Utjecaj propolisa na porast gljiva Fusarium oxysporum i Alternaria brassicae

Palameta, Martina

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:151:075340

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

Martina Palameta, apsolvent

Sveučilišni diplomski studij

Ekološka poljoprivreda

Utjecaj propolisa na porast gljiva *Fusarium oxysporum* i *Alternaria brassicae*

Diplomski rad

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Martina Palameta, apsolvent

Sveučilišni diplomski studij

Ekološka poljoprivreda

Utjecaj propolisa na porast gljiva *Fusarium oxysporum* i *Alternaria brassicae*

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik

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

3. Izv. prof. dr. sc. Renata Baličević, član

Osijek, 2015.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Martina Palameta, apsolvent

Sveučilišni diplomski studij

Ekološka poljoprivreda

Utjecaj propolisa na porast gljiva *Fusarium oxysporum* i *Alternaria brassicae*

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik

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

3. Izv. prof. dr. sc. Renata Baličević, član

Osijek, 2015.

Sadržaj

1. Uvod 1

2. Pregled literature 3

3. Materijali i metode rada 11

4. Rezultati i rasprava 15

4.1. Utjecaj alkoholne otopine različitih koncentracija propolisa na porast micelija *Alternaria brassicae* 15

4.2. Utjecaj alkoholne otopine različitih koncentracija propolisa na porast micelija *Fusarium oxysporum* 23

5. Zaključak 31

6. Popis literature 32

7. Sažetak 35

8. Summary 36

9. Popis tablica 37

10. Popis slika 37

11. Popis grafikona 38

Temeljna dokumentacijska kartica 40

Basic documentation card 41

1. Uvod

Ekološka, organska ili biološka poljoprivreda podrazumijeva proizvodnju "zdrave hrane" , tj. poljoprivrednu proizvodnju bez primjene agro-kemikalija (mineralnih gnojiva, pesticida, hormona i sl.) (Znaor, 1996.).

U ekološkoj poljoprivrednoj proizvodnji nastoji se maksimalno iskoristiti potencijal određenog ekosustava (autonomno gospodariti ekosustavom), stimulirajući, jačajući i harmonizirajući biološke procese pojedinih njegovih dijelova (Žugec i Jug, 2000./2001.).

Pesticidi su sredstva koja upotrebljavamo u zaštiti bilja u konvencionalnoj poljoprivredi, u čiju podgrupu spadaju i fungicidi (sredstva za suzbijanje gljivica), koji dokazno toksično djeluju na ljude, biljke i životinje te se neprestano pokušava pronaći način zaštite biljaka koji bi smanjio ili zaustavio uporabu pesticida.

Istraživanjima o alternativnim načinima zaštite bilja pokušava se smanjiti uporaba kemijskih sredstava. Jednim od značajnijih kako medicinskih tako i poljoprivrednih bogatstava smatra se propolis, koji spada u dozvoljena kurativna sredstva u ekološkoj zaštiti bilja.

Stručnjaci zavoda za ribarstvo, pčelarstvo i specijalnu zootehniku sa Agronmoskog fakulteta u Zagrebu su istraživali mogućnost uporabe propolisa u zaštiti bilja iz čijeg rada je zaključeno da propolis posjeduje antibakterijsko, antigljivično, insekticidno djelovanje te da stimulirajuće djeluje na rast i razvoj biljaka (Znaor, 1996.).

Propolis je mješavina različitih količina voskova i smole koje pčele prikupljaju s pupova lišća ili kore drveća i grmlja. U pčelinjoj zajednici služi kao građevinska dezinfekcijska tvar kojom pčele popunjavaju pukotine, fiksiraju saće, dezinficiraju i poliraju stanice te smanjuju otvor košnice radi zaštitie od eventualnih neprijatelja (Mujić i sur., 2014.).

Boja propolisa je različita, od zelenožute do tamnosmeđe, ovisno o izvoru i starosti. Na toplini omekša u plastičnu tvar podložnu finom oblikovanju. Na hladnoći se stvrdne u lomljivu tvar, sličnu prirodnoj smoli.

Prema istraživanjima rađenim na Medicinskom fakultetu u Ljubljani (Institutu za mikrobiologiju) u slovenskom propolisu pronađeni su flavonoidi koji djeluju fungicidno na gljive.

Alternaria brassicae je gljiva koja stvara štete najviše na kupusnjačama, ali i drugim biljnim vrstama. Napada sve nadzemne dijelove biljaka, najrjeđe se javlja na listu. U kišnim godinama izaziva velike štete, osobito ako je došlo do zaraze plamenjačom ili sivom plijesni (Kovačević i sur., 1960.).

Fusarium oxysporum je polifagna gljiva iz roda *Fusarium*. Napada razne biljne kulture, a najštetnija je na vrstama iz porodice trava (*Gramineae*) . Razvijaju se u provodnim elementima biljnog tkiva, gdje uzrokuju tip oboljenja zvan traheomikoze. Gljiva spada u značajnije biljne uzročnike bolesti, a kod nas je zabilježena kao veliki problem na žitaricama (Radman, 1978.).

Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih koncentarcija propolisa na porast gljiva *Fusarium oxysporum* i *Alternaria brassicae*.

2. Pregled literature

Glavni sastojci propolisa su: smola 40-50 % (flavonoidi, fenolne kiseline i esteri), voskovi i masne kiseline (25-35 % uglavnom pčelinji vosak i vosak biljnog projekla), esencijalna ulja (10 % hlapljiva), pelud (5 % proteini i aminokiseline), te ostali spojevi (5 % Fe, Zn, Au, Ag, Cs, Hg, steroidi, ketoni, vitamin B i šećeri) (Krell, 1996.).

Specifična težina propolisa kreće se između 1,112 i 1,113°C. Nema određenu točku topljivosti, a najveća topivost mu je između 8°C 0 i 105°C .U hladnoj vodi se slabije otapa, dok u toploj bolje (7 do 19 %). U eteru zagrijanom na 123°C, rastopi se 66 % propolisa. U etilnom alkoholu topi se od 50 do 70 %, a u acetonu 20 do 40 %. Najbolje se otapa kad je u praškastom stanju, a o strukturi i veličini komadića mu ovisi topivost. U mješavini različitih topiva (eter i alkohol, klorofrm i alkohol) ima najveću topivost. Može se otapati i u benzinu, ulju, vazelinu i masnoćama (Kapš, 2013.).

Prema klasifikaciji svjetske organizacije proizvoda pčelarstva, postoje tri vrste propolisa: brazilski, europski i propolis sjevernih regija Rusije (sibirski). Kvaliteta propolisa određuje se prema organoleptičkim pokazateljima (vanjski izgled, boja, miris, ukus, struktura, ukus i konzistencija), kao i prema fizikalno-kemijskim svojstvima (oksidativnost, fenolni spojevi, jodni broj) (Mujić i sur. 2014.).

Bioflavonoidi su skupina antioksidanasa koji pozitivno utječu na ljudsko zdravlje, biljnog su porijekla, a smatra se da su glavna djelatna tvar u propolisu u kojem je pronađeno više skupina. Najvažniji prisutni u propolisu su: galangin, koji djeluje na sljedeću skupinu mikroorganizama: *Bacillus subtilis, Bacillus alvei, Proteus vulgaris, Escherichia coli, Staphyilococcus aureus pinocembrin, Aspergillus flavus, Herpes simplex virus,* kvercetin koji djeluje na: *Aspergillus flavus, Bacillus subtilis, Staphyilococcus aureus, Escherichia coli, Herpes simplex virus,* naringin, koji djeluje na: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*, apigenin, djeluje na: *Staphylococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Herpes simplex virus,* te krizin koji djeluje na: *Staphylococcus pneumoniae, Herpes simplex virus* (Kapš, 2013.).

Preparati na bazi propolisa mogu se koristiti u obliku vodene, alkoholne, hidroalkoholne otopine te u obliku propolisnog ulja (Znaor, 1996.).

Prema Kapš (2013.), sve je veći broj studija koje kombiniraju protumikrobna i druga biološka svojstva istraživana kemijskim analizama ispitanih uzoraka propolisa, od kojih je jedna rađena na većem broju uzoraka iz različitih krajeva svijeta, gdje su utvrđene protumikrobne tvari u svim tretiranim uzorcima propolisa.

Najveći doprinos znanosti o propolisu ima S.A. Popravko koji je sa suradnicima obavio brojna istraživanja o propolisu. Pomoću kromatografske metode, ultraljubičaste i infracrvene spektrometrije izolirao je 18 sastojaka od kojih je 11 bilo utvrđeno prvi puta. U propolisu je pronašao flavonoide koji iznose 1 do 4 % sastava propolisa: krizin, tektokrizin, galangin, izalpinin, ramnocitrin, kempferol, pinocembrin, pinostrobin i izovalin (Kapš, 2013.)

Curifuta i sur., (2012.) istraživali su utjecaj čileanskog propolisa na 6 vrsta fitopatogenih gljiva: *Alternaria alternata, Fusarium* sp., *Ulocladium* sp., *Bortrytis cinera., Penicilium expansum* i *Trichoderma resei.* Gljive su tretirali sa 6 ekstrakta komercijalnog propolisa koji su umiješali u hranjivu podlogu (PDA), te su mjerili promjer micelija svaki dan, a promatrali su ih ovisno o dužini trajanja životnog vijeka određene kulture. Rezultat istraživanja pokazao je da etanolni ekstrakt čileanskog propolisa ima inhibirajuće djelovanje na ekonomski važnim poljoprivrednim gljivicama uzgojenim *in vitro*.

Antifungalna svojstva propolisa ispitivao je Ozcan (1999.). Tokom pokusa tretirao je gljive: *Alternaria alternata, Aspergillus niger, Aspergillus parasiticus , Botrytis cinerea, Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* i *Penicillium digitatum.* Koristio je vodeni ekstrakt propolisa u koncentraciji od 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 % i 4 %. Koncentracija od 4 % imala je najjače inhibirajuće djelovanje na porast gljiva. Prve četiri koncentracije također su pokazale značajno inhibirajuće djelovanje. U prvih 6 dana inhibirajuće djelovanje se najjače iskazivalo, kod *A. alternata* čak od 45-60 %, već do 10 dana inhibitorni učinak se smanjio što bi se moglo pripisati vrsti gljivica, dozi uzorka te djelotvornoj količini materijala. Sve koncentracije (osim 4 %) imale su manji učinak na *A. niger, A. parasiticus i B. cynerea* (osim 2 %) te *F. oxysporum*. Gljive na koje su najviše utjecale sve koncentracije propolisa su *A. alternata i R. digitatum*. U istraživanju je dokazano da propolis otopljen u vodi u koncentraciji od 4 % i većoj ima jako veliko antifungalno djelovanje na ove sojeve gljiva.

Turski istraživači (Guler i sur., 2005.) na Sveučilištu Kirikale utvrdili su da propolis djeluje na sklerozaciju gljive *Morchella conica*. Rabili su različite koncentracije otopine propolisa od 0,5 do 2,0 %. Gljive su uzgajali na slatkom ekstarktu agara. Nakon 10 dana micelij je dobio okrugao oblik s debelim stjenkama i značajnu sklerotizacijsku pigmentaciju. Razvoj micelija gljiva bio je spriječen.

Porema Shangalliju (1990.) primjena propolisa preporuča se u poslježetvenoj pripremi i u konzerviranju voćaka.

Osim antigljivičnog, antibakterijskog te antiviralnog djelovanja na protozoe Marcucci i sur. (1995.) dokazali su i biološki učinak propolisa na regeneraciju nosnog tkiva, kostiju, zubne pulpe, imunoproduktivno svojstvo, poticanje detoksikacije jetre te antioksidativna svojstva.

Istraživanjem provedenim na 94 tipa anaerobnih sojeva kliničkih bakterija koje su tretirane bugarskim propolisom, Boyanova i sur. (2005.) otkrili su da propolis djeluje inhibicijski na većinu anaerobnih sojeva, te da se daljnjim istraživanjem može unaprijediti njegova uporaba u medicini.

Utjecaj propolisa na štetni kolesterol (LDL) ispitali su istraživači Abd El-Hady-a i sur., (2002). Oni su utvrdili da osam različitih vrsta proplisa sprječava oksidativne promjene štetnog kolesterola, što inhibira napredovanje ateroskleroze, i otkrili su da sve istraživane vrste propolisa imaju antivirusni učinak. Eksperiment su napravili sa virusima atipične kokošje kuge i zarazne vrste bursa virusa (*Bursa fabrici*). U proučavanim vrstama propolisa pronašli su 42 vrste polifenolnih spojeva, 13 aromatskih kiselina, estere i alkohole. U tom istraživanju također su otkrili da europske vrste propolisa djeluju na bakterije: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* i *Candida albicans*. Od svih na kandidu je najbolji utjecaj imao austrijski propolis.

Propolis također pozitivno djeluje na imunološki sustav, te ne pokazuje nikakve nuspojave nakon primjene. Antimikrobna aktivnost kao i njegovo djelovanje preko stimulacije imunološkog sustava gdje utječe na daljnje uništavanje štetnih mikroorganizama dokazana je u radu istraživača Sforcina (2011.).

Utvrđeno je da propolis inhibitorno djeluje na *Candidu albicans,* koja je uzročnik bolesti dišnog sustava, probavnog trakta i usne šupljine. U ovom istraživanju je utvrđeno ja da koncentracija

od 0,22 mg/ml ima inhibitoran učinak na razvoj gljive, kao i manje koncentracije korištene u istraživanju. Propolis je djelovao na strukturu plazma membrane koja se raspala vrlo brzo (15-30 sekundi nakon tretiranja) (Auria i sur., 2003.).

Antiprotozivnu aktivnost propolisa promatrao je Mladenov (1986.) na kulturama praživotinja *Paramecium caudatum, Stylonyichia mytilus, Euglena viridis, Trichomonas vaginalis* i dr. Mikroskopom je uz povećanje od 400 puta opažao događanja u mikroorganizmima koje je tretirao ekstraktom propolisa u etilnom alkoholu, vodi, voćnoj i grožđanoj rakiji. Praživotinje je tretirao različitim otopinama propolisovog ekstrakta (16 %, 8 %, 4 %, 2 %, 1 %, 0,5 % i 0,25 %). Utvrdio je da su se nakon mješnja s propolisom kod praživotinja pojavile degenerativne promjene. Citoplazma je potamnila, stanične strukture su se promjenile, a stanična jezgra je nestala. Protoplazma je postajala zrnasta i posljedično se raspadala. Pri različitim koncentracijama otopina propolisa taj se proces odvijao s različitim duljinama trajanja. Kod alkoholnih otopina (1 %, 6 %, 8 % i 4 %) to je vrijeme bilo između 3 i 8 sekundi, pri otopinama s rakijom 23 sekunde, a pri vodenom ekstratu trajalo je 40 sekundi. Istraživanja su pokazala da u propolisu postoje tvari koje uništavaju protozoe.

Varoa destructor je grinja koja uzrokuje velike štete kod pčelarske proizvodnje. Pozitivan utjecaj propolisa na suzbijanje ovog nametnika istražili su Damiani i sur., (2010.). Proučavali su biološku aktivnost 14 uzoraka propolisa iz različitih regija Argentine. Postotak grinja koje su tertirali propolisom smanjio se za 60,5 % i 90 % nakon 30 sekundi izloženosti.

Propolis se primjenjuje i u prehrambenoj tehnologiji. 1989. godine Mizuno je propolis patentirao kao konzervans. Smatra se da je prednost propolisa kod konzerviranja njegov pozitivan zdravstveni učinak (Mujić i sur., 2014.).

Inhibitorno djelovanje propolisa na bakteriju *Clostridium oedematiens* potvrdili su egipatski istraživači Hegazi i sur. (2002). To su gram pozitivne bakterije koje uzrokuju bolesti kod ljudi i životinja. Ova bakterija proizvodi i aflatoksin. Baktericidno djelovanje na ove bakterije pokazali su: diprenil-dihidrokumarična kiselina (4,1 %), esteri kumarične kiseline (10,9 %), benzofuranov lignin (13,5 %) i derivati valerične kiseline (11,4 %).

Miguel i sur. (2011.) su proveli istraživanje o sigurnosti propolisa u alternativnom liječenju. Svoje istraživanje su usmjerili na kemijsku varijabilnost fenola i hlapljivih tvari iz propolisa, te

njihovu ponašanje u biološkim procesima. Kroz pokus su ispitivali kemijska svojstva propolisa iz različitih regija (Rusija, Brazil, Kuba, Venezuela, Okinawa i Taiwan). Unatoč različitom kemijskom sadržaju ovih propolisa otkrili su da svi imaju jednako ili slično djelovanje na biološke procese. Zaključili su da se propolis može uzimati kao alternativa za razne bolesti. Međutim nije posve bezopasan. Neki kemijski sastojci uzročnici su pojave alergija, pa se preporučuje konzultiranje sa liječnikom prije upotrebe.

Alkoholni ekstrakt propolisa smatra se jednim od najbogatijih izvora flavonoida i fenolnih kiselina. Njegovi spojevi su kroz istraživanja pokazali utjecaj na različite biološke aktivnosti. U istraživanju koje su proveli Szliszka i sur., (2009.) očitovan je značajan utjecaj pojedinih sastojaka propolisa na tumorske stanice, čiji porast inhibiraju. Nakon testa citotoksičnosti uspostavili su da ti sastojci nisu štetni prema normalnim stanicama, čime su dali na važnosti propolisu kao lijeku za kemoprevenciju tumora.

Alternaria je rod gljiva koji uzrokuje koncentričnu mrku pjegavost.Gljiva ne spada u značajnu grupu po patogenosti, ali je jako raširena zbog visoke adaptibilnosti. Četiri vrste koji uzrokuju značajne ekonomske štete u proizvodnji suncokreta su: *Alternaria alternata, Alternaria tenuissima, Alternaria atrans* i *Alternaria* spp. (Aćimović, 1988.). Ove četiri gljive spadaju u grupu fakultativnih parazita (polifagne). Razlikuju se po veličini, obliku i boji konidiofora, konidija i micelija. Sve gljive iz roda *Alternaria* zarazu obavljaju konidijama. Klijanje konidija odvija se na visokoj vlažnosti zraka, u kapljicama vode 1-5 sati, na temperaturi od 5 do 35°C. Glavne mjere suzbijanja ove gljive su pravilan plodored, uništavanje zaraženih biljnih ostataka, duboko zaoravanje, sjetva otpornih sorata te sjetva zdravog sjemena. Bolest uzrokovana *Alternaria* vrstama raširene su u svim dijelovima svijeta, posebno u uzgoju soje. Kod soje se javlja na svim dijelovima, a posebno na listovima i sjemenu. Najkarakterističniji simptomi su crne pjege na listovima (Vratarić i Sudarić, 2008.).

Simptomi zaraze *Alternaria* vrstama vidljivi su kao kružne pjege sivo-smeđe boje sa koncentričnim krugovima, koje sačinjavaju konidije gljivice. Uljana repica ima iznimnu osjetljivost na *Alternaria brassicae*. Kao mjere zaštite navode se primjena odgovarajuće agrotehnike i stvaranja optimalnih uvjeta za razvoj biljke (Radman, 1978.).

Značajna štetna gljiva kod suncokreta je *Alternaria helianti*, koja je rasprostranjena diljem svijeta u uzgoju suncokreta. Ova gljiva je parazitna i ima relativno uzak krug domaćina. Glavni domaćini su uzgajane i divlje vrste roda *Heliantus*. Kod suncokreta velike štete uzrokuje i *A. tenuis*, koja je polifagno fakultativna biljna vrsta te ima velik krug domaćina (Jurković i Ćosić, 2004.).

Istraživač Chauhan i sur. (2009.) proučavali su utjecaj više rodova *Alternaria* na biljke iz porodice *Brassica*. Četiri vrste biljaka iz porodice zarazili su sa četiri vrste *Alternaria*;
Brassica compestris zaražena je sa gljivom *Alternaria brassicae* i *A. brassicicola, Brassica oleraceae* je zaražena gljivom *Alternaria brassicae, A. brassicicola,* i *A. raphani, B. nigra* je zaražena gljivom *Alternaria brassicae* i *A. brassicicola, Raphanus sativus* je zaražena gljivom *Alternaria brassicae, A. brassicicola* i *A. rapani.* Uzorci su inkubirani u laboratoriju na sobnoj temperaturi**,** 20°C. Vrste su odgovarajućim priborom izravno prenesene na kulturu. U ovom radu na sve četiri vrste utvrđene su znatne štete od gljive roda *Alternaria.* Simptomi su bili slični na svim uzorcima, najprije su se pojavljivale pjege a zatim venuća koja su uzrokovala odumiranje pojedinih biljnih djelova, najčešće lista.

Velike štete od gljive *Alternaria citri* zabilježene su i na plodovima agruma. Na mjestima spoja stapke i ploda, ili na suprotnoj strani na samome vrhu voćke dolazi do pojave spužvastog, suhog tkiva svjetlosmeđe boje. Inkubacija plodova traje dugo, naročito u hladnjačama, ali spore dugo ostaju pritajene pa infekcija može nastati i naknadno. Zbog te pojave se infekcija češće javlja na plodovima koji se dugo skladište. Osim ove vrste plodove napada i *A. alternata* koja se kao saprofit naseljava na oštećene plodove (Cvjetković, 2010.).

Bolesti koje uzrokuju gljive iz roda *Fusarium* nazivaju se fuzarioze. Vrste iz ovoga roda preživljavaju u tlu na različitim biljnim ostacima u obliku klamidiospora ili micelija. Optimalne temperature za razvoj su između 14°C i 23°C, te je poželjno dosta vlage u tlu. Najbolje mjere suzbijanja su sadnja otpornih sorti, te se preporuča sjetva zdravog sjemena u toplu i prozračnu zemlju. *Fusarium oxysporum* uzrokuje uvenuće biljaka i trulež korijena. Unutar ove vrste poznat je veliki broj varijeteta koji parazitiraju na brojnim biljnim vrstama uzrokujući znatne štete. Kod soje se javlja tijekom cijele vegetacije, od nicanja biljaka do zriobe. Prvi simptomi bolesti uočavaju se na klijancima, zaražene biljke niču sporije i kada rastu slabije su (Vratarić i Sudarić 2008.).

Rod *Fusarium* posjeduje veliku adaptilnost na različite ekstremne uvjete te je zbog toga jako proširen u različitim agroklimatskim regijama svijeta. Ujedno je i vrlo značajan s ekonomskog aspekta u poljoprivrednoj proizvodnji (Booth 1971.).

Simptomi bolesti iznenadnog ugibanja biljaka zbog fuzarioza pojavljuju se u reproduktivnim fazama razvoja biljaka soje, uz određeno variranje po lokalitetima (Grau i sur., 2004.).

Prema Bennetu i Klichu (2003.) najopasniji proizvod gljiva jesu mikotoksini, sekundarni metaboliti gljiva. Uzrokuju pojavu različitih bolesti kod ljudi i životinja, a kadikad nastupa i smrt. Najviše koncentracije nastaju pri pojavi bolesti na uskladištenim biljkama.

Velike štete na žitaricama čine vrste iz roda *Fusarium* koje najčešće napadaju porodicu *Gramineae*. Razvijaju različite strome i konidije, nježno obojene ako su u naslagama. Iz stroma nastaju makronidije, karakteristične za rod *Fusarium*. Veliki broj vrsta razvija se u provodnim elementima biljnog tkiva. Većina vrsta fakultativni su paraziti. Veliki broj iz ove grupe raširen je u Hrvatskoj na žitaricama te čini goleme štete (Radman, 1978.).

Bolest koja se javlja na agrumima nakon izmrzavanja koju uzrokuje do sad ne determinirana gljiva iz roda *Fusarium*, uzrokuje suhu trulež korijena agruma. Na kori agruma koju nakon ranjavanja naseli se *Fusarium* i dolazi do venuća. Na kori se pojavljuju ulegnuća koja uzrokuju pucanje kore. Simptomi se pojavljuju na nekoliko mjesta u krošnji (grana, deblo) ili na korijenu. Oštećenja prisutna na tim mjestima uzrokuju blagu klorozu mladih listova, te sušenje. Često ti listovi ne otpadnu, nego osušeni ostanu visjeti na granama, nakon čega se zarazi dio ili cijela krošnja. Izravne mjere zaštite nakon zaraze biljke ne postoje (Cvjetković, 2010).

2002. godine fuzarioze su u Hrvatskoj uzrokovale velike štete samanjenjem uroda pšenice, te samanjenjem ostalih komponenata prinosa. Zbog toga su mnogi proizvođači imali problem kod predaje pšenice za proizvodnju u mlinove kao i za silose. Direktna šteta koju uzrokuju fuzarioze jest smanjenje roda, dok je indirektna proizvodnja mikotoksina. Smatra se da je ta godina bila pogodna za razvoj fuzarioza zbog klimatskih uvjeta na koje se nije moglo utjecati (optimalne

temperature za razvoj gljive kao i obilne oborine). Problem se odrazio u proizvodnji i na sljedeću godinu čemu je razlog bilo zaraženo sjeme i ostaci zaraženih listova te je parazit prešao na mlade biljke (Korić, 2003.).

3. Materijali i metode rada

Pokus je proveden u Laboratoriju za fitopatologiju na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku u veljači i ožujku 2015. godine. Napravljen je prema uzoru na pokus koji su napravili Curifuta i sur. (2012.) u Čileu.

U pokusu smo ispitali utjecaj propolisa (slika 1.) otopljenog u alkoholu u tri koncentracije: 0,5 %, 1 % te 2,5 % na dvije vrste fitopatogenih gljiva *Alternaria brassicae* i *Fusarium oxysporum*.



Slika 1. Propolis korišten u pokusu (proizvođač: Apimel d.o.o. Čepin)

(original)

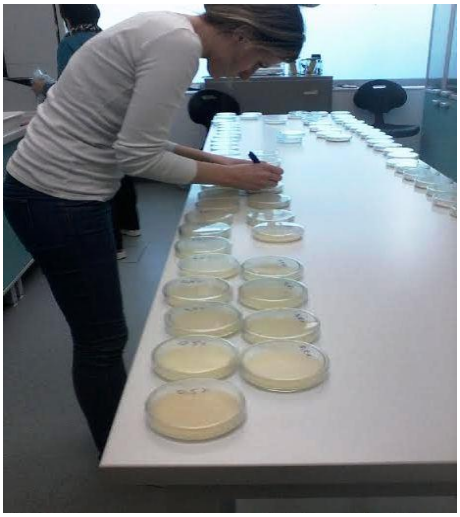
Pokus smo započeli sterilizacijom Petrijevih zdjelica promjera 90 mm i pribora. Za pripremu podloge koristili smo destiliranu vodu, PDA (krumpirov agar) i tehnički agar.

Petrijeve zdjelice zamotali smo u novinski papir i stavili autoklavirati (sterilizacija) na 121°C, 20 minuta, te ih potom označavali, pojedinačno za svaku podlogu (slika 3.). U jednu Erlenmayerovu tikvicu dodali smo 725 ml destilirane vode te 21,5 g PDA podloge u prahu i 3,5 g tehničkog agara. Smjesu smo otapali kuhanjem, a nakon toga hladili na temperaturi od 55°C. Koristili smo 3 tikvice za tri koncentracije. U jednu smjesu količine 425 ml dodali smo 25 ml propolisa koji smo sa smjesom promiješali mućkanjem (slika 2). U drugu smjesu količine 375 ml dodali smo 125 ml propolisa. U treću smjesu smo dodali 25 ml propolisa. Petrijeve zdjelice

punili smo podlogom s koncentracijama od 0,5 %, 1 % te 2,5 % propolisa, po 4 zdjelice za svaku koncentraciju.



Slika 2. Priprema podloge, miješanje smjese sa propolisom (original)



Slika 3. Označavanje Petrijevih zdjelica (original)

Nakon pripreme podloga slijedila je inokulacija izolata u laminariju (slika 4.). Za inokulaciju je korišten sedam dana star micelij gljiva. Dobivene diskove promjera 5 mm smo sterilnim priborom nanosili na sredinu Petrijeve zdjelice. Micelij gljive okrenut je prema podlozi prilikom nanošenja. Nakon inokulacije Petrijeve zdjelice smo stavili u termostat, u kojem smo ih držali na temperaturi od 22°C.



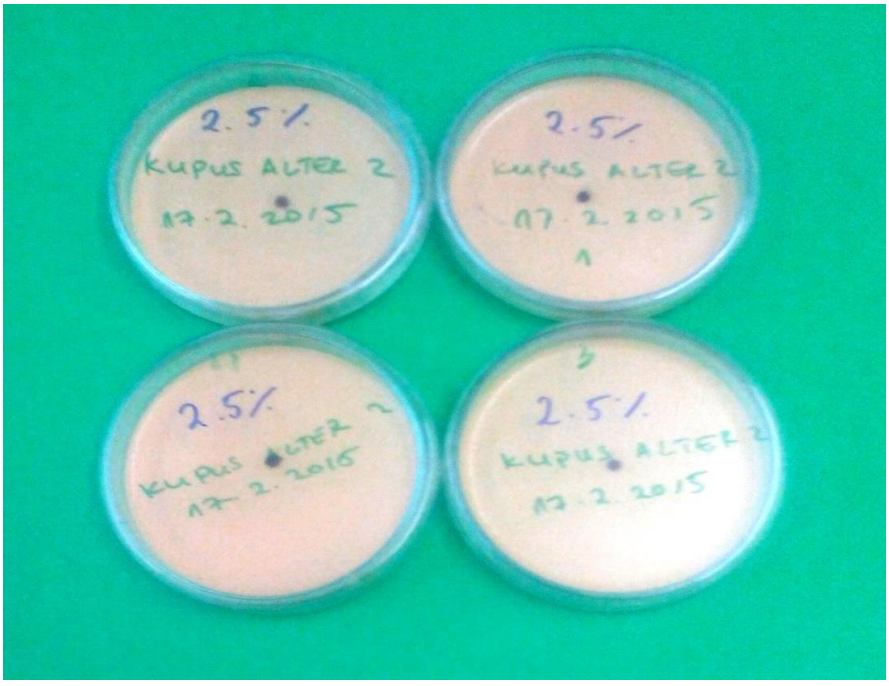
Slika 4. Inokulacija izolata unutar laminarija (original)

Prvo mjerenje porasta micelija obavljeno je 2 dana od inokulacije. Mjerenje je izvršeno pomoću ravnala, kojim se mjerio promjer micelija preko sredine diska u vodoravnom smjeru. Mjerenje je vršeno svaki dan u periodu od 32 dana, a za rezultate i raspravu odabrani su dani s najznačajnijim promjenama.

Slika 5. prikazuje primjer kontrolne skupine dviju gljiva, s progresivnim porastom, fotografirane 3 dana nakon cijepljenja, gdje dolazi do porasta gljive pa je mjerenje lako izvedivo, dok je mjerenje izostavljeno na podlogama bez porasta (slika 6.).



Slika 5. Razvoj kontrolne skupine 3. dan nakon nacjepljenja *A.brassicae* i *F. oxysporum* (original)



Slika 6. Izgled *A. brassicae* nakon 32 dana mjerenja, na najvećoj koncentraciji (original)

4. Rezultati i rasprava

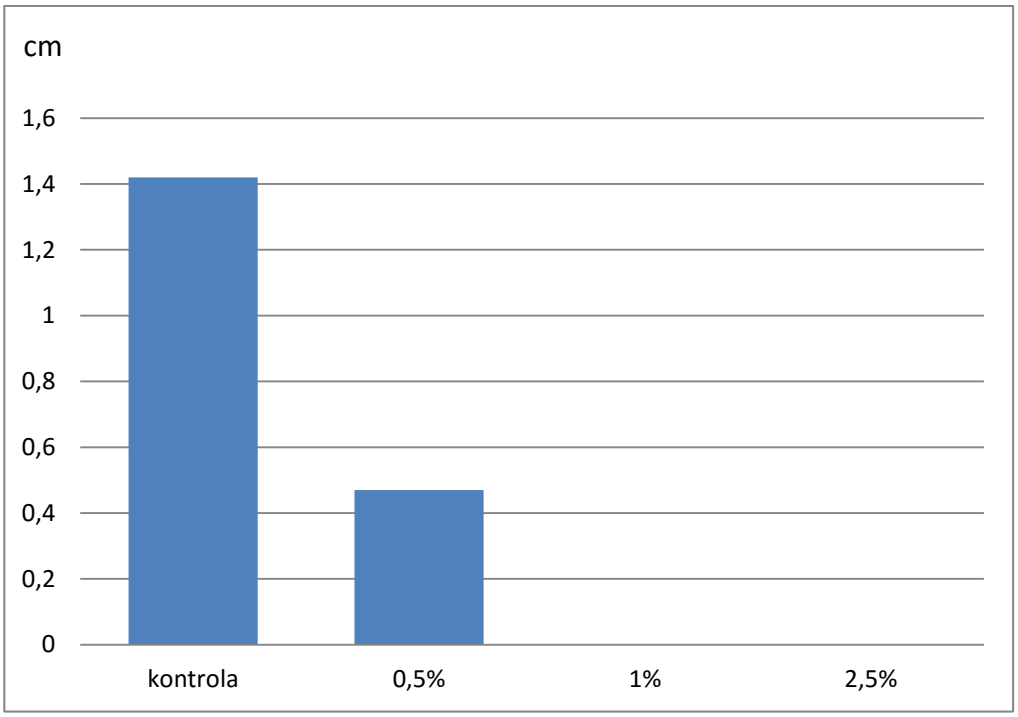
4.1. Utjecaj alkoholne otopine različitih koncentracija propolisa na porast micelija *Alternaria brassicae*

U tablici 1. prikazana je statistička analiza porasta micelija *A. brassicae* za promatrane dane mjerenja.

Tablica 1. Porast micelija *A. brassicae* iskazan u cm (statistička analiza)

2 dana od inokulacije				
	kontrola	**0,5 %**	**1 %**	**2,5 %**
X	1,42	0,47	0	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=0,1708 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,1218				
5 dana od inokulacije				
X	5,30	1,32	0,02	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=0,6738 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=0,4806				
10 dana od inokulacije				
X	9	2,75	0,02	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=0,1395 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,0995				
14 dana od inokulacije				
X	9	4,85	0,29	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=0,7292 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=0,5201				
20 dana od inokulacije				
X	9	8,6	2	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=0,7986 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,5696				
25 dana od inokulacije				
X	9	9	2,95	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=0,3689 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=0,2631				

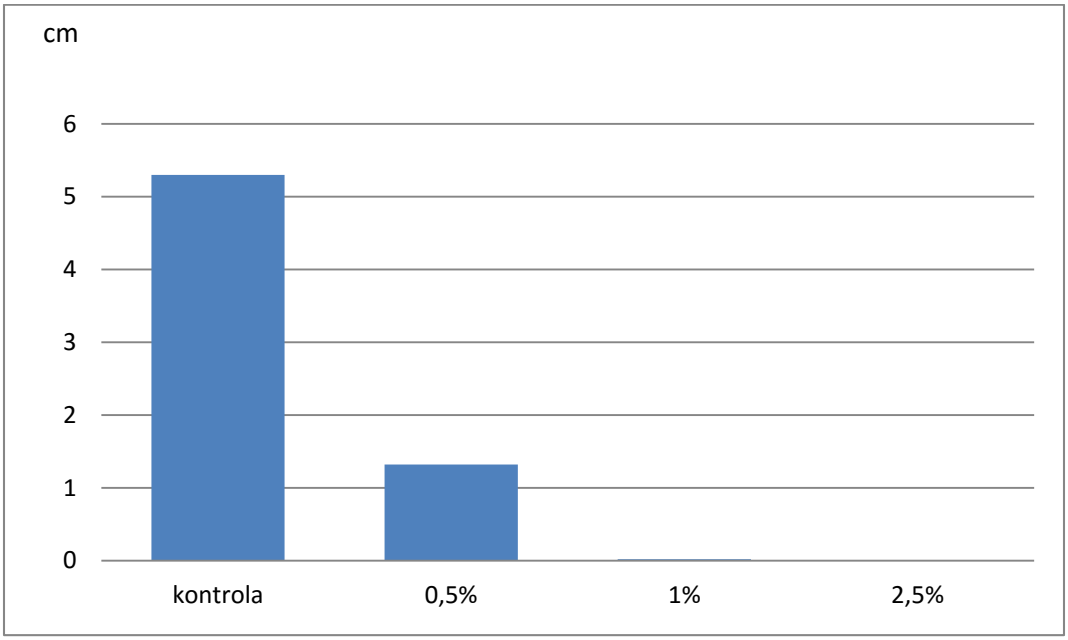
Prvo mjerenje porasta micelija izvršili smo dva dana nakon inokulacije (grafikon 1.). Mjerili smo porast na sva četiri tretmana tj. na tri koncentracije otopine alkoholnog propolisa i kontroli.



Grafikon 1. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 2 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

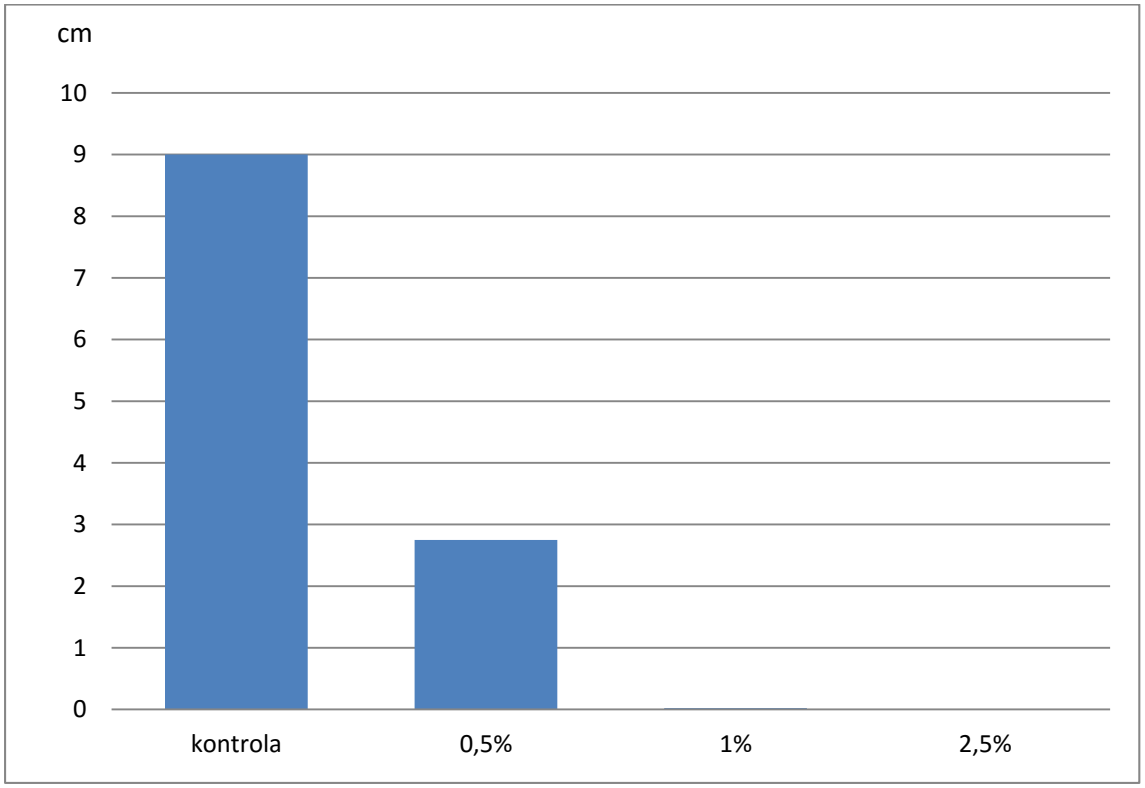
Iz ovog mjerenja utvrđen je značajan porast micelija u kontroli na kojoj je zabilježen porast od 1,42 cm. Porast micelija *Alternaria brassicae* zabilježen je na podlozi koncentracije propolisa 0,5 % u prosjeku 0,47 cm. Ostale koncentracije djelovale su inhibitorno, te nije došlo do promjena u porastu gljive. Između kontrole i ostalih tretmana utvrđene su statistički značajne razlike.

Drugo mjerenje micelija gljiva izvršili smo 5 dana nakon inokulacije (grafikon 2.). Zabilježen je porast micelija *Alternaria brassicae* u prosjeku 0,88 cm od zadnjeg mjerenja, u kontrolnoj skupini. Kod koncentracije 0,5 % je došlo do porasta za 0,85 cm od zadnjeg mjerenja. Na koncentraciji od 1 % došlo je do porasta micelija u vrijednosti od 0,02 cm. Porast nije zabilježen na koncentraciji od 2,5 %. Između kontrole i ostalih tretmana utvrđene su statistički značajne razlike.



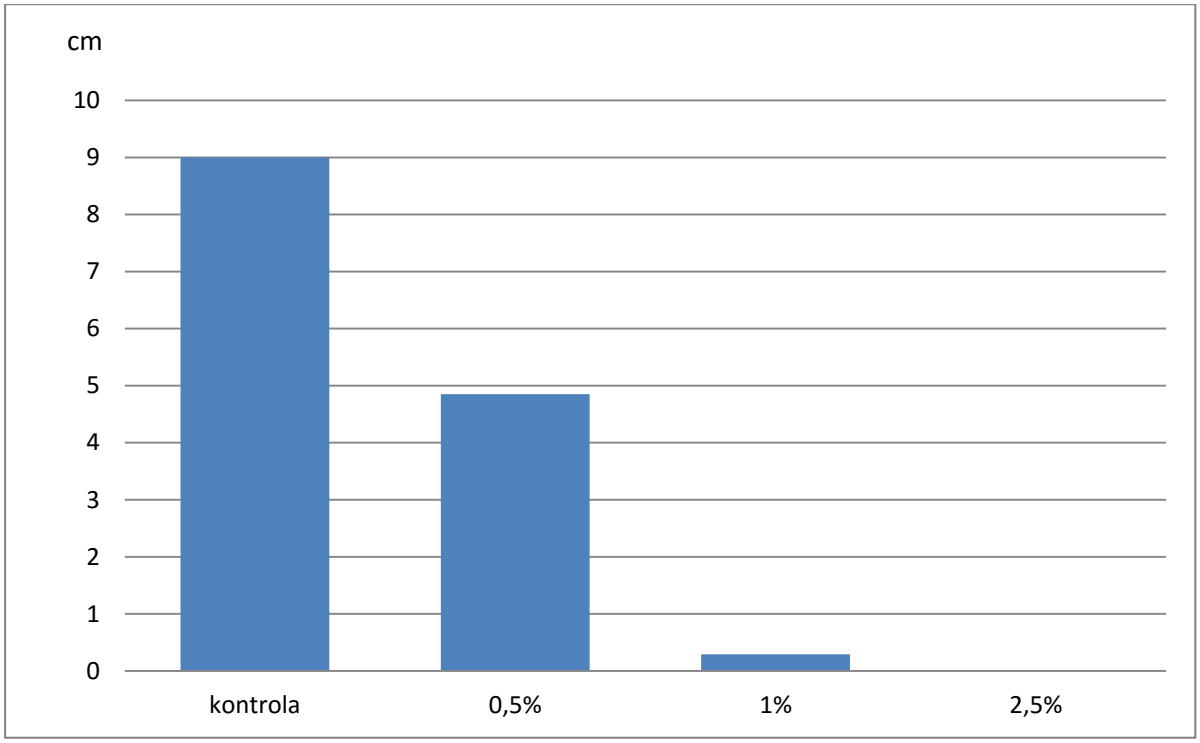
Grafikon 2. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 5 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

Treće mjerenje porasta micelija obavili smo 10 dana od inokulacije gljive. U kontroli micelij je dosegao rub Petrijeve zdjelice promjera 9 cm. Na podlozi koncentracije propolisa od 0,5 % dolazi do neznatnog porasta gljive u prosjeku oko 1,43 cm od zadnjeg mjerenja. Na podlozi koncentracije 1 % veličina micelija je ista kao i kod prethodnog mjerenja, ne dolazi do porasta. Na podlozi koncentracije 2,5 % ne bilježi se porast gljive što je prikazano u grafikonu 3. Između svih tretmana su utvrđene statistički značajne razlike.



Grafikon 3. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 10 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

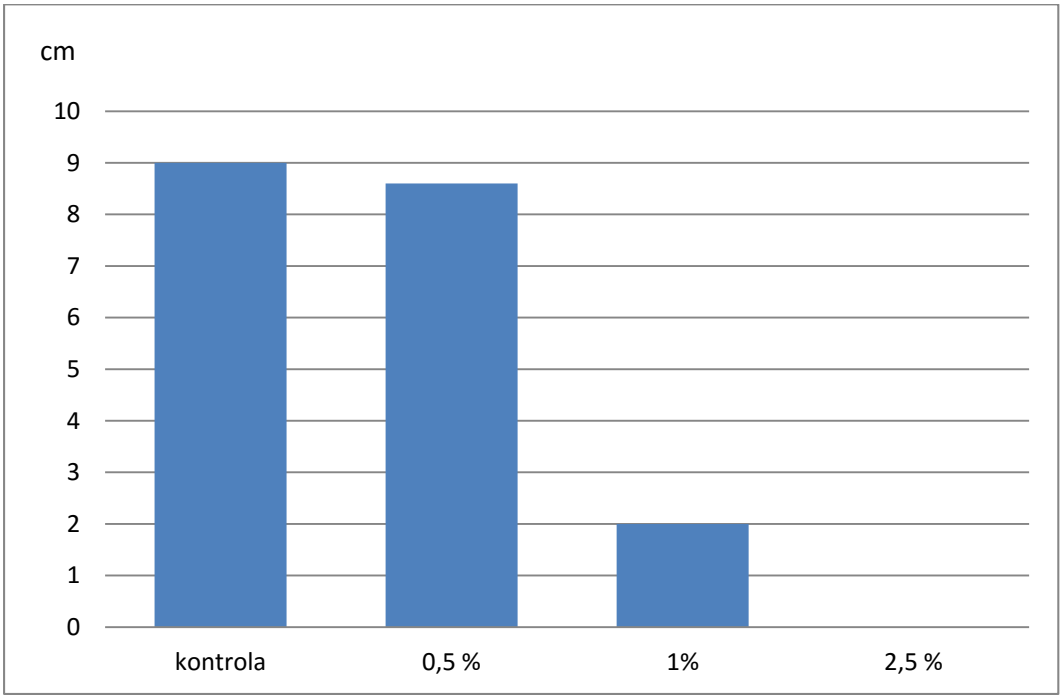
Četvrto mjerenje obavili smo 14 dana nakon inokulacije (grafikon 4.). Porast micelija gljive zabilježen je na podlozi koncentracije 0,5 % (slika 7.). Na 1 %-tnoj koncentraciji zabilježen je porast za 0,27 cm od prethodnog mjerenja, dok na 2,5 %-tnoj podlozi nema porasta.



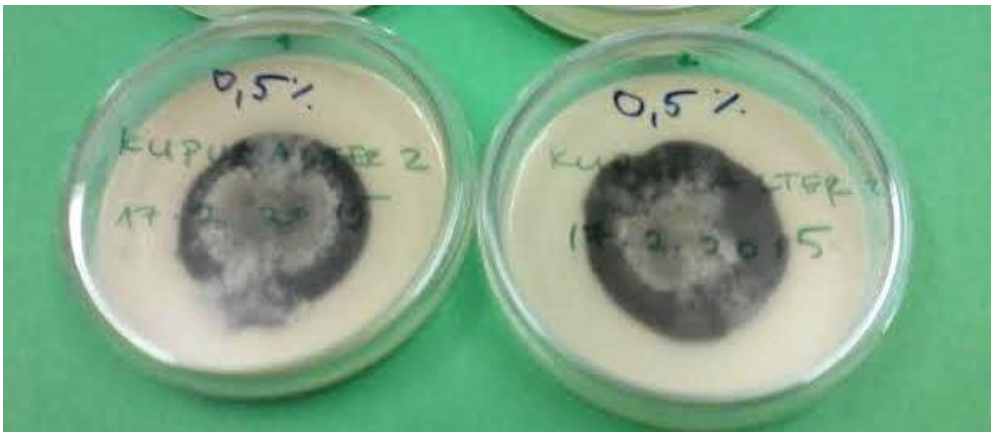
Grafikon 4. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 14 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

U istraživanju Ozcana (1999.), koji je u pokusu koristio vodenu otopinu propolisa u koncentracijama od 0,5 %, 1 %, 2 %, 3 % i 4 %, propolis je djelovao manje inhibitorno na *A. alternata* nego na ostale vrste gljiva koje su ispitivane u pokusu (*A. niger*, *A. parasictus*, *B. cynerea*, *Fusarium oxysporum* i *Penicillium digitatum*). Na podlogama do 3 %, gljive su imale veći porast, dok je 4 %-tna podloga najinhibitornije djelovala na porast gljiva. Na *A. alternata* podloge do 3 % u početku mjerenja (do 6 dana) imale su u inhibitorni učinak od 45-60 %, dok se do kraja mjerenja, gljiva razvijala većom brzinom.

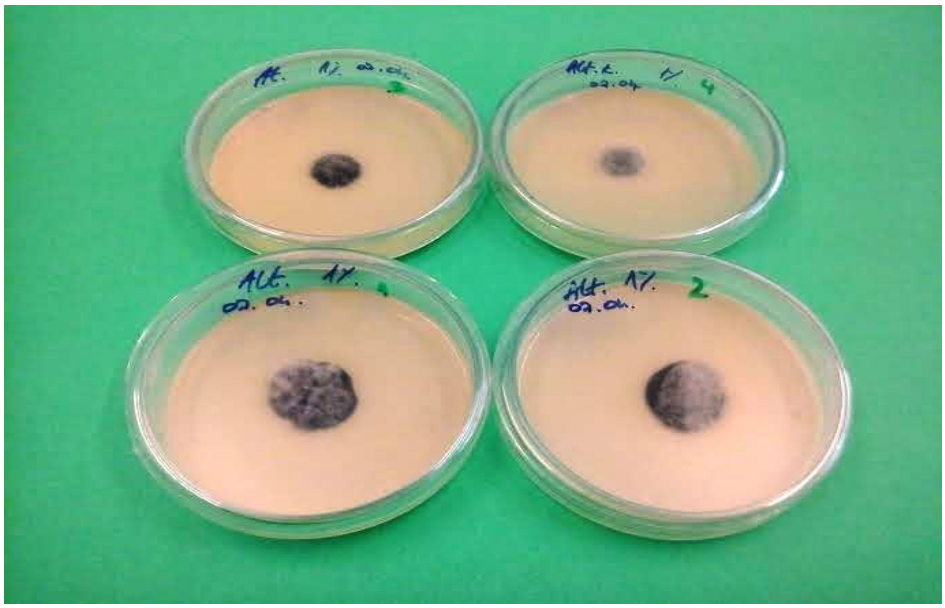
Nakon 20 dana od inokulacije došlo je do značajnijeg porasta micelija *Alternaria brassicae* na podlozi koncentracije 0,5 %. Na koncentraciji od 1 % došlo je do porasta gljive za 1,71 cm od prethodnog mjerenja (slika 8.). Koncentracija 2,5 % i dalje inhibitorno djeluje na porast gljive, nije zabilježena promjena od prvog dana inokulacije (grafikon 5.).



Grafikon 5. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 20 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

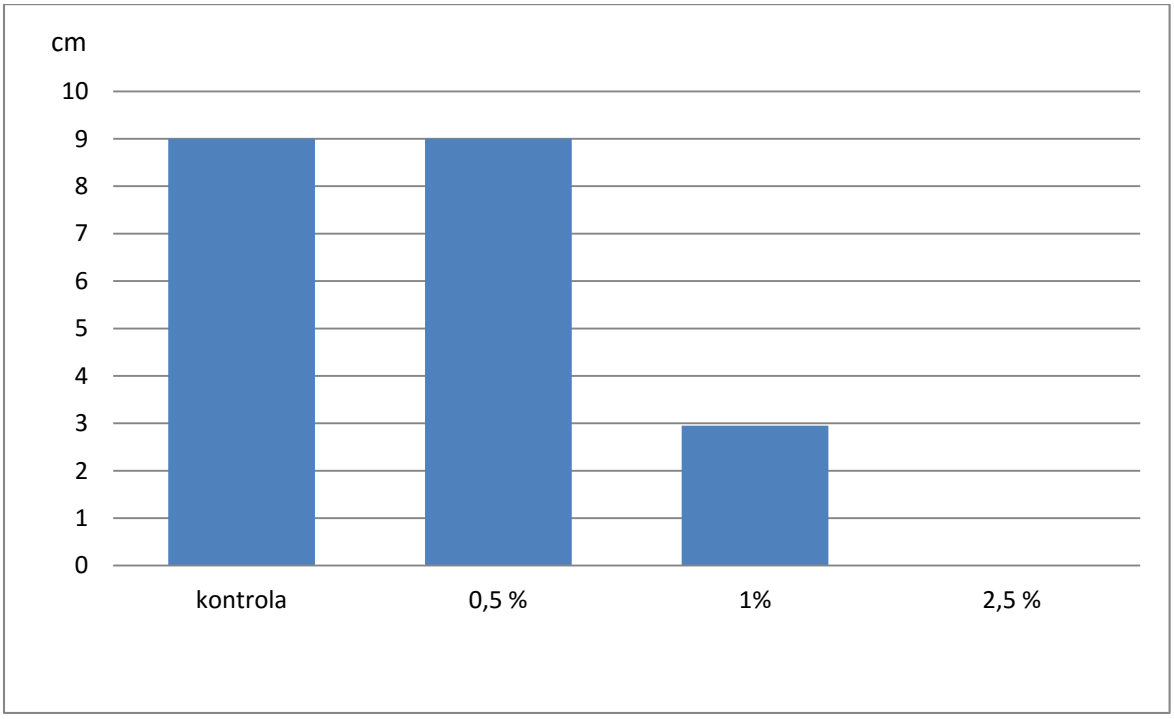


Slika 7. Porast *A. brassicae* na 0,5 %-tnoj podlozi (original)



Slika 8. Porast *A. brassicae* na 1 %-tnoj podlozi (original)

Zadnje mjerenje obavljeno je 25 dana nakon inokulacije (grafikon 6.). Micelij gljive potpuno se razvio na podlozi koncentracije 0,5 %. Na podlozi koncentracije 1 % promjer micelija je bio 2,95 cm, dok je 2,5 %-tna koncentracija u potpunosti inhibirala rast micelija.

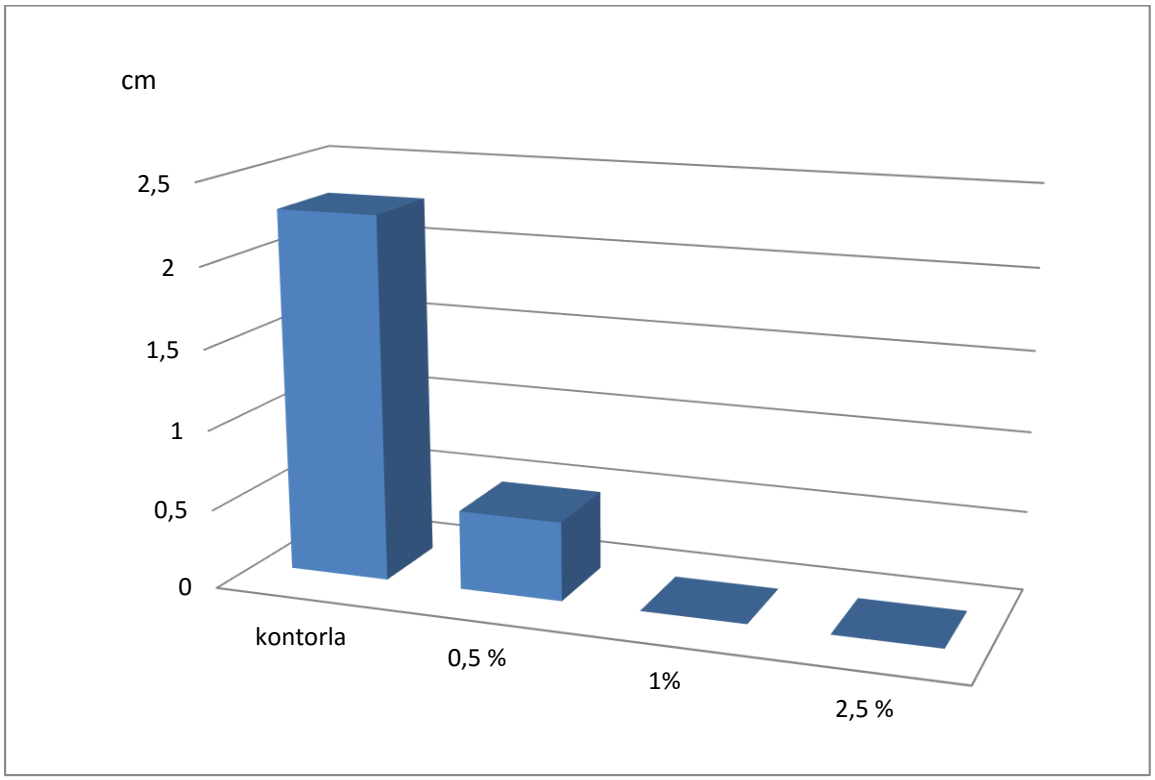


Grafikon 6. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 25 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

U istraživanju koje su proveli Curifuta i sur. (2012.) koji su koristili podloge koncentracije 0,5 %, 1 % i 2, 5 % i 5,5 % gljiva (*A. alternata*) razvila se samo do 1 %-tne koncentracije. Najmanja koncentracija korištena u provedenom istraživanju iznosila je 0,5 %, te je na njoj zabilježen porast micelija do 90 %. Kod nas se *A.brassicae* na toj podlozi razvila do kraja. Na 1 %-tnoj podlozi gljiva korištena u pokusu Curifute i sur. (2012.), razvila se približno oko 80 %, dok je kod nas porast na spomenutoj podlozi bio slabiji, na kraju mjerenja na toj podlozi narasla je do 2,95 cm. Pretpostavlja se da porast gljive ovisi i o vrsti gljive korištenoj u pokusu. Na podlogama od 2,5 % u obadva istraživanja nije došlo do porasta gljive. Istraživači u navedenom pokusu su koristili i podlogu koncentracije 5 %, koja je također djelovala 100 % inhibitorno.

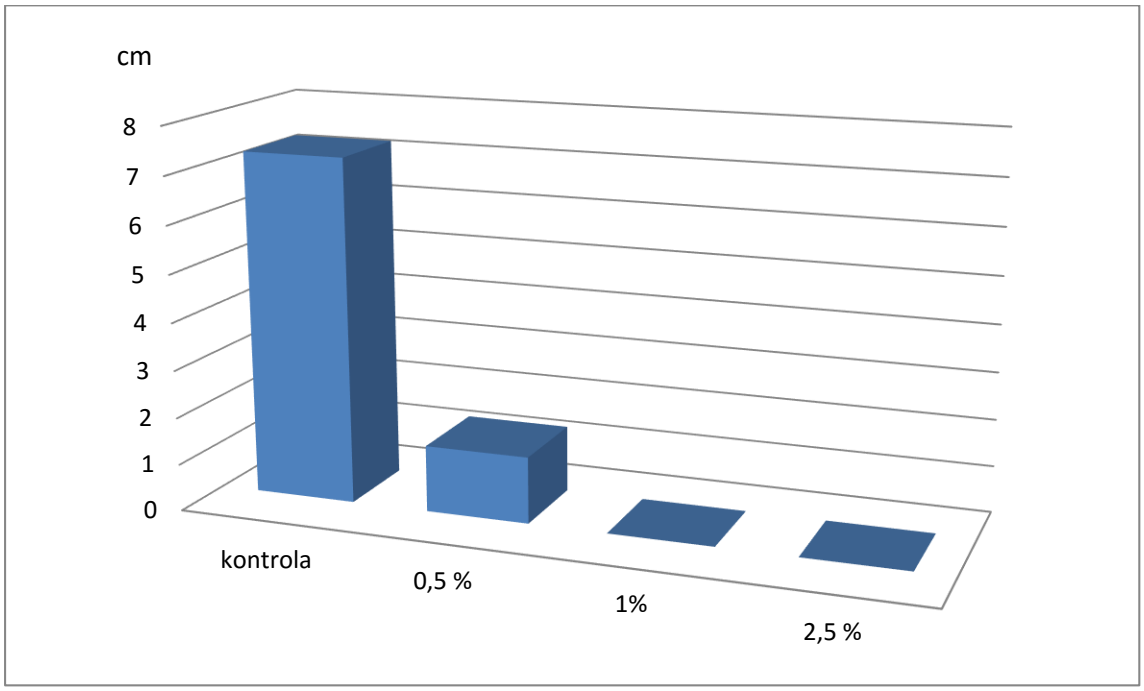
4.2. Utjecaj alkoholne otopine različitih koncentracija propolisa na porast micelija *Fusarium oxysporum*

Prvo mjerenje obavljeno je 2 dana nakon inokulacije. Zabilježen je porast micelija u kontroli te na koncentraciji od 0,5 % (grafikon 7.). Na ostalim podlogama nije došlo do porasta micelija *Fusarium oxysporum*.



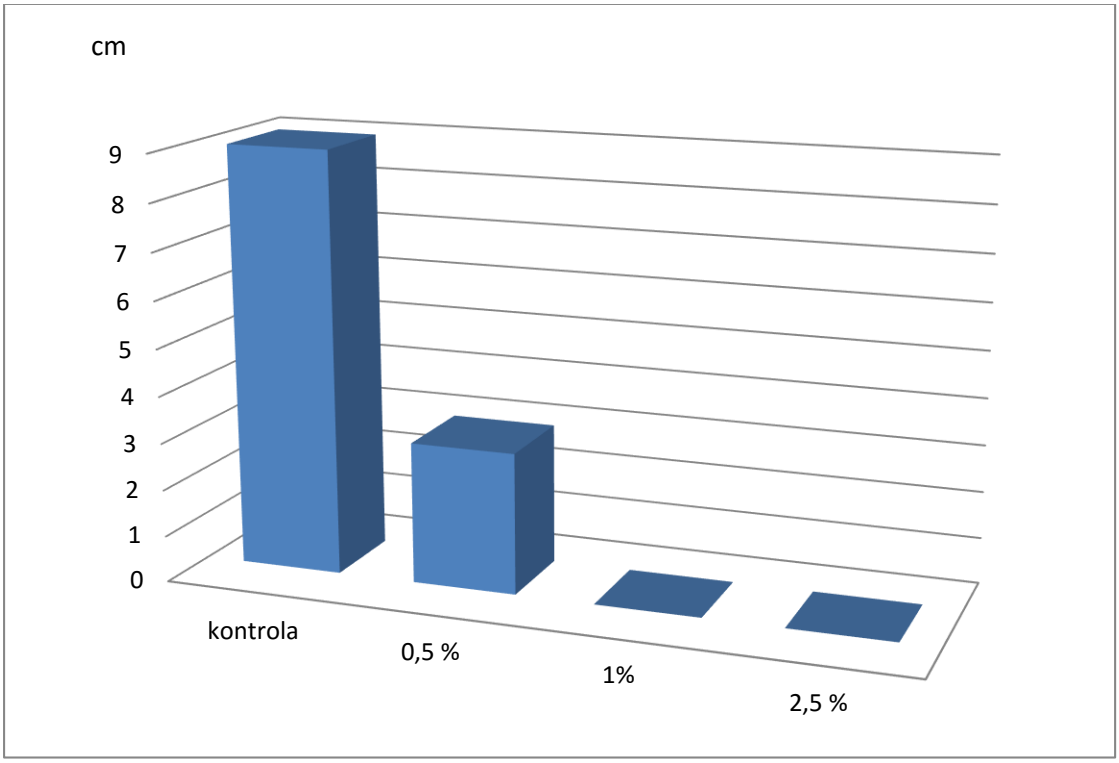
Grafikon 7. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 2 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

Drugo mjerenje je obavljeno 5 dana nakon inokulacije (grafikon 8.). U kontroli je zabilježen značajan porast micelija. Na podlozi koncentracije 0,5 % zabilježen je porast gljive za 0,92 cm od prethodnog mjerenja. Na podlogama koncentracije 1 % i 2,5 % nije utvrđen rast micelija. Između porasta u kontroli i na koncentraciji 0,5 % postoji statistički značajna razlika.



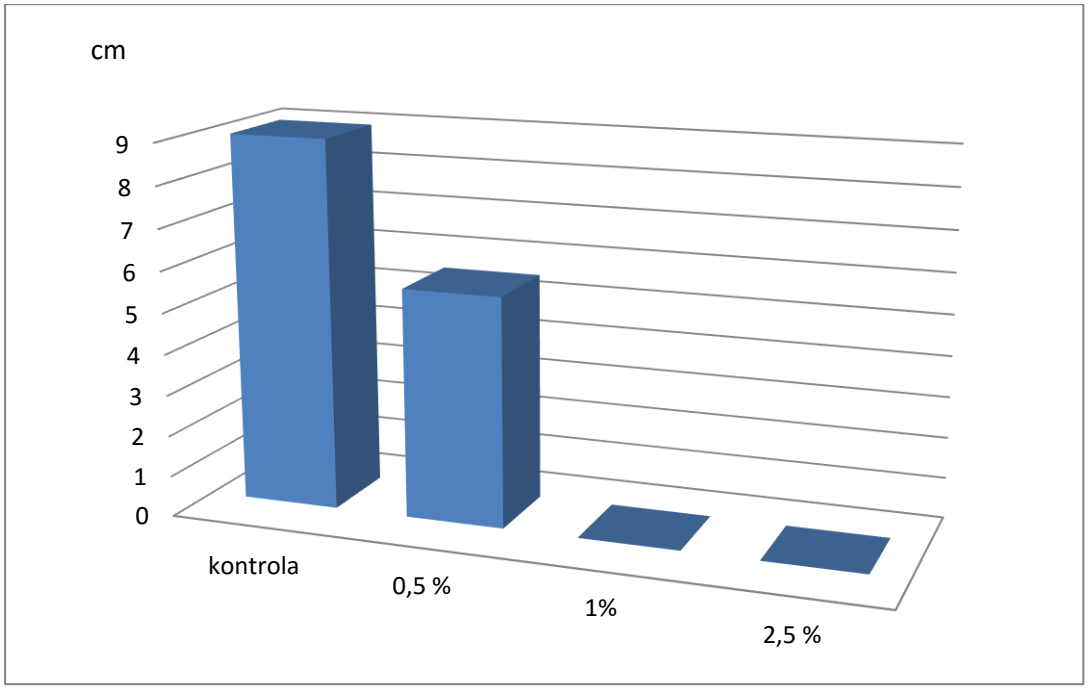
Grafikon 8. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 5 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

Treće mjerenje obavili smo 10 dana nakon inokulacije. U kontroli micelij je došao do ruba zdjelice. Porast je zabilježen i na koncentraciji od 0,5 %. Ostale koncentracije su nepromijenjene (grafikon 9.).



Grafikon 9. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 10 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

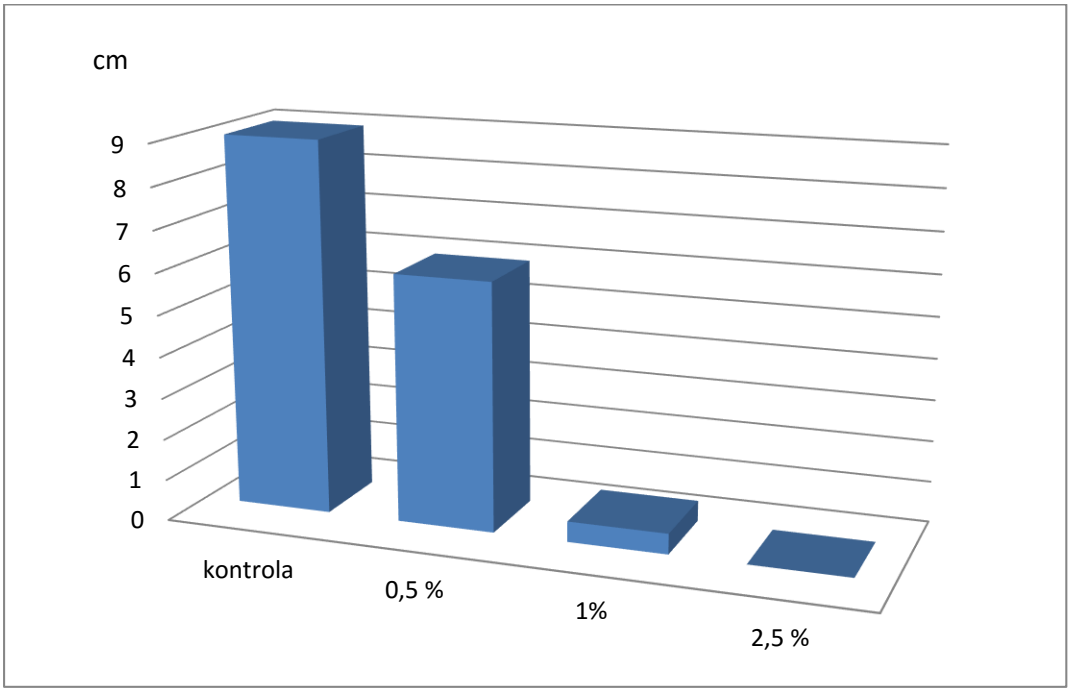
Četvrto mjerenje obavljeno je 14 dana nakon inokulacije. Na podlozi od 0,5 % micelij je bio promjera 5,6 cm. Kod 1 %-tne i 2,5 %-tne koncentracije i dalje nema rasta micelija (grafikon 10.).



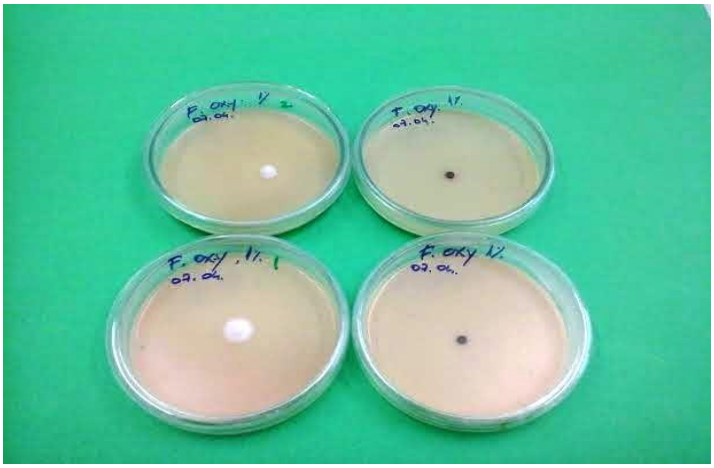
Grafikon 10. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 14 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

Na *Fusarium oxysporum* u istraživanju Curifuta i sur., (1999.) propolis je imao slično antifungalno djelovanje kao kod nas. Gljiva se razvila samo do 1 %-tne koncentracije, dok su veće koncentracije (2,5 %-tna i 5 %-tna) imale jako inhibitorno djelovanje, te nije došlo do porasta gljive. Kod *Fusarium* sp. je na kontrolnoj skupini došlo do potpunog razvoja, na 1 %-tnoj skupini gljiva se razvila oko 60 %. Kod nas je na 1 %-tnoj podlozi gljiva imala značajno slabiji porast te se na kraju mjerenja promjer micelija bio 1,15 cm (25-ti dan).

Peto mjerenje obavljeno je 20. dana nakon inokulacije (grafikon 11.). Na podlozi s 0,5 %-tnom koncentracijom propolisa utvrđen je porast micelija za 0,4 cm u odnosu na prethodno mjerenje. Na koncentraciji 1 % otopine propolisa bilježimo slab porast (slika 9.), dok na 2,5 % koncentraciji i dalje nema rasta micelija.

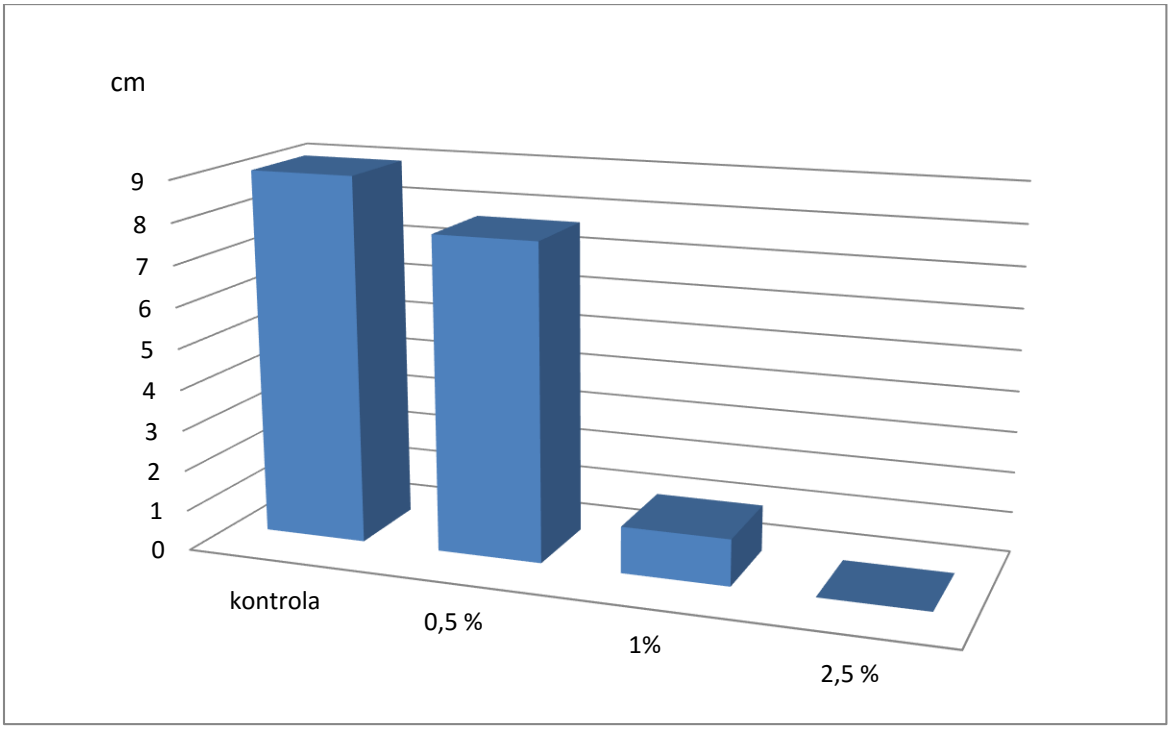


Graf 11. Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 20 dana od inokulacije na različitim koncentracijama



Slika 9. Porast micelija *F. oxysporum* na koncentraciji 1 % (original)

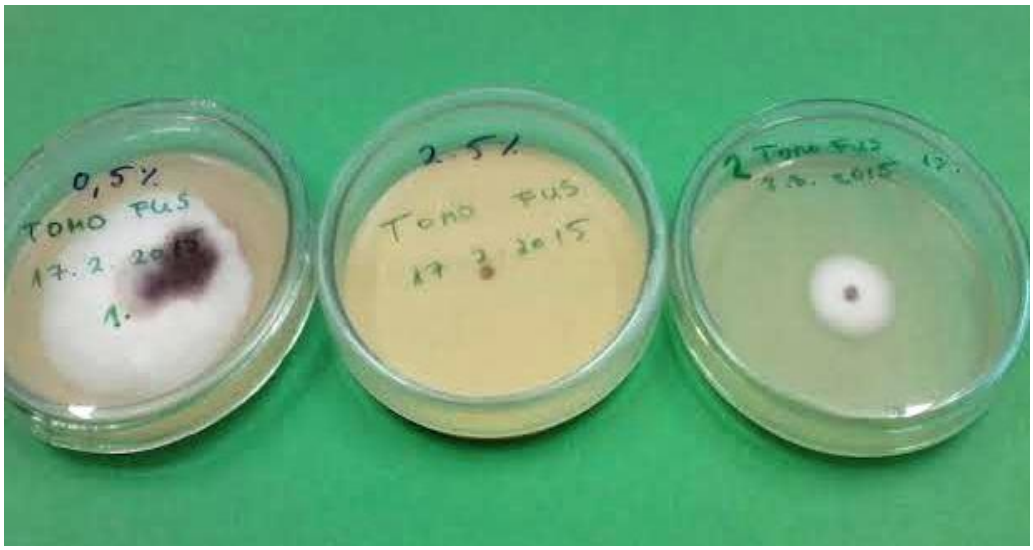
Zadnje mjerenje obavljeno je 25 dana nakon inokulacije (graf 12.). Na koncentraciji od 0,5 % utvrđen je promjer micelija od 7,75 cm, dok je na 1 % koncentraciji porast bio neznatan i statistički visoko značajno manji u odnosu na kontrolu i 2,5 % koncentraciju. Porast na 2,5 %-tnoj koncentracijom ostaje nepromijenjen.



Graf 12. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 25 dana od inokulacije na različitim koncentracijama

Jako antifungalno djelovanje na *Fusarium oxysporum* pokazalo je i istraživanje provedeno u radu s vodenom otopinom propolisa (Ozcan, 1999.). U početku rasta gljiva se razvijala 50 % lošije od očekivanog porasta (u usporedbi sa kontrolnom skupinom). 100 % inhibitorno djelovanje u ovom pokusu dokazano je i na većim koncentracijama (2 %, 3 % i 4 %). U ovom istraživanju propolis je pokazao veće inhibitorno djelovanje na *Fusarium* nego na gljivu *Alternaria.* U našem istraživanju *Alternaria* je također imala veći porast, što se može pripisati izboru gljive.

Slika 10, prikazuje porast micelija *F.oxysporum* na 3 podloge s koncentracijama 0,5 %, 1 % i 2,5 %. Na slici 11, prikazan je izgled gljive na 3 podloge s različitim koncentracijama i kontrolom.



Slika 10. *F.oxysporum* na kraju mjerenja (sve koncentracije)

(original)



Slika 11. Razvoj *F.oxysporum* na kontrolnoj skupini i 3 koncentracije (original)

U tablici 2. prikazana je statistička analiza porasta micelija *Fusarium oxysporum.*

Tablica 2. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) (statistička analiza)

2 dana od inokulacije				
	kontrola	**0,5 %**	**1 %**	**2,5 %**
x	2,28	0,50	0	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=0,2227 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,1588				
5 dana od inokulacije				
x	7,28	1,42	0	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=0,9026 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=06,438				
10 dana od inokulacije				
x	9	3,03	0	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=0,9676 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,6901				
14 dana od inokulacije				
x	9	5,6	0	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=0,6831 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=0,4873				
20 dana od inokulacije				
x	9	6	0,5	0
$\boldsymbol{LSD_{0,01}}$=1,1120 $\boldsymbol{LSD_{0,05}}$=0,7932				
25 dana od inokulacije				
x	9	7,75	1,15	0
$\boldsymbol{LSD}_{0,01}$=01,6987 $\boldsymbol{LSD}_{0,05}$=1,2116				

5. Zaključak

Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj 3 koncentracije alkoholnog propolisa na porast micelija gljive *Alternaria brassicae* i *Fusarium oxysporum*. Provedbom pokusa i obradom dobivenih podataka vidljivi su sljedeći rezultati:

- Porast micelija *A. brassicae* na podlozi koncentracije 2,5 % nije zabilježen. Navedena koncentracija imala je potpuni inhibitorni učinak kroz sve dane mjerenja. Na koncentraciji od 0,5 % propolisa bilježen je porast od prvog do zadnjeg dana mjerenja (25 dan) na kojoj se do kraja mjerenja gljiva u potpunosti razvila. Ova podloga imala je manje inhibitorno djelovanje na porast gljive, ujedno je i najmanja koncentracija koju smo koristili u istraživanju. Utvrđene su statistički visoko značajne razlike između porasta micelija na koncentraciji propolisa od 1 %, kontroli i podlozi s 2,5 % koncentracijom.

- Kontrolna skupina *Fusarium oxysporum* svoj potpuni razvoj dosegla je već nakon 10-tog dana mjerenja. Koncentracija propolisa 0,5 %, je imala najmanji inhibitorni učinak kroz sve dane mjerenja u odnosu na više ispitivane koncentracije. Neznatan porast od 1,15 cm utvrđen je na 1 % koncentraciji. Do razvoja micelija nije došlo na 2,5 %-tnoj koncentraciji koja je na porast *F. oxysporum* imala potpuni inhibitorni učinak, to je ujedno i podloga s najvećom koncentracijom korištenom u pokusu.

- Razvoj navedenih gljiva korištenih u radu tekao je različitom brzinom. Na takav ishod utjecalo je više parametara. Sve gljive nemaju jednak porast, neke su manje neke više progresivne, te je i izbor vrste utjecao na rezultate. Veće koncentracije propolisa očekivano pokazuju bolji antifungalni utjecaj.

6. Popis literature

1. Abd El-Hady F.K., Hegazi, A.G., Wollenweber, E., (2002.): Effect of Egyptian Propolis on the Susceptibility of LDL to Oxidative Modification and its Antiviral Activity with Special Emphasis on Chemical Composition. Z. Naturforsch C. (9-10): 645-55.
2. Aćimović, M. (1998.): Bolesti suncokreta. Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi sad, Feljton d.o.o.
3. Auria, D., Tecca, M., Scazzocchio, F., Renzini, V., Strippoli, V. (2003): Effect of propolis on virulence factors of Candida albicans. US National library of Medicine, National institutes of health, 15(5): 454-60.
4. Bennet, J.W., Klich, M. (2003.): Mycotoxins, Clinical Reviews, 16(3): 497-516.
5. Booth, C., (1971.): The genus fusarium. Commonwealth Mycological Institute, London.
6. Boyanova, L., Gregorova, G., Nikolov, R., Derejian, S., Lazarova, E., Katsarov, N., Mitov, I., Krastev, Z., (2005):Activity of bulgarian propolis against 94 Heliobacter pylori strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. J Med Microbiol. 54(5):481-3.
7. Chauhan, J.S., Badoni, A.,Indrakumar Singh, N., Ali, S., (2009): Effects f Alternaria on some members of familiy Brassicaceae of Garhwal Himalaya. New York science yournal, 2 (6), ISSN 1554-0200.
8. Curfiuta, M., Vidal, J., Sanchez-Venegas, J., Contreras, A., Salazar, L.A., Alvear, M. (2012): The *in vitro* antifugal evaluation of a comercial extarct of Chilean propolis against six fungi of agricultural importance 39(2): 347-359.
9. Cvjetković, B., (2010): Mikoze i pseudomikoze voćaka i vinove loze. Zrinski d.d. Čakovec.
10. Damiani, N.,Daniel Maggi, M., Gende, L.B.,Faverin, C., Javier Eguaras, M., Marcangeli, J.A., (2010):Evaluation of the toxicity of a propolis extract on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). Journal of apiculutural resarch, Vol. 49 (3): 257-264.
11. Grau, C.R., Dorrance, A.E., Bond, J., Russin, J.S., (2004): Fungal diseaes. p. 679-763 Boerma and specth (eds), Soybens: Improvment, production and uses, 3rd ed, agronomy monograph no. 16. ASA; CSSA, SSA, Madison USA.

12. Guler, P., Bozcuk, S., Mutlu, F., Sorkun, K. (2005): Propolis effect on sclerotial formations of morchella conica pers. Department of Biology and Lliterature, Kirikkale. 37 (4): 1015-1022.
13. Hegazi, A.G., Faten, K., Abd El-Hady (2002): Egyptian propolis: 2-Chemical comosition, antiviral and antimicrobal activity of East Nile Delta propolis. Z. Naturforsch. 386-391.
14. Jasnić, S., Vidić, M., Cvjetković, (1988): *Phytium ultimum Trow*., kao parazit soje. Zaštita bilja 185: 291-296.
15. Jurković, D., Ćosić, J. (2004): Bolesti suncokreta. U knjizi Vratarić i sur. "Suncokret Helianthus annuus" Poljoprivredni institut Osijek.
16. Kapš, P. (2013): Liječenje pčelinjim proizvodima, Apiterapija. Naklada Geromar.
17. Korić, B., (2003): *Fussarium* spp. na sjemenskim i merkantilnim usjevima pšenice u Hrvatskoj u 2002. godini, Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskoga posvetovanja o varstvu raslin; 165-169.
18. Kovačević, Ž., Kišpatić, J., Panjan, M., (1969): Bolesti i štetnici voćaka i vinove loze.
19. Krell, R. (1996) Value-Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural services bulletin No. 124, Food and Agricluture Organization of the United Nations, Rome, Italy, ISBN: 92-5-103819-8.
20. Marcucci, M. C., Bankova, V.S. (1995): Chemical composition, plant origin and biologicaly activity of Brazilian propolis. Curr Top Phytochem 1999; 2:115-123.
21. Miguel, M. G., Antunes, M. D., (2011.): Is propolis safe as an alternative medicine? Journal list, J Pharm Bioallied Sci., 3(4): 479-495.
22. Mladenov, S. and Kazandijeva, V.I., (1986): Our Experiments on the Therapautical, 1965in1986 in 2010: Medical centre of Aphiterapy (APIMED) Mladost 4, Bl. 401, Vh. 5, Ap. 10.
23. Mujić, I., Alibabić, V., Travljanin, D. (2014): Prerada meda i drugih pčelinjih proizvoda. Studiograf Rijeka.
24. Ozcan, M., (1999): Antifungal properties of propolis. Grasas y Aceites, 5: 395-398.
25. Radman, Lj., (1978.): Fitopatologija, bolesti ratarskih kultura. Univerzitet, Poljoprivredni fakultet, Sarajevo.

26. Sangalli, A (1990) la propoli. Lape Nostra Amica, 12 (4):16-25.
27. Sforcin, J.M. and Bankova, V. (2011): Propolis: Is there a potentional for the development of new drugs. Journal of Ethnoparmacology, 133: 253-260.
28. Szliszka E, Czuba ZP, Domino M, Mazur B, Zydowicz G, Krol W. Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells. Molecules, 14:738–54.
29. Vratarić, M., Sudarić, A. (2008): Soja. Poljoprivredni institut Osijek
30. Vratarić, M. (2004): Suncokret. Poljoprivredni institut Osijek.
31. Znaor, D. (1996): Ekološka poljoprivreda. Nakladni zavod Globus.
32. Žugec, I., Jug, D., (2000/2001): Ekološka poljoprivreda (Alternativna poljoprivreda), autorizirana predavanja za izborni predmet „Alternativna poljoprivreda“ na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku, u šk. god. 2000/2001.

7. Sažetak

Propolis je pčelinji proizvod kojemu se pripisuju brojna pozitivna svojstva, a jedan od njih je i antifungalno djelovanje. Ekološka poljoprivreda koristi alternativne načine u zaštiti bilja, a propolis je jedan od značajnijih proizvoda, čija široka primjena utječe na sve veće zanimanje kako u poljoprivrednoj tako i ostalim proizvodnim granama. U provedenom istraživanju praćen je utjecaj alkoholnog propolisa na rast fitopatogenih gljiva *Alternaria brassicae* i *Fusarium oxysporum*. Propolis je pripremljen u 3 koncentracije (0,5 %, 1 %, 2,5 %). Navedene koncentracije imale su inhibitorni utjecaj na porast gljiva. Na porast gljive *A. brassicae* i *F. oxysporum* potpuno inhibitorno djelovanje imala je koncentracija od 2,5 %. Porast micelija navedenih gljiva zabilježen je na koncentraciji od 0,5 %. Utvrđene su statistički visoko značajne razlike kod obje gljive između porasta micelija na koncentraciji propolisa od 1 %, kontroli i podlozi s 2,5 % koncentracijom.

Ključne riječi: propolis, ekološka poljoprivreda, koncentracija, inhibitorno djelovanje

8. Summary

Propolis is a bee product which is attributed to a number of positive characteristics, one of them is the antifungal activity. Organic agriculture has been using alternative methods for plant protection and propolis is significant product, which widespread use affects on increasing interest how in agriculture also in other productive industries. In this resarch influence of alcoholic propolis, diluted on 3 concentrations (0,5 %, 1 %, 2,5 %) have been tested on the mycelium growth of *Alternariae brassicae* and *Fusarium oxysporum*. These concentrations had inhibitory effect on the growth of fungi. Full inhibitory activity on the growth of mycelium of *A.brassicae* and *F.oxysporum* had a concentration of 2,5 %. The growth of mycelium of tested fungi recorded at a concentration of 0,5 %. There were statistically significant differences in the growth of the mycelium for both fungi on the concentration of propolis of 1 % , control and 2,5 % concentration.

Key words: propolis, organic agriculture, concentration, inhibitory activity

9. Popis tablica

Red.br.	Naziv tablice	Str.
Tablica 1.	Porast micelija *A. brassicae* iskazan u cm (statistička analiza)**.....**	15.
Tablica 2.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) (statistička analiza).....	30.

10. Popis slika

Red. br	Naziv slike	Str.
Slika 1.	Propolis korišten u pokusu.....	11.
Slika 2.	Priprema podloge, mješanje smjese sa propolisom.....	12.
Slika 3.	Označavanje Petrijevih zdjelica.....	12.
Slika 4.	Inokulacija izolata unutar laminarija.....	13.
Slika 5.	Razvoj kontrolne skupine 3 dan nakon nacjepljenja *A. brassicae i F. oxysporum*.....	14.
Slika 6.	Izgled *A. brassicae* nakon 32 dana mjerenja, na najvećoj koncentraciji.....	14.
Slika 7.	Porast *A. brassicae* na 0,5 %-tnoj koncentraciji.....	21.
Slika 8.	Porast *A. brassicae* na 1 %-tnoj podlozi.....	21.
Slika 9.	Porast micelija *F. oxysporum* na koncentraciji 1 %.....	27.
Slika 10.	*F. oxysporum* na kraju mjerenja (sve koncentracije).....	29.
Slika 11.	Razvoj *F. oxysporum* na kontrolnoj skupini i 3 koncentracije.....	29.

11. Popis grafikona

Red. br	Naziv grafikona	Str.
Grafikon 1.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 2 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	16.
Grafikon 2.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 5 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	17.
Grafikon 3.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 10 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	18.
Grafikon 4.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 14 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	19.
Grafikon 5.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 20 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	20.
Grafikon 6.	Porast micelija *Alternaria brassicae* (cm) 25 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	22.
Grafikon 7.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 2 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	23.
Grafikon 8.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 5 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	24.
Grafikon 9.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 10 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	25.
Grafikon 10.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 14 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	26.
Grafikon 11.	Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 20 dana od inokulacije na različitim koncentracijama.....	27.

Red. br **Naziv grafikona** **Str.**

Grafikon 12. Porast micelija *Fusarium oxysporum* (cm) 25 dana od inokulacije na različitim koncentracijama..... 28.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij, Ekološka poljoprivreda

Utjecaj propolisa na porast gljiva *Fusarium oxysporum* i

Alternaria brassicae

Martina Palameta

Sažetak

Propolis je pčelinji proizvod kojemu se pripisuju brojna pozitivna svojstva, a jedan od njih je i antifungalno djelovanje. Ekološka poljoprivreda koristi alternativne načine u zaštiti bilja, a propolis je jedan od značajnijih proizvoda, čija široka primjena utječe na sve veće zanimanje kako u poljoprivrednoj tako i ostalim proizvodnim granama. U provedenom istraživanju praćen je utjecaj alkoholnog propolisa na rast fitopatogenih gljiva *Alternaria brassicae* i *Fusarium oxysporum*. Propolis je pripremljen u 3 koncentracije (0,5 %, 1 %, 2,5 %). Navedene koncentracije imale su inhibitorni utjecaj na porast gljiva. Na porast gljive *A.brassicae* i *F.oxysporum* potpuno inhibitorno djelovanje imala je koncentracija od 2,5 %. Porast micelija navedenih gljiva zabilježen je na koncentraciji od 0,5 %. Utvrđene su statistički visoko značajne razlike kod obje gljive između porasta micelija na koncentraciji propolisa od 1 %, kontroli i podlozi s 2,5 % koncentracijom.

.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Karolina Vrandečić

Broj stranica: 40
Broj grafikona i slika: 23
Broj tablica: 2
Broj literaturnih navoda: 32
Broj priloga: -
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: propolis, ekološka poljoprivreda, koncentracija, inhibitorno djelovanje

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. Prof. dr sc. Karolina Vrandečić, mentor
2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, član
3. Prof. dr. sc. Renata Baličević, član

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate thesis**
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies, Organic agriculture

Influence of propolis on growth of fungi *Alternaria brassicae* and *Fusarium oxysporum*

Martina Palameta

Abstract:

Propolis is a bee product which is attributed to a number of positive characteristics, one of them is the antifungal activity. Organic agriculture has been using alternative methods for plant protection and propolis is significant product, which widespread use affects on increasing interest how in agriculture also in other productive industries. In this resarch influence of alcoholic propolis, diluted on 3 concentrations (0,5 %, 1 %, 2,5 %) have been tested on the mycelium growth of *Alternaria brassicae* and *Fusarium oxysporum*. These concentrations had inhibitory effect on the growth of fungi. Full inhibitory activity on the growth of mycelium of *A. brassicae* and *F. oxysporum* had a concentration of 2,5 %. The growth of mycelium of tested fungi recorded at a concentration of 0,5%. There were statistically significant differences in the growth of the mycelium for both fungi on the concentration of propolis of 1 % , control and 2,5 % concentration.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: DSc Karolina Vrandečić, Associate Professor

Number of pages: 40
Number of figures: 23
Number of tables: 2
Number of references:32
Number of appendices: -
Original in: Croatian

Key words: propolis, organic agriculture, concentration, inhibitory activity

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. DSc Karolina Vrandečić, Associate professor, mentor
2. DSc Jasenka Ćosić, Full Professor, member
3. DSc Renata Baličević Associate Professor, member

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