Fungistatični utjecaj eteričnih ulja na gljivu Fusarium oxysporum

Ferić, Zdenka

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:151:841559

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 J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Zdenka Ferić, apsolvent

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

FUNGISTATIČNI UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA GLJIVU *FUSARIUM OXYSPORUM*

Diplomski rad

Osijek, 2015

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Zdenka Ferić, apsolvent

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

FUNGISTATIČNI UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA GLJIVU *FUSARIUM OXYSPORUM*

Diplomski rad

Osijek, 2015

Sadržaj

1. Uvod 1

2. Pregled literature 3

3. Materijal i metode rada 9

3.1 Eterična ulja 9

3.2 Fitopatogene gljive 10

3.3 Postupak 10

3.4 Statistička obrada podataka 13

4. Rezultati i rasprava 14

4.1 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. melonis na temperaturi od 15°C 14

4.2 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. melonis na temperaturi od 21°C 15

4.3 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. melonis na temperaturi od 30 °C 18

4.4 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici na temperaturi od 15°C 20

4.5 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici na temperaturi od 21°C 23

4.6 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici na temperaturi od 30°C 24

5. Zaključak 27

6. Popis literature 29

7. Sažetak 36

8. Summary 37

9. Popis slika 38

10. Popis tablica 39

Temeljna dokumentacijska kartica 40

Basic documentation card 41

1. Uvod

Sintetički fungicidi trenutno se koriste kao primarni način kontrole biljnih bolesti, alternativne metode kontrole potrebne su zbog negativnih javnih mišljenja o upotrebi sintetičkih kemikalija, otpornosti gljivičnih patogena na fungicide i visoke cijene razvoja novih kemikalija. Do sada su se istraživali proizvodi za kontrolu biljnih bolesti na biljnoj bazi budući da imaju niski utjecaj na trovanje sisavaca, manje utjecaj na okoliš i šira ih javnost prihvaća (Lee i sur., 2007.).

Aromatične kemikalije prisutne u različitim biljnim dijelovima od pamtivijeka se koriste u aromaterapiji. To sugerira da imaju pozitivne zdravstvene efekte te imaju ugodan i, često, opuštajući miris. Uz to, neko bilje poput ružmarina i kadulje koristi se pri proizvodnji lijekova zauzimajući na taj način značajan dio farmaceutskog tržišta. (Singh i Upadhayay, 1993.; Lis-Balchin i sur., 1995.; Buchbauer, 1996.; Singh, 1999.; Singh i sur., 1998., 1998., 2003.).

Esencijalna ulja su koncentrirane, hidrofobne tekućine koje sadrže nestabilne aromatične spojeve dobivene iz biljaka (Isman, 2000.). Proučavaju se zbog svojih bioloških aktivnosti, poput protugljivičnih (Soliman i Badeaa, 2002.), antibakterijskih (Dorman i sur., 2000.), insekticidnih i nematocidnih učinaka (Pandey i sur., 2000.).

Rod *Fusarium* je, zahvaljujući velikoj sposobnosti prilagođavanja na različite, često ekstremne okolišne uvjete, široko rasprostranjen u gotovo svim agroklimatskim područjima svijeta. Također, ovaj je rod jedan od ekonomski najznačajnijih rodova gljiva (Booth, 1971.; Burgess i sur., 1988.).

Veliki broj vrsta roda *Fusarium* značajni su proizvođači mikotoksina. Mikotoksini su sekundrani metaboliti koje proizvode gljive i koji mogu uzrokovati brojne bolesti, čak i smrt kod ljudi i životinja (Blat, 1969., Fandohani i sur., 2003., Bennet i Klich, 2003.).

Biljke mogu biti zaražene vrstom *Fusarium oxysporum* (i njezinim f. sp.) iz sjemena i tla. Mlade biljke dobivene iz zaraženog sjemena često brzo propadaju, a simptomi mogu biti vidljivi ili mogu izostati. Biljke koje su zaražene iz tla često pokazuju simptome tipične traheofuzarioze. Takve biljke za vrijeme toplih dana gube turgor te često venu nakon zametanja prvih plodova. Stabljika zaraženih biljaka na presjeku sadrži

provodne snopove tamne boje. Budući da parazit zatvara provodne snopove, tako onemogućava normalan protok vode zbog čega biljke venu.

Gljiva može preživjeti dugi niz godina u tlu u obliku hlamidospora (može preživjeti na dubini od 90 cm). Za razvoj ova gljiva zahtjeva visoke temperature tla (optimalne 26°C do 28°C). Gljiva formira konidije i hlamidospore u zoni korijenovog vrata koje se vodom za navodnjavanje šire od biljke do biljke.

2. Pregled literature

Svako eterično ulje sastoji se od glavnih i sporednih komponenti (Iacobelis i sur., 2005.), a udio pojedinih komponenti ovisi o klimatskim uvjetima i mjestu uzgoja te genotipu biljaka iz kojih se ulja ekstrahiraju.

Glavne komponente ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) čine 1,8-cineol (7 - 20%), komfor (3 - 50%), α-pinen (3 - 24%) te mircen (0 - 10%) (Lis-Balchin, 2006.).

Glavne komponente eteričnog ulja timijana su timol (45 - 48%) te ρ-cimen (18,5 - 21,5) (Lis-Balchin, 2006.).

Glavne komponente metvice (*Mentha peperita)* sastoje se od mentola (37,4%) mentil acetata (17,4%) i mentona (12,7%) (Soković i sur., 2009.).

Eterično ulje anisa (*Pampinella anisum*) sastoji se od antenola (76,9 - 93,7%) te γ-himahalena (0,4 - 8,2%) (Orav i sur., 2008., Rodrigues i sur., 2003.).

Glavne komponente eteričnog ulja lavande (*Lavandula angustifolia*) čine linalol (16 - 28%), linalil acetat (26 - 47,5%), 1,8-cineol (5,1 - 15,5%), lavandulil acetat (1,3 - 4,3%) te α-terpineol (2,3 - 3,75%) (Hassiotis i sur., 2010., Verman i sur., 2010.).

Utjecaj eteričnih ulja na rast micelija različitih gljivica i plijesni istraživali su brojni znanstvenici.

Uzročnici biljnih bolesti u zemljama u razvoju prosječno umanjuju prinos za 12% (Lee i sur., 2010.). Kemijska sredstva za zaštitu biljaka od štetočina (pesticidi) koje se danas vrlo učestalo koriste zagađuju atmosferu, ostavljaju rezidue u tlu, vodi i biljnim proizvodima te negativno utječu na zdravlje korisnika. Da bi izbjegli loš utjecaj kemikalija, prirodni proizvodi velikog broja biljaka koriste se za kontrolu biljnih bolesti (Bowers i Locke, 2000., Momin i sur., 2001.). Gljivične vrste roda *Aspergillus, Fusarium, Alternaria* i *Drechslera* smatraju se najvećim svjetskim i biljnim patogenima. Vrste roda *Fusarium*, osim što uzrokuju različite tipove bolesti na velikom broju uzgajanih biljnih vrsta,

produciraju mikotoksine u napadnutim biljnim dijelovima te na taj način značajno smanjuju kakvoću proizvoda (Blat, 1969., Fandohani i sur., 2003.)

Mnoga esencijalana ulja i njihove komponente imaju jako izraženo fungistatično ili čak fungicidno djelovanje (Daferera i sur., 2000., Solima i Badeaa, 2002.). To su su koncentrirane, hidrofobne tekućine koje sadrže nestabilne aromatične spojeve dobivene iz biljaka odnosno biljnih dijelova (Isman, 2000.). Proučavaju se zbog svog biološkog djelovanja na različite uzročnike bolesti ljudi, biljaka i životinja. Osim antifungalnog djelovanja mnoga eterična ulja imaju jako antibakterijsko (Dorman i sur., 2000.), insekticidno i nematocidno djelovanje (Pandey i sur., 2000.).

Nafiseh Ktooli i sur. (2012.) ispitivali su inhibitorni utjecaj esencijalnih ulja timijana i eukaliptusa na šest patogenih gljivica: *Pencillium digitatum, Asperigilus flavus, Colletotrichum gloeosporioides, Pyhitium ultimum, Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniania. Colletotrichum gloesporoideus* je izoliran iz citrusa, *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiiania* su iz riže, *Pencillium digitatum i Asperigilus flavus* su izolirani iz plijesni kruha. Čiste kulture svih izoliranih gljivica su uzgojene na hranjivoj podlozi krumpir dekstrozni agar (PDA). Iz listova timijana (*Thymus vulgaris* L.) i eukaliptusa (*Eucalyptus camaldulensis* L.) izvršena je ekstrakcija ulja. Esencijalna ulja u dozi 10 µl su dodana u Petrijeve zdjelice s gljivicama i to u razrijeđenim otopinama s acetonom od 25, 50 i 75% i nerazrijeđena. Ulja su aplicirana na kružne isječke filter papira. Nakon toga Petrijeve zdjelice su zatvorene parafilmom i inkubirane 30 dana u termostatnoj komori na 25°C. Promjer rasta micelija mjeren je svaki dan. Eterično ulje timijana potpuno je inhibiralo porast micelija *Pencillium digitatum* u koncentraciji ulja od 75 i 100%, a kod *Colletotrichum gloeosporioides, Pyhitium ultimum* i *Rhizoctonia solani* u svim koncentracijama esencijalnih ulja nakon 30 dana. Razlike do dvanaestog dana pokusa nisu bile statistički značajne. Eterično ulje eukaliptusa potpuno je inhibiralo porast micelija *Pyhitium ultimum* i *Rhizoctonia solani* u svim koncetracijama esencijalnih ulja nakon 30 dana. Eterično ulje eukaliptusa nije pokazalo antifungalni učinak na gljive *Pencillium digitatum* i *Asperigillus flavus*.

Yang i Clausen (2007.) ispitivali su antifugalno djelovanje sedam eteričnih ulja i njihov utjecaj na rast gljiva *Aspergillus niger, Trichoderma viride* i *Pencillium chrysigenum* koristeći dvije različite metode. Eterična ulja timijana i egipatskog geranija inhibirala su rast svih ispitivanih gljiva tijekom 20 tjedana prilikom uporabe metode u

kojoj je gljiva izložene isparavanjima eteričnih ulja. Autori stoga navode da je moguće da monoterpeni u sastavu eteričnog ulja inhibiraju klijanje spora i/ili vegetativni rast prilikom kontakta s gljivom. Ulje timijana djeluje inhibitorno na rast gljiva. Ulje kopra (*Antehum graveolens*) prilikom primjene metode u kojoj je gljiva izložena isparavanjima eteričnih ulja djelovalo je inhibitorno na rast svih ispitivanih gljiva, dok je upotrebom druge metode ,namakanja komada drveta u eterična ulja. djelovalo inhibitorno na *A. niger i P. chrysogenum*. Upotrebom obje metode, ulje ružmarina (*Rosmarinus officinalis*), limunske trave (*Cymbopogon flexuosus*), čajevca (*Melaleuca alternifolio*) i kima (*Carum opticum*) pokazale su slabije inhibitorno djelovanje ili inhibitorno djelovanje nije utvrđeno. Ulje ružmarina inhibiralo je oko 10 tjedana rast gljiva prilikom upotrebe metode isparavanja eteričnog ulja, dok je ulje limunske tave prilikom uporabe iste metode inhibiralo *P. chrysogenum* tijekom 12 tjedana. Autori pretpostavljaju da iako sva ispitivana ulja sadrže ketone u različitim količinama, inhibitorno djelovanje pojedinog ulja rezultat je djelovanja specifičnog ketona ili kombinacije komponenata koje se nalaze u ulju. Prema Suhr i Nielsen. (2003.) eterična ulja su imala slab inhibitorni učinak na različite uzročnike plijesni (*Asperigillus sp., Penicillium sp.)* uporabom metode direktne primjene ulja dok primjenom metode isparavanja ulje je pokazalo dobar inhibitorni učinak.

Inhibitorni učinak pojedinog eteričnog ulja može ovisiti o načinu aplikacije. Ulja koja se sastoje od velikih fenolnih spojeva kao što su timol i eugenol imaju bolji učinak pri direktnoj primjeni, dok ulja koja sadrže nefenolne hlapljive spojeve kao što su primjerice citral i limonen, najbolji učinak imaju kada je gljiva izložena isparavanjima eteričnog ulja. Tako je, primjerice, spoj timol iz ulja timijana bolje djelovao na inhibiciju rasta gljive prilikom upotrebe metode isparavanja, nego eugenol iz cimeta i klinčićevca iako su oba spoja fenoli. Molekula timola manja je i lakše isparava nego molekula eugenola (Suhar i Nielsen, 2003.).

Minimalna inhibitorna količina (MIC) eteričnih ulja ovisi o vrsti i sastavu ulja te o vrsti organizma na koji se primjenjuje. Tako je minimalna inhibitorna količina ulja timijana u pokusu s *Candida albicans, Aspergillus flavus, Trichoderma viride, Aerobasidium pillulans* i *Microsporum gypseum* bila 5 µl (Amvam Zollo i sur., 1998.).

Antifugalno djelovanje eteričnih ulja tri vrste iz roda *Pinus* (*P. ponderosa, P. resinosa* i *P. strobus)* na tri vrte gljive iz roda *Fusarium* (*Fusarium culmorum, Fusarium solani, Fusarium poae*) ispitivali su Krauze-Baranowska i sur. (2002.). Od ispitivanih

eteričnih ulja ulje *P. ponderosa* je imalo najjače izraženo antifugalno djelovanje na sve tri vrste roda *Fusarium* i to pri najnižoj koncentraciji (2%). Ulja vrsta *P. resinora* i *P. strobusa* također su inhibirala rast sve tri vrste *Fusariuma,* ali u manjoj mjeri. Za različito antifugalno djelovanje ulja odgovoran je njihov kemijski sastav . Ulja *P. resinosa i P. strobus* sadrže veće količine spoja ß-pinen (42,4% odnosno 45,7%) od ulja *P. ponderosa* (7,9%) čiji su dominanti spojevi £-pinen (17,7%) i germakren D (12,2%). Ulje s najmanje ugljikovodičnih monoterpena (*P. strobus*) imalo je i najslabije antifugalno djelovanje.

Eterična ulja kima (*Cuminum cyminum*), limunske trave (*C. citratus*), limunskog eukaliptusa (*Eucaliptus citriodora*), origana (*Origanum vulgare*) te timijana (*T. vulgaris*) inhibirala su rast gljive *Fusarium oxysporum* i to 62%, 66%, 57%, 70% odnosno 76%. Ulje origana inhibitorno je djelovalo na rast micelija gljive *Botrytis cinerea* te *Pythium ultimum*, međutim mnoga druga eterična ulja kao što su lavnada *(Lavandula spica*), metvica (*Mentha piperita*), bor (*Pinus sylvestris*), ružmarin (*R. officinalis*), kadulja (*Salvia lavenduuifolia, Salvia sclarea*) nisu imali nikakav inhibitorni učinak na rast micelija ispitivanih gljiva (Lee i surr., 2007.). Farshbaf Moghadam i sur. (2004.) utvrdili su značajnu antifugalnu aktivnost ulja metvice na *F. oxysporum* f.sp. *ciceria*.

Eterično ulje komorača (*Foeniculum vulgare*) čija je glavna komponenta anetol (70%) djeluje inhibitono na porast micelija *Fusarium gaminearum* i *Fusarium moniliforme* (Singh i surr., 2006.). Prema Huang i sur. (2010.) spoj antenol, glavna komponenta ulja anisa, ekstrahiran iz biljke *Illicium verum* (zvjezdoliki anis), ima antifugalno djelovanje na rast micelija gljive *F. graminearum* te *Fusarium oxysporum* (f. sp. *cucumerinum*, f. sp. *lycopersici*, f. sp. *vasinfectum*).

Prema Zombonelli i sur. (1996.) ulja timijana i metvice imaju dobar inhibitorni učinak na rast micelija gljive *Fusarium solani*, kao i vodeni i alkoholni ekstrakti kima (Dawar i sur. 2008.).

Prema Kishore i sur. (2007.) ulje cimeta, klinčićevca te spoj eugenol djeluju inhibitorno na rast micelija gljive *F. oxysporum f. sp. ciceri*, dok spojevi limonen i linalol nisu dobri inhibitori porasta navedenih gljiva.

Veliki broj vrsta roda *Fusarium* značajni su proizvođači mikotoksina. Mikotoksini su sekundrani metaboliti koje proizvode gljive, i mogu uzrokovati bojene bolesti kod ljudi i drugih životinja, pa čak i smrt (Bennet i Klich,2003.).

Velluti i dr. (2003.) ispitivali su ujecaj pet eteričnih ulja (cimet, klinčićevac, limunska trava, origano i palmarosa) na rast micelija gljive *Fusarium proliferatum* i produkciju mikotoksina fumonizina B1 pri različitim temperaturama i količini vode u zrnu kukuruza. Pri temperaturama od 20ºC i 30ºC i većoj količini vode, svih pet ulja imalo je inhibitorni učinak na rast micelija. Pri nižoj količini vode u zrnu i višoj temperaturi, ulja limunske trave i palmarose nisu inibirale rast micelija te su čak stimulativno djelovali na rast micelija ispitivane gljive. Proizvodnja fumonizina B1 ovisila je o količini vode u zrnu kukuruza pa je pri većoj količini vode i nižoj temperaturi producirana količina mikotoksina bila veća. Ulja cimeta, origana i palmarose imala su inhibirajući učinak na produkciju fumonizina B1 pri većoj količini vode i na obje temperature, dok su ulja limunske trave i klinčićevca inhibirala produkciju mikotoksina pri višim temperaturama. Nijedno ulje nije imalo značajan inhibitorni učinak na proizvodnju fumonizina pri manjoj količini vode u zrnu. Pretpostavlja se da veća količina vode omogućava eteričnom ulju bolje prodiranje u zrno i time osigurava bolju učinkovitost (Paster i sur., 1995.).

Svih pet eteričnih ulja (cimet, klinčićevac, limunska trava, origano i palmarosa) inhibiralo je rast micelija *gljive F. verticillioides* pri obje temperature (20ºC i 30ºC) i količini vode u zrnu kukuruza. Proizvodnja mikotoksina fumonizina B1 inhibirana je samo pri višoj temperaturi i većoj količini vode (Velluti i dr., 2004.b). Također je svih pet ulja imalo jači inhibitoni učinak na rast micelija *F. gramenearum* pri većoj količini vode u zrnu (Velluti i sur., 2004.).

Glavna komponenta ulja klinčićevca i cimeta, eugenol, ima jako antifugalno djelovanje na rast *B. cinerea* i *Sclerotinia sclerotiorum* (Wang i sur., 2010.).

Ulje timijana imalo je inhibitorni učinak na porast micelija gljive *R. solani* i *C. gloeosporioides*, dok ulja lavande, metvice, bora, ružmarina, kadulje nisu imala nikakav inhibitorni učinak na rast micelija (Lee i sur., 2007.).

Ulja timijana i metvice pokazala su inhibitorni učinak na rast micelija gljive *Colletotrichum lindemuthianum* (Zomboneli i sur., 1996.). U istraživanju Beguma i sur.,

(2008.) ulje kima s 48,2% timola antifugalno je djelovalo na rast micelija gljive *Colletotrichum corchori*.

Ćosić i sur. (2010.) ispitivali su utjecaj jedanaest eteričnih ulja (klinčića, ružmarina, lista cimeta, kadulje, običnog bora, nerolija, peperminta, sjemena anisa, kima, lavande, običnog timijana) na dvanaest biljnih patogenih gljivica (*Fusarium graminearum, F. verticillioides, F. subglutinans, Fusarium oxysporum, F. avenaceum, Diaporthe helianthi, Diaporthe phaseolorum var. caulivora, Phomopsis longicolla, P. viticola, Helmintosporium sativum, Colletotrichum coccodes, Thantephorus cucumeris*). Rezultati su ukazali da su sva ulja osim običnog bora i nerolija imala značajan antifungalni učinak na neke ili sve testirane gljivice. Ulja običnog timijana, lista cimeta, klinčića i sjemena anisa imala su najjače antifungalno djelovanje. U usporedbi s kontrolnim uzorkom, ulja običnog bora, nerolija i kadulje stimulirala su rast micelija nekih od ispitivanih gljiva.

3. Materijali i metode rada

U pokusu (*in vitro*) ispitivan je utjecaj pet eteričnih ulja na porast micelija dvije fitopatogene gljive pri trima različitim temperaturama. Temperature u pokusu bile su 15°C, 21°C i 30°C.

3.1 Eterična ulja

Za ispitivanje je korišteno pet eteričnih ulja: ružmarin (*Rosmarinus officinalis L.),* anis (*Pimpinella anisum L.*), lavanda (*Lavanda angustifolium Mill. ssp. angustifolium*), timijan (*Thymus vulgaris L.)* i metvica (*Mentha peperminta L.*) (Slika 1.)

Eterična ulja proizvedena su u Belgiji.

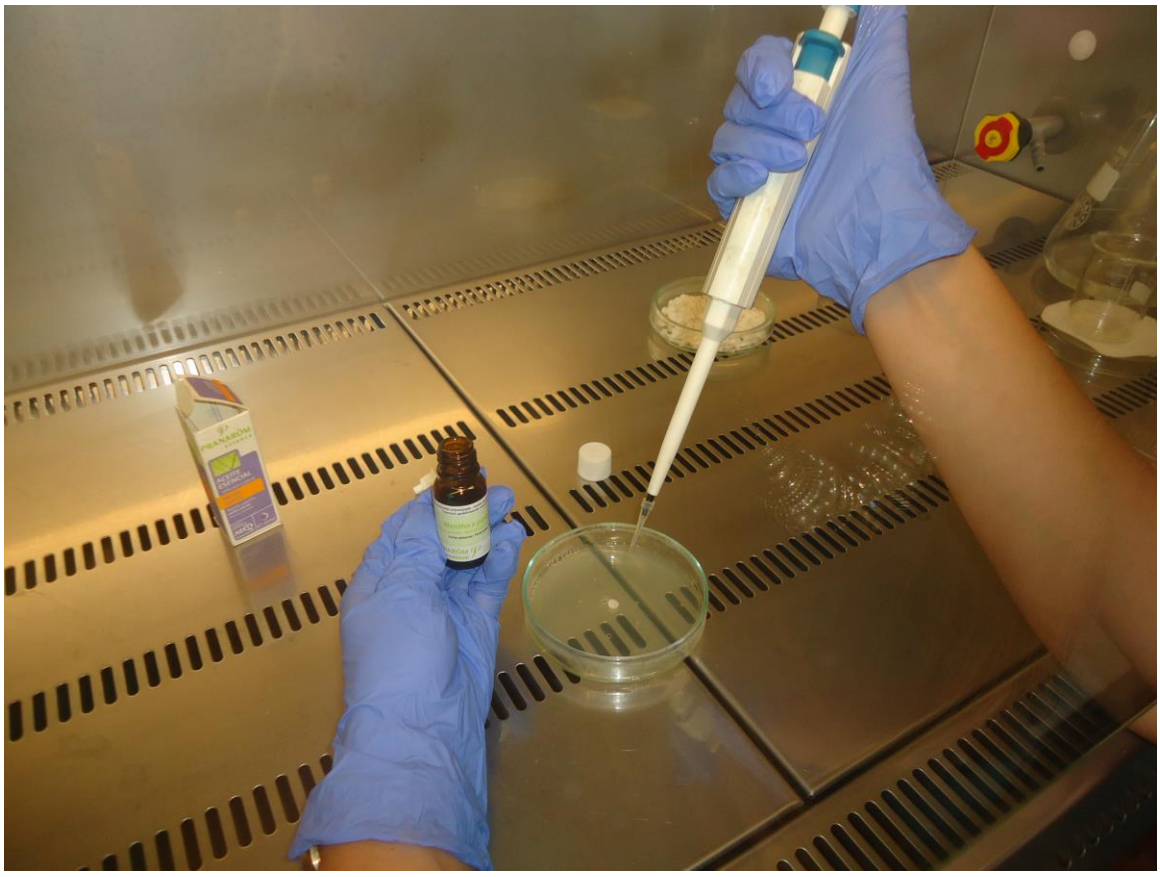
Glavne komponente ulja timijana su timol (38,61%) te ρ-cimen (25,02%), ulja ružmarina 1.8-cineol (44,40%), ulja lavande linalol (37,04%). Glavna komponenta ulja metvice je manitol (41,06%), a ulja anisa anetol (83,5%).



Slika 1. Eterična ulja (original)

3.2 Fitopatogene gljive

Utjecaj eteričnih ulja ispitivan je na porast micelija dvaju gljiva: *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* i *Fusarium oxysporum f. sp. melonis.* Na slici 2 prikazan je način aplikacije eteričnih ulja na kružne isječke filter papira.



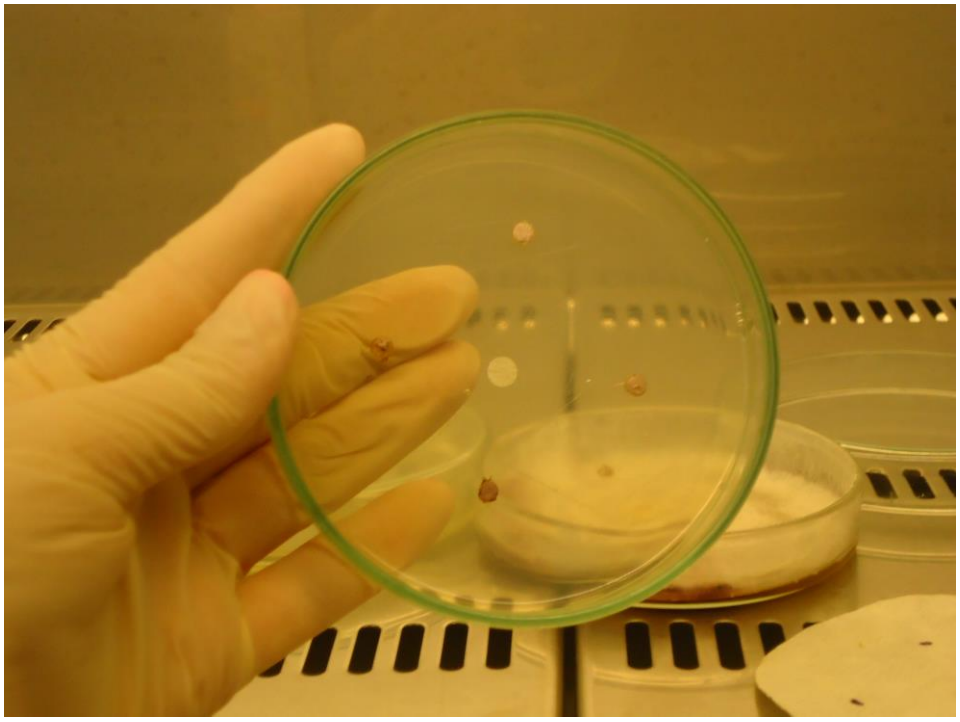
Slika 2. Aplikacija eteričnog ulja na filter papir (original)

3.3 Postupak

Ispitivanje utjecaja eteričnih ulja na porast *F. oxysporum* obavljeno je u laboratoriju Katedre za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku.

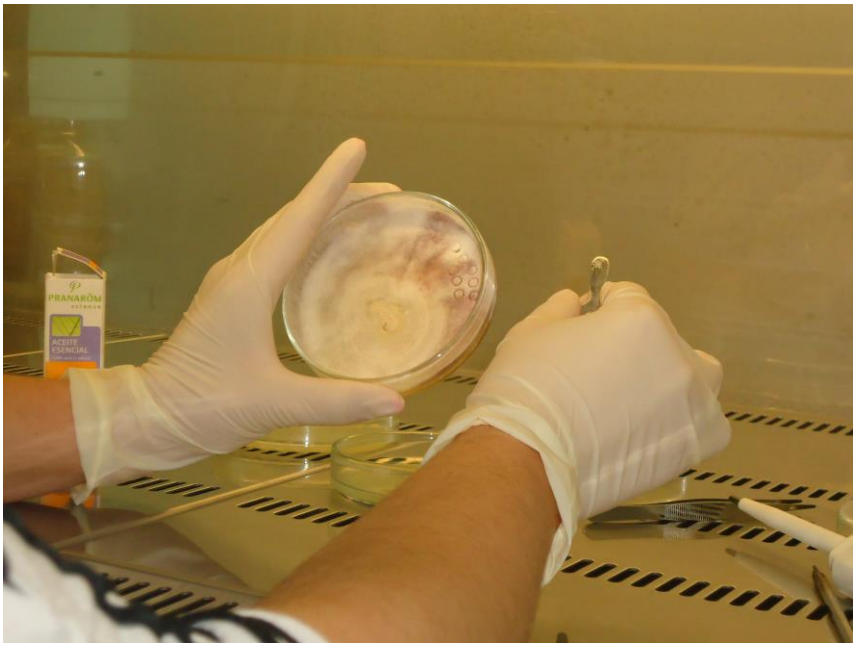
U pokusu su korištene Petrijeve zdjelice promjera 9 cm s PDA podlogom (krumpir dekstrozni agar). U sredinu svake Petrijeve zdjelice stavljen je kružni isječak filter papira promjera 5 mm koji je prethodno steriliziran u autoklavu.

Pomoću mikropipete na svaki je disk dodano 5 µl eteričnog ulja, odnosno destilirana voda u kontrolnoj varijanti. U svaku Petrijevu zdjelicu na četiri mjesta, koja su jednako udaljena od filter papira, sterilnom su iglom postavljeni diskovi micelija ispitivanih gljiva promjera 5 mm (Slike 3, 4 i 5).

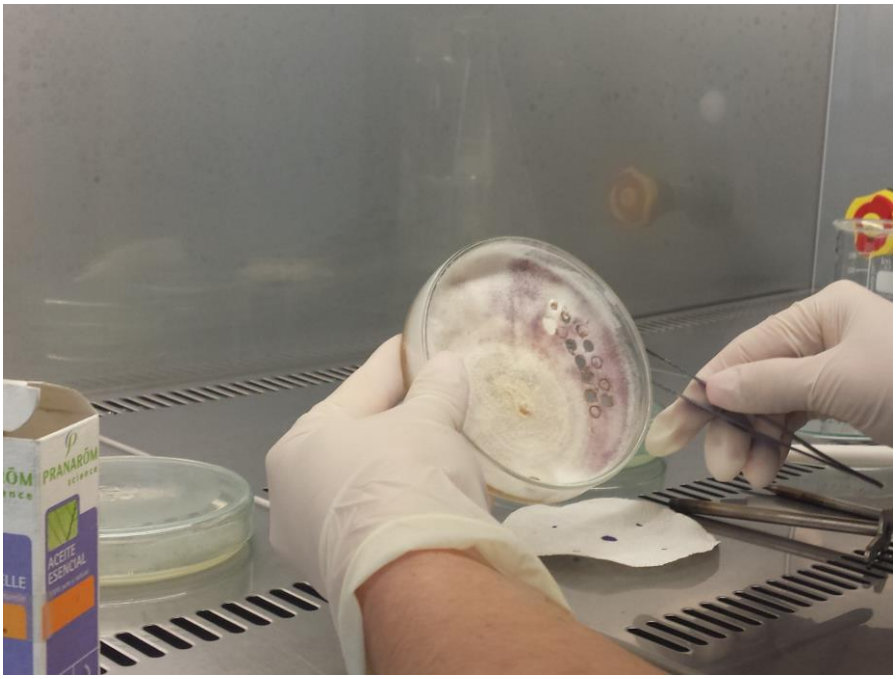


Slika 3. Postavljanje diskova micelija na četiri mjesta (original)

Pokus je postavljen u četiri ponavljanja. Postupak je proveden u komori za rad u sterilnim uvjetima (laminar).



Slika 4. Diskovi micelija na PDA (original)



Slika 5. Prenošenje diskova micelija ispitivanih gljiva (original)

Nakon inokulacije, Petrijeve zdjelice stavljene su na inkubaciju u termostat komoru, na tempeature od 15°C, 21°C i 30°C.

Mjerenja su provedena četvrtog, sedmog i desetog dana od početka inkubacije. Mjerena je zona inhibicije, odnosno udaljenost od margine kolonije gljiva do papirnog diska izražena u mm.

3.4. Statistička obrada podataka

Statistička analiza podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) i najmanje signifikantne razlike (LSD) upotrebom programa Statistica za Windows verzija 9 te koristeći Microsoft Excel.

4. Rezultati i rasprava

4.1 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* na temperaturi od 15°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi 15 °C prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (15°C)

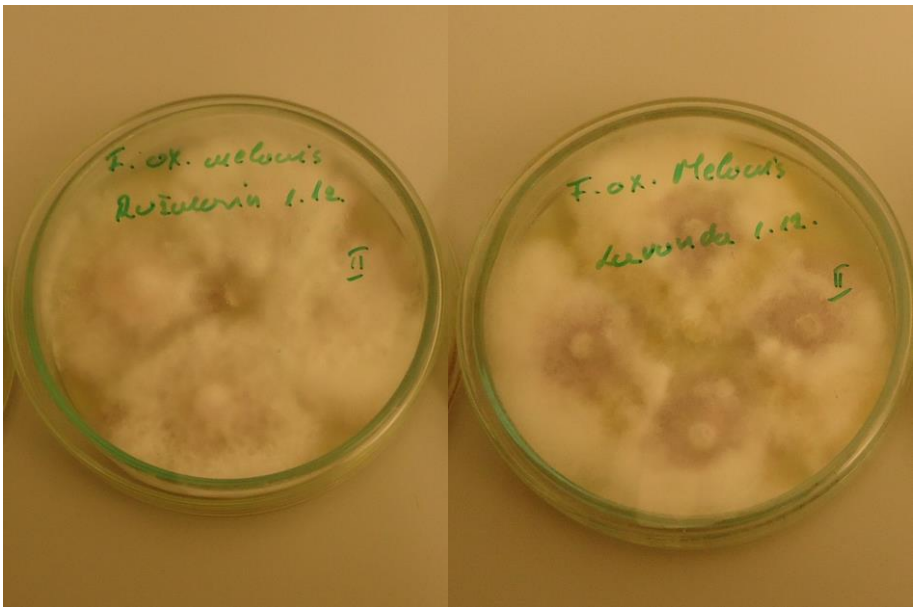
Eterična ulja	4.dan	7.dan	10.dan
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**26,00**	**26,00**	**12,50**
Menta	**26,00**	**15,91**	**11,91**
Lavanda	**18,00**	**7,75**	**0,50**
Ružmarin	**15,75**	**4,66**	**0**
Kontrola	**16,00**	**1,25**	**0,25**
LSD 0,05 **LSD 0,01**	**2,11** **2,69**	**2,72** **3,81**	**2,64** **3,70**

Eterična ulja timijana, anisa i mente statistički su vrlo značajno negativno utjecali na razvoj micelija.

Ulje timijana je i nakon 10 dana djelovalo fungicidno, odnosno u potpunosti je inhibiralo porast micelija ispitivane gljive. Eterična ulja anisa i mente djelovala su fungistatično što znači da su je porast micelija bio statistički značajno slabiji u odnosu na kontrolu, alije porast micelija ipak utvrđen. Velluti i sur. (2004.a) utvrdili su inhibitorni učinak ulja cimeta i klinčićevca na porast micelija gljive *F. graminearum*. Singh i sur.

(2006.) utvrdili su da anetol, glavna komponenta anisa, djeluje inhibitorno na porast micelija *F. gramineaurum*.

Ulja lavande i ružmarina nakon deset dana od inokulacije nisu inhibirala porast micelija ispitivane gljive (Slika 6.), iako je nakon sedam dana od inokulacije porast micelija u varijanti pokusa s uljem lavande bio statistički vrlo značajno sporiji, a u varijanti pokusa s uljem ružmarina statistički značajno sporiji. Lee i sur. (2007.) također su utvrdili slabo djelovanje ružmarina na porast micelija *F. oxysporum.* Kishore i sur. (2007.) utvrdili su da glavna komponenta ulja naranče nema dobar inhibotorni učinak na *F. oxysporum* f. sp. *ciceri.*



Slika 6. Utjecaj eteričnog ulja ružmarina i lavande na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* na temperaturi od 15°C (original)

4.2 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 21°C

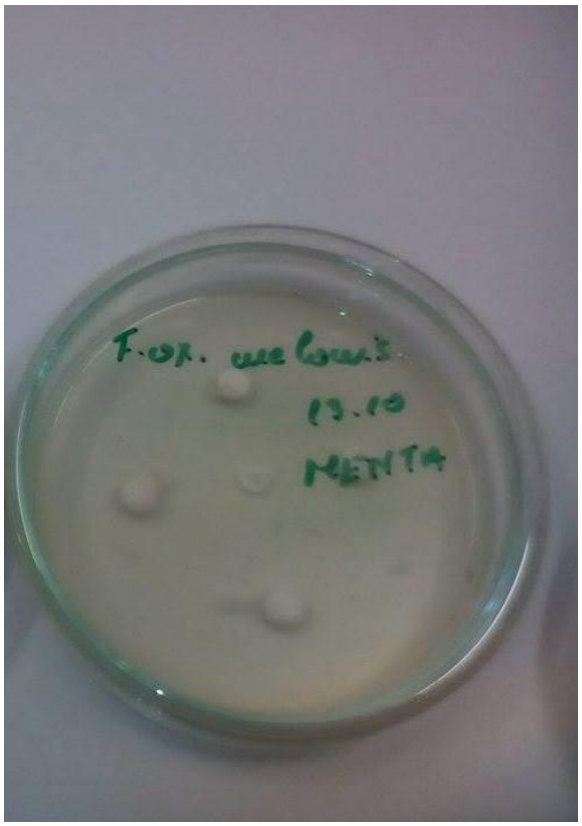
Rezultati ispitivanja utjecaja eteričnih ulja na rast gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 21°C prikazani su u Tablici 2.

Od pet ispitivanih eteričnih ulja nakon deset dana inkubacije na temperaturi od 21°C, jedino je eterično ulje timijana imalo fungistatično djelovanje na porast micelija (Slika 8.) dok ostala ulja nisu statistički značajno usporila rast micelija ispitivane gljive u odnosu na kontrolu. Porast micelija sedmog je dana od inkubacije u prisustvu ulja anisa i mente bio statistički značajno slabiji u odnosu na kontrolu.

Tablica 2. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan nakon inokulacije gljivom *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (21°C)

Eterično ulje	**4. dan**	**7.dan**	**10. dan**
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**16,41**	**5,41**	**2,58**
Menta	**15,00**	**4,16**	**1,91**
Lavanda	**9,50**	**0**	**0**
Ružmarin	**8,75**	**1,25**	**0**
Kontrola	**8,15**	**0,83**	**0**
LSD 0,05	**2,28**	**1,20**	**1,78**
LSD 0,01	**3,20**	**1,69**	**2,49**

Na slikama 7 i 8 prikazan je utjecaj eteričnih ulja mente i timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Ćosić i sur. (2010.) navode da ulje timijana u potpunosti inhibira rast gljiva *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Phomopsis viticola* i *Diaporthe helianthi*.



Slika 7. Utjecaj eteričnog ulja mente na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (original)



Slika 8. Utjecaj eteričnog ulja timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (original)

4.3 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30 °C

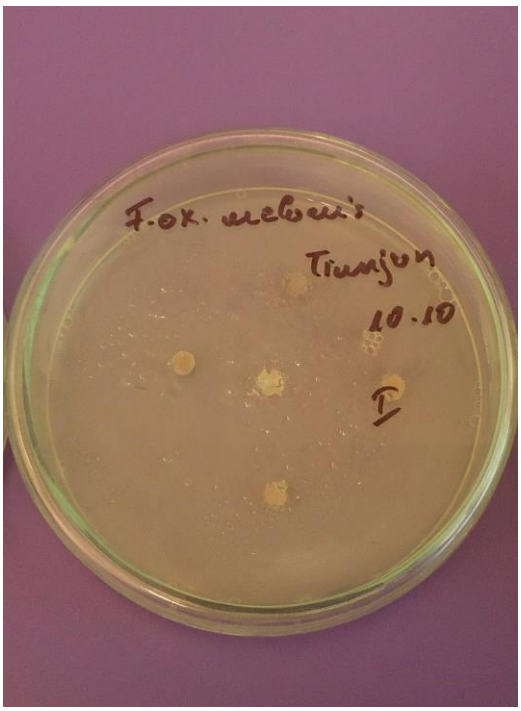
Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30°C prikazan je u Tablici 3.

Pri prvom mjerenju, odnosno četiri dana nakon inokulacije, eterična ulja timijana (Slika 9.), anisa, mente i lavande statički su vrlo značajno negativno utjecala na rast micelija gljive.

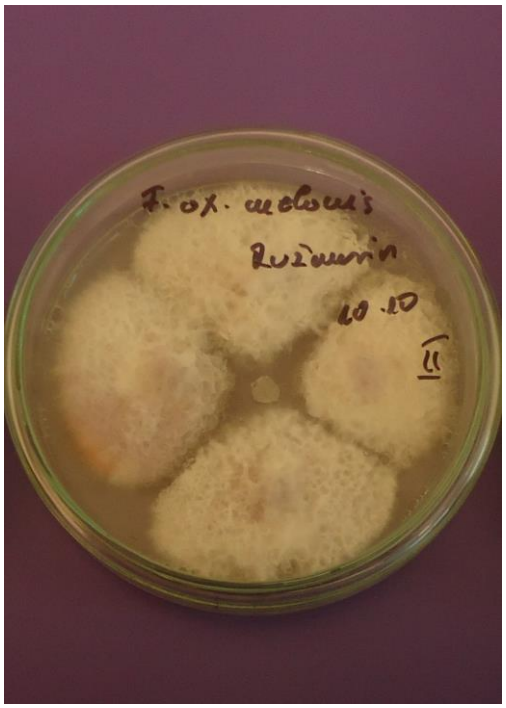
Ulja ružmarina statički je značajno negativno utjecalo na rast micelija gljive (Slika 10).

Tablica 3. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (30°C)

Eterična ulja	4.dan	7.dan	10.dan
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**26,00**	**8,16**	**4,75**
Menta	**17,16**	**6,41**	**5,91**
Lavanda	**15,41**	**6,50**	**16,00**
Ružmarin	**9,25**	**3,83**	**4,50**
Kontrola	**6,75**	**0**	**0**
LSD 0,05 **LSD 0,01**	**2,11** **2,69**	**2,72** **3,81**	**2,64** **3,70**



Slika 9. Utijecaj etričnog ulja timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30°C (original)



Slika 10. Utjecaj eteričnog ulja ružmarina na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30°C (original)

Deset dana nakon inokulacije jedino je eterično ulje timijana potpuno ihibiralo rast micelija gljive. Nakon sedam dana od inokulacije sva ispitivana ulja statistički su vrlo značjano inhibirala rast gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis.* Rezultati naših istraživanja u skladu su s rezultatima drugih autora. Prema Lee i sur. (2007.) ulje timijana ima značajno inhibitorno djelovanje na rast micelija *F. oxysporum.* Farshabaf Moghadam i sur. (2004.) i Huang i sur. (2010.) utvrdili su vrlo dobar inhibitorni učinak ulja metvice i spoja antenola na porast micelija različitih f. sp. *F. oxysporum.* Lee i sur. (2007.) navode da ulja metvice, ružmarina i bora nisu imala nikakav inhibitorni učinak na rast micelija gljive *H. sativum.*

4.4 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 15°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 15°C prikazan je u Tablici 4.

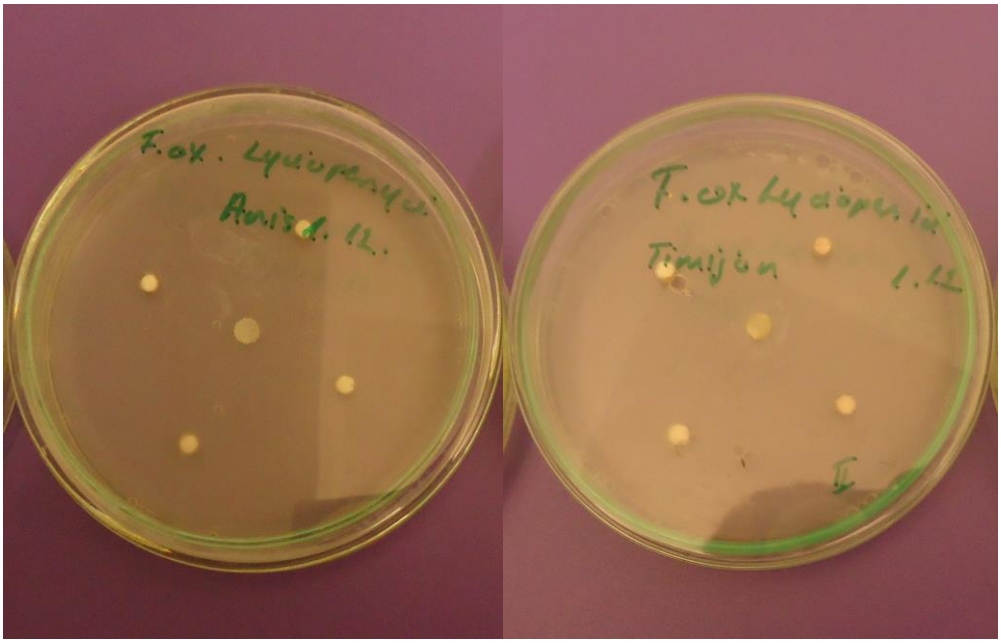
Četiri dana nakon inokulacije sva su eterična ulja statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija u odnosu na porast micelija u kontroli. Ulja timijana i anisa inhibirala su rast gljive statistički vrlo značajno jače u odnosu na sva druga ulja u istraživanju.

Pri drugom mjerenju utvrđeno je da ulja timijana i anisa i dalje 100% inhibiraju rast micelija gljive. Ulje mente statistički je vrlo značajno inhibiralo rast micelija u odnosu na kontrolu i primjenu ulja lavande i ružmarina. Također, porast micelija u prisustvu ulja mente je statistički vrlo značajno bolji u odnosu na varijante pokusa u kojima su aplicirana ulja timijana i anisa.

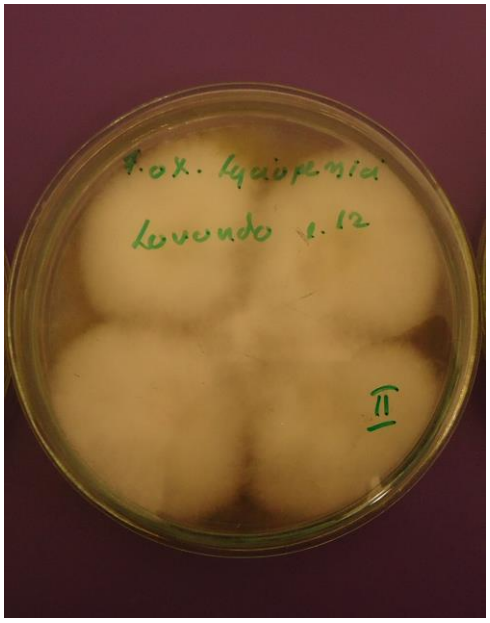
Tablica 4. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (15°C)

Eterična ulja	4.dan	7.dan	10.dan
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Menta	**18,66**	**9,16**	**3,91**
Lavanda	**16,25**	**0**	**0**
Ružmarin	**8,41**	**0**	**0**
Kontrola	**3,24**	**0**	**0**
LSD 0,05 **LSD 0,01**	**2,07** **2,90**	**0,93** **1,31**	**1,00** **1,40**

Deseti dan mjerenja timijan i anis i dalje su potpuno inhibirali rast *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Slika 11.). Kao i nakon sedam dana od inokulacije porast micelija uz primjenu ulja mente bio je statistički vrlo značajno slabiji u odnosu na varijantama pokusa s lavandom i ružmarinom te u odnosu na kontrolu. Prema Huang i sur. (2010.) spoj anteol, glavna komponenta anisa, izoliran iz biljke *Illicium verum* (zvjezdoliki anis), ima antifugalno djelovanje na rast micelija gljive *F. graminearum* te *Fusarium oxysporum* (f. sp. *cucumerinum*, f. sp. *lycopersici*, f. sp. *vasinfectum*). Ulje anisa (*P. anisum)* ima inhibitorni učinak i na porast micelja gljive *A. alternata* (Özcan i Chalchat, 2006). Lee i sur. (2007.) utvrdili su inhibitorni učinak ulja timijana na *C. gloesporoides*, dok ulje ružmarina nije pokazalo antifugalno djelovanje. Glavna komponenta ulja lavande je linalol (Verma i sur. 2010.) za koje Özek i sur. (2010.) navode da ne inhibira rast gljiva *C. acutatum, C. fragariae, C. gloeosporoides*.



Slika 11. Utjecaj eteričnog ulja anisa i timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 15°C (original)

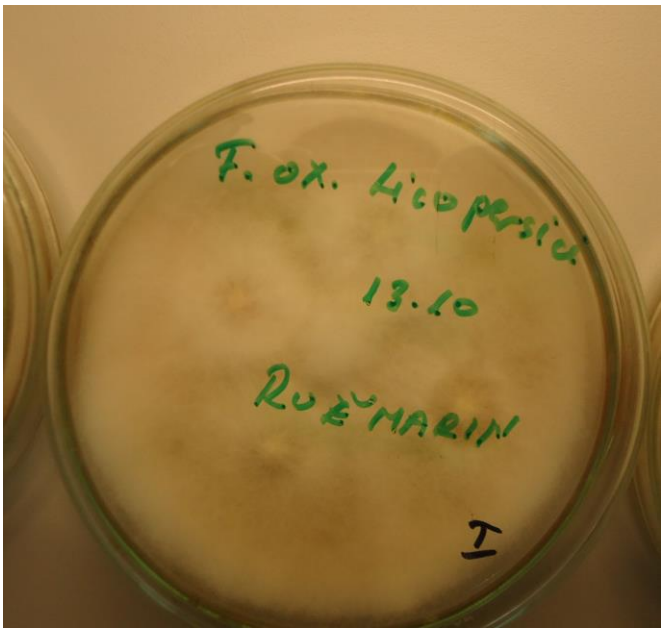


Slika 12. Utjecaj eteričnog ulja lavande porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* na temperaturi od 15°C (original)

4.3 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 21°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 30°C prikazan je u Tablici 5.

Četiri dana nakon inokulacije gljiva je u kontrolnoj varijanti i uz primjenu ulja ružmarina potpuno prerasla podlogu (Slika 13.). U varijanti s uljem timijana i anisa nakon četiri dana nije zabilježen porast gljive, odnosno ta su ulja imala fungicidni učinak. Ulja mente i lavande nakon četiri su dana statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija.



Slika 13. Utjecaj eteričnog ulja ružmarina na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (original)

Tablica 5. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (21°C)

Eterična ulja	4.dan	7.dan	10.dan
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**26,00**	**26,00**	**6,29**
Menta	**15,66**	**3,33**	**0**
Lavanda	**10,08**	**0**	**0**
Ružmarin	**0**	**0**	**0**
Kontrola	**0**	**0**	**0**
LSD 0,05 **LSD 0,01**	**1,02** **1,43**	**3,30** **4,62**	**1,60** **2,24**

Sedam dana nakon inokulacije ulja timijana i anisa i dalje imaju fungicidno djelovanje. Desetog dana od inokulacije utvrđena je 100% inhibicija rasta gljive samo u prisustvu ulja timijana, dok u prisustvu ulja anisa gljiva raste, ali je njezin porast statistički vrlo značajno slabiji u odnosu na kontrolu i varijante pokusa s uljima lavande, ružmarina i mente. Prema Özek i sur. (2010.) linalol, glavna komponenta eteričnog ulja lavnde (*L. angustifolia*), nije pokazalo inhibitornu aktivnost na gljivu *P. viticola.*

4.3 Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 30°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 30°C prikazan je u Tablici 5.

Tablica 6. Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (30°C)

Eterična ulja	4.dan	7.dan	10.dan
Timijan	**26,00**	**26,00**	**26,00**
Anis	**26,00**	**10,16**	**3,33**
Menta	**17,50**	**6,83**	**4,66**
Lavanda	**12,00**	**3,83**	**1,33**
Ružmarin	**12,5**	**3,41**	**2,41**
Kontrola	**8,75**	**1,50**	**1,50**
LSD 0,05 **LSD 0,01**	**1,55** **2,18**	**2,63** **3,68**	**3,18** **4,45**

Tijekom deset dana istraživanja i na temperaturi od 30°C, ulje timijana imalo je fungicidno djelovanje. Soković i sur. (2009.) utvrdili su inhibitorno djelovanje ulja timijana i njegove komponente timola na micelij gljive *D. helianthi*.

Nakon četiri dana sva su ulja statistički značajno inhibirala porast gljive u odnosu na kontrolu. Ulje mente inhibiralo je porast micelija statistički vrlo značajno u odnosu na ulja lavande i ružmarina te na kontrolu. Također, porast micelija u prisustvu mente bio je statistički vrlo značajno bolji u odnosu na ulje timijana i anisa.

Bullón i Googi (2005.) navode da ulja ružmarina i kadulje nisu pokazala značajnu antifugalnu aktivnost pri kontroli rasta gljiva iz roda *Phomopsis,* a Dev i sur. (2004.) utvrdili su da linalil acetat, jedna od glavnih komponenti ulja lavande, nije pokazala značajnu antifugalnu aktivnost prema *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae.*



Slika 14. Utjecaj eteričnog ulja anisa na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* na temperaturi od 30°C (original)

5. Zaključak

Eterična ulja timijana, anisa, mente, lavande i ružmarina pri temperaturama od 15°C, 21°C i 30°C različito su djelovali na porast micelija *Fusarium oxysporum f.sp. licopersici* i *Fusarium oxysporum f.sp. melonis.* Ulja su djelovala inhibitorno na porast micelija, nisu imala utjecaj ili su pozitivno djelovala na porast micelija.

Nakon četvrtog, sedmog i desetog dana pri različitim temperaturama eterično ulje timijana pokazalo je najbolje inhibitorno djelovanje na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici.*

Pri temperaturi od 21°C ulje anisa inhibiralo je rast micelija nakon desetog dana, odnosno trećeg mjerenja, zona ihibicije iznosila je 6,29 mm.

Eterična ulja mente i lavande inhibirale su rast micelija do sedmog dana, a zatim je prestalo inhibitorno djelovanje.

Ružmarin i kontrola su utjecali pozitivno na rast micelija, pokazali su najbolja antifugalna svojstva pri temperaturi od 21°C.

Na temperaturi od 30°C ulje anisa pokazuje statistički najznačajnija inhibitorna svojstva. Ulje lavande i kontrole promoviraju rast micelija za razliku od ulja mente i ružmarina.

Nakon prvog mjerenja na temperaturi od 15°C sva ulja pokazala su inhibitorna svojstva. Nakon sedmog i desetog dana, odnosno drugog i trećeg mjerenja, eterično ulje anisa i timijana zadržala su 100% inhibitorna svojstva.

Eterično ulje lavande, mente i kontrola promovirali su rast micelija gljive, nakon drugog i trećeg mjerenja.

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* na temperaturi od 21°C bio je različit nakon sva tri mjerenja.

Četvrtog, sedmog i desetog dana od pet navedenih eteričnih ulja, ulje timijana zadržalo je 100% inhibitorna svojstva.

Nakon prvog mjerenja sva ulja pokazala su fungistatično djelovanje, samo je ulje lavande nakon drugog i trećeg mjerenja pokazalo antifungalno djelovanje i promoviralo rast micelija gljive.

Pri prvom mjerenju, odnosno četiri dana nakon inokulacije na temperaturi of 30°C, eterična ulja timijana i anisa statistički su vrlo značajno negativno utjecala na rast micelija gljive. Ulje timijana zadržalo je 100% inhibitorna svojstva na ovoj temperaturi.

Ulje anisa koje je imalo nakon prvog mjerenja statistički vrlo negativno djelovanje na razvoj micelija, nakon i drugog mjerenja pokazalo je smanjeno inhibiranje.

Nakon sedmog i desetog dana, odnosno drugog i trećeg mjerenja, u kontrroli je inhibiranje prestalo u odnosu na ulja mente, lavande, i ružmarina gdje inhibiranje nije izostalo, ali se smanjilo.

Utjecaj eteričnih ulja timijana i anisa na temperaturi od 15°C statistički je značajno negativno djelovalo na razvoj micelija.

Nakon inokulacije, prvog, drugog i trećeg mjerenja ulje timijana imalo je 100% inhibitorno djelovanje, dok je ulje anisa nakon drugog mjerenja prestalo djelovati inhibitorno.

Ulja lavande i ružmarina nisu imali antifugalno djelovanje, djelovali su pozitivno na razvoj micelija gljive; štoviše, ulje je ružmarina nakon desetog dana prestalo inhibitorno djelovati.

Općenito gledano, ulje timijana pokazalo je najveći inhibitorni utjecaj na rast gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* i *Fusarium oxysporum f.sp. melonis.* Eterična ulja lavande i ružmarina uz kontrolu najbolje su promovirala rast micelija ispitivanih gljiva.

6. Popis literature

1. Amvam Zollo, P.H., Biyiti, L., Tchoumbougnang, T., Menut, C., Lamaty, G., Bouchet, Ph. (1998.): Aromatic Plants of Tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical Composition and Antifungal Activity of Thirteen Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon, Flavour and Fragrance Journal, 13: 107:114.

2. Bennet, J.W., Klich, M. (2003.): Mycotoxins, Clinical Microbiology Reviews, 16(3): 497-516.

3. Blat, G. (1969.): Aflatoxin. Academic Press. Inc (London), pp. 17.

4. Booth, C. (1971.) : The Genus *Fusarium.* Commonwealth Mycological Institute, London.

5. Burgess, L.W., Liddell, C.M., Summerell, B.A. (1988): Laboratory Manual for Fusarium Research: incorporating a key and descriptions of common species found in Australia. Sydney. 162 p.

6. Bowers, J.H., J.C. Locke,(2000). Effect of botanical extracts on population density of Fusarium oxysporum in soil an control of Fusarium wilt in the green house. Plant Dis. 88: 300-305.

7. Bullón, G.G., Goggi, A.S. (2005.): Use of Plant-Made Essential Oils as Biological Seed Treatment in Soybean, The ASA-CSSA-SSSA International Annual Meetings, Salt Lake City, UT.

8. Buchbauer, G.V. (1996), : Methods in araomatherapy research, Euro Cosmetics, 4, 23-26.

9. Dawar, S., Abbas, S., Tariq, M., Zaki, M.J. (2008.): In vitro fungicidal activity of species against root infencting fungi, Pak. J. Bot., 40(1): 433-438.

10. Daferara, D., Zirgas, J., Polission, M., G. (2000): *GC-MS Analiysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxiciti on Pencillium digitatum*. Laboratory of

General Chemistry and Laboratory of Phytopathology, Agricultural University of Athens. http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf990835x [6.3.2015.]

11. Ćosić, J., Vrandečić, K., Postić, J., Jurković, D., Ravlić, M. (2010): Antifugalno djelovanje eteričnih ulja na porast fitopatogenih gljiva in vitro. *Poljoprivreda*, 16:25-28.

12. Ćosić J: Parazitski uzročnici povrća i cvijeća. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. http://www.pfos.hr/~jcosic/Parazitski%20uzro%C4%8Dnici%20bolesti%20povr%C4%87a%20i%20cvije%C4%87a.pdf [6.3.2015.]

13. Dawar, S., Abbas, S., Tariq, M., Zaki, M.J. (2008.): In vitro fungicidal activity of species against root infencting fungi, Pak. J. Bot., 40(1): 433-438.

14. Dev, U., Devakumar, C., Mohan, J., Agarwal, P.C. (2004.): Antifungal Activity of Aroma Chemicals Against Seed-borne Fungi, Journal of Essential Oil Research, 16(5): 496-499.

15. Dorman, H., J., D., Deans S., G. (2000.) : Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88:308-316.

16. Fandohan, P., Hell K., Marasas W., F., O., Wingfield M., J. (2003.) : Infection of maize by Fusarium species and contamination on with fumonisin in Africa. *African Journal of Biotechnology*, 2(12):570-579.

17. Farshbaf Moghadam, M., Omid Beygi, R., Pourbaig, M.V.M., Ghaemi, A. (2004.): Composition and antifungal activity of peppermint (Mentha piperita) essential oil, Iranian Jorunal of Pharmaceutical Research, 3(Suppl.2): 68-69.

18. El-Zemity, S.R., Ahmed, S.M. (2005.): Antifungal activity of some essential oils and their major chemical constituents against some phytopathogenic fungi, J. Pest Cont. & Environ. Sci., 13(1): 61-72.

19. Endah, Y. (2005.): Antifungal activity of plant extracts and oils against fungal pathogens of pepper (Piper nigrum L.), cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume.), and

turmeric (Curcuma domestica Val.), Master's Degree Thesis, James Cook University, Australia.

20. Fawcett, C., Spencer D., M. (1970.) : Plant chemotherapy with natural products. *Annual Review of Phytopathology*, 8:403-419.

21. Hassiotis, C.N., Lazari, D.M., Vlachonasios, K.E. (2010.): The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of Lavandula angustifolila Mill., Fresenius Environmental Bulletin, 19(8): 1491-1498.

22. Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q., Jiang, W. (2010.): Antifungal Activity of the Essential Oil of Illicium verum Fruit and Its Main Component trans-Anethole, Molecules, 15: 7558-7569.

23. Iacobelis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F., Senatore, F. (2005.): Antibacterial Activity of Cuminum cyminum L. and Carum carvi L. Essential Oils, J. Agric. Food Chem., 53(1): 57-61.

24. Isman, M., B. (2000): Plant essential oils for pestand disease management. *Crop Protection*, 19:603-608.

25. Katooli, N., Maghsodlo, R., Razavi, S.E. (2011): Evaluation of eucalyptus essential oil against some plant pathogenic fungi, Journal of Plant Breeding and Crop Science, 3(2): 41-43.

26. Kishore, G.K., Pande, S., Harish, S. (2007.): Evaluation of Essential Oils and Their Components for Broad-Spectrum Antifungal Activity and Control of Late Leaf Spot and Crown Rot Diseases in Peanut, Plant Disease, 91(4): 375-379.

27. Kosalec, I., Pepeljnjak, S., Kuštrak, D. (2005.): Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruit (Pimpinella anisum L., Apiaceae), Acta Pharm., 55: 377-385.

28. Krauze-Baranowska, M., Mardarowicz, M., Wiwart, M., Pobłocka, L., Dynowska, M. (2002.): Antifugal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus Pinus, Z. Naturforsch., 57c: 478-482.

29. Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.-C. (2007.): Antifungal Activity of Five Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi, Plant Pathol. J., 23(2): 97-102.

30. Lee, E., Kim, J., E., Lee, H. S. (2000.) : Insecticide resistance in increasing interest. *Agri. Chem. Biotechnol.*, 44: 105-112.

31. Lis-Balchin, M. (2006.): Aromatherapy Science: A guide for healthcare proffesionals, Pharmaceutical Press, London, UK, pp. 297, 327.

32. Lis-Balachin, M., Hart, S.L., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1995.): Potential agrochemical and medicinal usage of essental oils of Pelargonium species, *J Herb Species Med Plants*, 3(2): 11-22.

33. Momin, R.A., Nair, M.G. (2001.): Mosquitocidal, nematicidal and antifungal compounds from Apium graveolens L, seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 142-145.

34. Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2008.): Essential oil composition of Pimpinella anisum L. fruits from various European countries, Natural product research, 22(3): 227-232.

35. Özcan, M.M., Chalchat, J.C. (2006.): Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum L.*) fruit oil at ripening stage, Annals of Microbiology, 56(4): 353-358.

36. Özek, T., Tabanca, N., Demirci, F., Wedge, D.E., Başer, K.H.C. (2010): Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential Oils and Their Biological Activities, Rec. Nat. Prod., 4(4): 180-192.

37. Pandey, R., Kalra A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H.N., Kumar, S. (2000.): Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. *J. Phtopathol*., 148:501-502.

38. Pak, J. (2008): Antifugal effect of essential oils on in vitro growth of pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Botany*, 40(1):409-414.

39. Paster, N., Menasherov, M., Ravid, U., Juven, B. (1995.): Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain, J. Food Protect., 58: 81-85.

40. Rodrigues, V.M., Rosa, P.T.V., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M.A.A. (2003.): Supercritical Extraction of Essential Oil from Aniseed (Pimpinella anisum L.) Using CO2: Solubility, Kinetics, and Composition Data, J. Agric. Food Chem., 51(6): 1518-1523.

41. Shephard, G.S., Marasas, W.F.O., Leggot, N.L.,Yazdanpanah, H., Rahimian, H., Safavi, N. (2000.): Natural occurence of fumosins in corn from Iran, J. Agric. Food Chem., 48: 1860-1864.

42. Singh, G., Upadyay, R., K. (1993.): Essential oils: A potent source of natural pesticide. *J Sci Ind Res*, 52:676-683.

43. Singh, G., Kapoor, I., P., S., Pandey, S, K., Rao, G., P., Singh, S., P., Chaturvedi, J., P. (1998.): Studies on essential oils: Part 16: Fungitoxic activity of volatile oils of some aromatic plants againts sugarcane pathogenes. Euro Cosmetics, 1:53.

44. Singh, G., Kapoor, I.P.S., Pandey, S.K., Singh, U.K., Singh, R., K. (1998.): Antibacterial investigations on volatile oils of some higher plants. Indian Drugs, 35:591.

45. Singh, G., Singh, O.P., Lampasona, M.P., Catalan C. (2003.): Chemical and biocidal investigations on Tgetes erecta leaf volatile oil. Flavour Frage J, 18:62-65, 2003.

46. Singh, G., Singh, O.P, Prasad, Y.R., Lmpasona M.P., Catlan C. (2003.): Chemical and biological investigations on leaf oil of Curcuma zedoaria. Indian J Chem Technol, 10:462-465.

47. Singh, G., Maurya, S., de Lampasona, M.P., Catalan, C. (2006.): Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile oil and its acetone extract, Food Control, 17: 745-752.

48. Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, D.D., Vajs, V., van Griensven, L.J.L.D. (2009.): Chemical Composition of Essential Oils of Thymus and Mentha Species and Their Antifungal Activities, Molecules, 14: 238-249.

49. Soliman, K.M., Badeaa, R.I. (2002.): Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol*., 40:1669-1675.

50. Suhr, K.I., Nielsen, P.V. (2003.): Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi, Journal of Applied Microbiology, 94(4): 665-674.

51. Sukkata, U., Haruthaithanasan, V., Chantarapanont, W., Dilokkunanant, U., Suppakul, P. (2008.): Antifungal Activity of Clove and Cinnamon Oil and Their Synergistic Against Postharvest Decay Fungi of Grape in vitro, Kasetsart J. (Nat. Sci.), 42: 169-174.

52. Thagaraj, N., Hosono, A. (1996.): Effect of spice extract on fungal inhibition. *Lebensmittel - Wissenchaftund-Technologie*., 29:286-288.

53. Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Egido, J., Marín, S. (2003.): Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by Fusarium proliferatum in maize grain, International Journal of Food Microbiology 89: 145-154.

54. Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Turon, C., Marín, S. (2004.): Impact of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol production by Fusarium graminearum under different temperature and water activity conditions in maize grain, Journal of Applied Microbiology, 96: 716-724.

55. Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Marín, S. (2004.): Effects of essential oils of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarosa on growth and fumonisin B1

production by Fusarium verticillioides in maize grain, Journal of the Science Food and Agriculture, 84(10): 1141-1146.

56. Verma, R.S., Rahman, L.U., Chanotiya, C.S., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A., Yadav, A.K. (2010.): Essential oil composition of Lavandula angustifolia Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India, J. Serb. Chem. Soc., 75(3): 343-348.

57. Yang, V.W., Clausen, C.A. (2007.): Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine, International Biodeterioration & Biodegradation, 59: 302-306.

58. Wang, C., Zhang, J., Chen, H., Fan, Y., Shi, Z. (2010.): Antifungal activity of eugenol against Botrytis cinerea, Tropical Plant Pathology, 35(3): 137-143.

59. Zambonelli, A., Zechini D'Aulerio, A., Bianchi, A., Albasini, A. (1996.): Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi In Vitro, Journal of Phytopathology, 144: 491-494.

7. Sažetak

U radu je ispitivan utjecaj pet eteričnih ulja (ružmarin, lavanda, menta, anis, timijan) na porast micelija gljiva *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* i *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturama (15°C, 21ºC, 30ºC). Eterično ulje timijana imalo je najbolje antifungalno djelovanje. Navedeno ulje potpuno je inhibiralo rast gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ***i*** *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis.* Ulja anisa i mente također imaju dobra inhibitorna svojstva.

Ključne riječi: eterična ulja, inhibicija, porast micelija, fitopatogene gljive

.

8. Summary

In this thesis effect of five essential oils (rosemary, lavender, mint, anise, thyme) on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* growth was investigated. The experiment was set up at three incubation temperatures (15°C, 21°C, 30°C).

Essential oil of thyme has shown the best antifungal effect. Thyme oil fully inhibitied growth of investigated fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Also, anise and mint oils have shown good antifungal effect.

Key words: essential oils, inhibition, mycelial growth, plath pathogenic fungi

10. Popis slika

Slika 1: Eterična ulja (original)
Slika 2: Aplikacija eteričnog ulja na papirnati disk (original)
Slika 3: Postavljanje diskova micelija na četiri mjesta (original)
Slika 4: Diskovi micelija na PDA (original)
Slika 5: Prenošenje diskova micelija ispitivanih gljiva (original)
Slika 6: Utjecaj eteričnog ulja ružmarina i lavande na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. melonis* na temperaturi od 15°C (original)
Slika 7: Utjecaj eteričnog ulja mente na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (original)
Slika 8: Utjecaj eteričnog ulja timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (original)
Slika 9: Utijecaj etričnog ulja timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30°C (original)
Slika 10: Utjecaj eteričnog ulja ružmarina na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturi od 30°C (original)
Slika 11: Utjecaj eteričnog ulja anisa i timijana na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* na temperaturi od 15°C (original)
Slika 12: Utjecaj eteričnog ulja lavande porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* na temperaturi od 15°C (original)
Slika 13: Utjecaj eteričnog ulja ružmarina na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (original)
Slika 14: Utjecaj eteričnog ulja anisa na porast micelija gljive *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* na temperaturi od 30°C (original)

11. Popis tablica

Tablica 1: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (15 ºC)
Tablica 2: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (21 ºC)
Tablica 3: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium oxysporun* f. sp. *melonis* (30 ºC)
Tablica 4: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium Fusarium oxysporum* f.sp. ly*copersici* (15 ºC)
Tablica 5: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (21 ºC)
Tablica 6: Zona inhibicije (mm) četvrti, sedmi i deseti dan, nakon inokulacije *Fusarium Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (30 ºC)

TEMELJNA DOKUMENTACIJASKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku **Diplomski rad**

Poljoprivredni faultet u Osijeku

Sveučilišni diplomki studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

Fungistatični utjecaj eteričnih ulja na gljivu *Fusarium oxysporum*

Zdenka Ferić

Sažetak

U radu je ispitivan utjecaj pet eteričnih ulja (ružmarin, lavanda, menta, anis, timijan) na porast micelija gljiva *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* i *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* na temperaturama (15°C, 21°C, 30°C). Eterično ulje timijana imalo je najbolje antifungalno djelovanje. Navedeno ulje je potpuno inhibiralo rast gljive *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ***i*** *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis.* Ulja anisa i mente također imaju dobra inhibitorna svojstva.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 36

Broj grafikona i slika: 14

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 59

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: eterična ulja, inhibicija, porast micelija, fitopatogene gljive

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Izv. prof dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik

2. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor

3. Prof. dr. sc Nada Parađiković, član

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek **Graduate Thesis**

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies, Course Vegetable and Floriculture

Fungistatic effect of esential oils on patogen *Fesarium oxysporum*

Zdenka Ferić

Abstract:

In this thesis effect of five essential oils (rosemary, lavender, mint, anise, thyme) on *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* growth was investigated. The experiment was set up at three incubation temperatures (15°C, 21°C, 30°C)

Essential oil of thyme has shown the best antifungal effect. Thyme oil fully inhibitied growth of investigated fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Also, anise and mint oils have shown good antifungal effect.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: PhD Jasenka Ćosić, Full Professor

Nuber of pages: 36

Nuber of figures:14

Nuber of tables:6

Nuber of references: 59

Nuber of appendices:0

Orginal in: Croatian

Key words: essential oils, inhibition, mycelial growth, plath pathogenic fungi

Thesis defended on date:

Reviewers:

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

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