana, klinčićevca i metvice, dok su ulja bijeloga bora i gorke naranče ubrzala razvoj gljive.

Kod umjetne infekcije mrkve uočeno je formiranje hlamidospora po cijelome korijenu mrkve na temperaturi 21°C, a pri temperaturi od 30°C došlo je i do pojave truleži.

Ključne riječi: hranjiva podloga, temperatura, eterično ulje, *Chalara elegans*, umjetna infekcija.

9. Summary

In this paper the influence of different temperatures (15, 20, 25 ° C) and three different culture media (PDA, water-agar, carrot agar) on the development of the fungus *Chalara elegans* which cause root rot. Within thirteen days, as in this part of the study followed by growth of the fungus, the fungus at all temperatures best developed on a bed of carrots. However the best mycelial growth was determined at 25 ° C.

In the second part of paper it was investigated the effect of eight essential oils (lavender, thyme, anise, mint, white pine, clove, bitter orange and sage) on two surfaces (PDA and background carrot) to fungi. On PDA medium measurement were conducted 27 days, while on a bed of carrots because of slow growth fungi measurements performed 17 days. The best antifungal activity for both substrates have shown oil of thyme, mint and clove, while white pine oil and bitter orange accelerate the development of fungi.

In artificial inoculation of carrots was observed forming around the root of the chlamydospores of carrot at 21 ° C, and at a temperature of 30 ° C, there was an occurrence of rot.

Key words: culture media, temperature, essential oil, *Chalara elegans*, artificial infection.

10. Popis tablica

Tablica 1. Porast (mm) *Chalara elegans* na različitim podlogama i temperaturama.....14

Tablica 2. Utjecaj eteričnih ulja na porast *Chalara elegans* na PDA podlozi i 22°C...17

Tablica3. Utjecaj eteričnih ulja na porast *Chalara elegans* na podlozi od mrkve i 22°C 18

11. Popis slika

Slika1. Korijen mlade biljke zaražen s *Chalara elegans* (izvor: http://comp.uark.edu/~rothrock/tbroot.jpg).....2

Slika 2. Izgled hlamidospora *C. elegans* (Izvor: http://www.discoverlife.org/IM/I_MWS/0730/320/Thielaviopsis_basicola,I_MWS73070.jpg)..3

Slika 3. Eterična ulja (foto Antonija Jukić).....11

Slika 4. Nacjepljivanje *C.elegans* na podlogu od mrkve u laminariju (foto Antonija Jukić).....12

Slika 5. Umjetna infekcija mrkve (foto Antonija Jukić).....13

Slika 6. Porast *C.elegans* na podlozi od mrkve pri temperaturi od 25°C (foto Antonija Jukić).....15

Slika 7. Izgled micelija na PDA podlozi (foto Antonija Jukić).....16

Slika 8. Utjecaj eteričnoga ulja timijana na porast *C. elegans* na PDA nakon 3. dana(lijevo) i 27. dana(desno) (foto Antonija Jukić).....17

Slika 9. Utjecaj eteričnog ulja mente na porast *C. elegans* na podlozi od mrkve (3. i 17. dan od nacjepljivanja) (foto Antonija Jukić).....19

Slika 10. Utjecaj eteričnih ulja bijelog bora i gorke naranče na *C. elegans* (foto Antonija Jukić).....19

Slika 11. Porast *C. elegans* na 30°C(foto Antonija Jukić).....20

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Diplomski rad
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij, smjer Zaštita bilja

UTJECAJ HRANJIVE PODLOGE I TEMPERATURE NA RAZVOJ GLJIVE *CHALARA ELEGANS*

Antonija Jukić

U radu je istraživan utjecaj različitih temperatura (15, 20, 25 °C) i tri različite hranjive podloge (PDA, vodenog agara, podloga od mrkve) na razvoj gljive *Chalara elegans* koja je uzročnik truleži korijena. Unutar trinaest dana, koliko je u ovome dijelu istraživanja praćen porast gljive, gljiva se na svim temperaturama najbolje razvijala na podlozi od mrkve. Ipak je najbolji porast micelija utvrđen na temperaturi od 25°C.

U drugome dijelu rada istraživano je djelovanje osam eteričnih ulja (lavanda, timijan, anis, menta, bijeli bor, klinčićevac, gorka naranča, kadulja) na dvije podloge (PDA i podloga od mrkve) na gljivu. Na PDA podlozi mjerenje su vršena 27 dana, dok su na podlozi od mrkve zbog sporog rasta gljive mjerenja vršena 17 dana. Najbolje antifungalno djelovanje kod obje podloge pokazala su ulja timijana, klinčićevca i metvice, dok su ulja bijeloga bora i gorke naranče ubrzala razvoj gljive.

Kod umjetne infekcije mrkve uočeno je formiranje hlamidospora po cijelome korijenu mrkve na temperaturi 21°C, a pri temperaturi od 30°C došlo je i do pojave truleži.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 29
Broj grafikona i slika: 14
Broj literaturnih navoda: 32
Broj priloga:
Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: hranjiva podloga, temperatura, eterično ulje, *Chalara elegans*, umjetna infekcija.

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu rada:

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

Rad je pohranjen: 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 NUTRITION MEDIA AND TEMPERATURE ON FUNGI *CHALARA ELEGANS*

Antonija Jukić

In this paper the influence of different temperatures (15, 20, 25 ° C) and three different culture media (PDA, water-agar, carrot agar) on the development of the fungus *Chalara elegans* which cause root rot. Within thirteen days, as in this part of the study followed by growth of the fungus, the fungus at all temperatures best developed on a bed of carrots. However the best mycelial growth was determined at 25 ° C.

In the second part of paper it was investigated the effect of eight essential oils (lavender, thyme, anise, mint, white pine, clove, bitter orange and sage) on two surfaces (PDA and background carrot) to fungi. On PDA medium measurement were conducted 27 days, while on a bed of carrots because of slow growth fungi measurements performed 17 days. The best antifungal activity for both substrates have shown oil of thyme, mint and clove, while white pine oil and bitter orange accelerate the development of fungi.

In artificial inoculation of carrots was observed forming around the root of the chlamydospores of carrot at 21 ° C, and at a temperature of 30 ° C, there was an occurrence of rot.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek
Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Number of pages: 29
Number of figures: 11
Number of tables: 3
Number of references: 32
Number of appendices:
Original in: Croatian
Key words: culture media, temperature, essential oil, *Chalara elegans*, artificial infection.
Thesis defended on date:
Reviewers:

1. izv.prof.dr. Karolina Vrandečić,
2. prof.dr.sc. Jasenka Ćosić,
3. prof.dr.sc. Nada Parađiković,

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