

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Antonia Petrić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**FUNGISTATIČNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA NA *Pythium*
irregulare i *Pythium ultimum***

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Antonia Petrić

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Smjer Zaštita bilja

**FUNGISTATIČNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA NA *Pythium*
irregulare i *Pythium ultimum***

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada :

1. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof. dr. sc. Renata Baličević, član

Osijek, 2020.

SADRŽAJ

1.UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
3.MATERIJALI I METODE	11
3.1.Priprema PDA podloge.....	11
3.2. Postavljanje pokusa	12
4.REZULTATI.....	15
4.1. Utjecaj eteričnih ulja u količini 5 µl	15
4.2. Utjecaj eteričnih ulja u količini 15 µl	18
4.3. Utjecaj eteričnih ulja u količini 30 µl	20
4.4.Utjecaj eteričnog ulja klinčića na gljive <i>Pythium irregulare</i> i <i>Pythium ultimum</i>	22
5.RASPRAVA.....	23
6.ZAKLJUČAK	25
7.POPIS LITERATURE	26
8.SAŽETAK.....	29
9.SUMMARY	30
10. POPIS TABLICA.....	31
11. POPIS SLIKA	32
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	33
BASIC DOCUMETATION CARD.....	34

1. UVOD

U suvremenoj poljoprivredi postoje razne mjere za suzbijanje zemljišnih patogena među kojima značajno mjesto zauzimaju agrotehničke mjere kao što su plodored, obrada tla, zaoravanje žetvenih ostataka i dr. Danas se još uvijek upotrebljavaju i fungicidi koji koji suzbijaju zemljišne patogene kao što su *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*. Njihovim čestim korištenjem povećava se otpornost patogena na fungicide, u tlu zaostaju rezidue te dolazi do štetnog utjecaja na korisne organizme u tlu. Korištenjem sintetičkih fungicida onečišćujemo okoliš i ljudsko zdravlje konzumenata. Kako bismo to spriječili danas se proizvođači sve više okreću uporabi prirodnih spojeva u zaštiti bilja. U posljednjih nekoliko godina u Hrvatskoj je sve više poljoprivrednih proizvođača koji prelaze na sustav ekološke proizvodnje iako ona kao takva nije u potpunosti zaživjela.

Ekološku poljoprivredu možemo definirati kao sustav poljoprivredne proizvodnje koji nastoji maksimalno iskoristiti potencijale određenog ekosustava s ciljem proizvodnje hrane i zadovoljavanja svih društvenih i gospodarskih potreba (Znaor, 1996.).

Eterična ili esencijalna ulja su hlapljive tvari koje se mogu dobiti iz različitih dijelova biljke na tri različita načina: destilacijom vodene pare, tještenjem i ekstrakcijom. Ona imaju široku primjenu u farmaceutskoj industriji za dobivanje različitih lijekova, koriste se u fitoterapiji i aromaterapiji te za prevenciju različitih bolesti. Obzirom da je poznato da posjeduju antifungalno, antibakterijsko i antivirusno djelovanje potencijalno bi se mogla iskoristiti za proizvodnju biofungicida.

Pythium vrste su zemljišni fakultativni patogeni koji parazitiraju veliki broj biljnih vrsta. Štete čine na mladim biljkama te može doći do njihovog potpunog venuća i ugibanja. Biljke zaražavaju u klijanju i nicanju kada su one najosjetljivije. Parazitiraju povrtne kulture, trave, cvijeće pa i neke voćne vrste. Neke od osjetljivih biljnih vrsta su: uljana repica, šećerna repa, duhan, kukuruz, krumpir, grašak, mrkva i paprika. Ukoliko su povoljni vanjski čimbenici kao što su temperatura i vlaga dolazi do brzog venuća i propadanja biljke. Simptome možemo vrlo lako prepoznati na mladim klijanjima. Vrlo se lako čupaju iz tla, mlade biljke su polegnute, a na korijenu možemo vidjeti bjeličaste prevlake micelija. Gljiva nepovoljne uvjete preživljava u obliku hlamidospora.

Cilj ovoga rada je utvrditi utjecaj devet eteričnih ulja na porast micelija gljiva *Pythium irregulare* Buisman i *Pythium ultimum* Trow uz primjenu različitih količina eteričnih ulja (5 μ l, 15 μ l i 30 μ l).

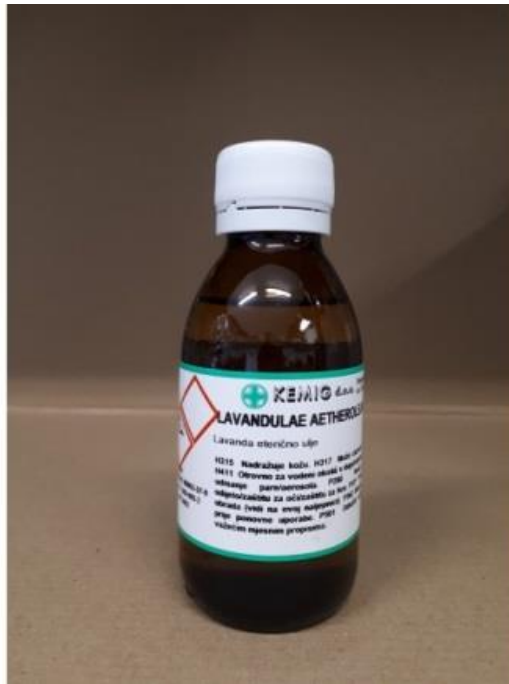
2. PREGLED LITERATURE

Biljke su veliki izvor bioaktivnih molekula s terapijskim potencijalom. Samo je mali postotak fitokemijski istraženih biljaka na Zemlji. Iako postoje učinkoviti preparati za suzbijanje gljiva i dermatofita, ekstrakti biljaka kao i eterična ulja i njihovi spojevi imaju značajan utjecaj zbog svojih antifungalnih aktivnosti (Kosalec i sur., 2004.). Sve je veći interes u industriji i znanstvenim istraživanjima za aromatične i medicinske biljke zbog njihovog antimikrobnog djelovanja koje bi se moglo iskoristiti u humanoj medicini, veterini i kontroli biljnih bolesti. Antimikrobna i insekticidna svojstva eteričnih ulja su relativno dobro istražena protiv širokog spektra organizama kao što su gljive, bakterije, virusi i insekti. Ta svojstva su uglavnom vezana za prisustvo aktivnih fitokemikalija uključujući vitamine, flavonoide, terpene, karotenoide i dr. Upravo zato su od velike važnosti i u prehrambenoj industriji te mogu ponuditi zamjenu sintetičkih konzervansa za prirodne (Singh i Maurya, 2005.).

Eterična ulja su hlapljive smjese aromatičnih spojeva, a produciraju ih različite biljke. Imaju široku primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj i poljoprivrednoj industriji. Svaki dio biljke kao što su pupoljci, lišće i cvjetovi mogu sintetizirati eterično ulje. Neka od eteričnih ulja su cimet (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), anis zvjezdasti (*Pimpinella anisum*), citronela javanska (*Cymbopogon winterianus* L.), klinčić (*Syzygium aromaticum* L.), lavanda (*Lavandula officinalis* L.) (slika 1), bor (*Pinus sylvestris* L.) idr.

Gljive su prirodni dio našeg okoliša i imaju veliku ulogu u razgradnji organske tvari. Mogu rasti na gotovo bilo kojoj organskoj tvari uz dovoljnu vlagu te utjecati na strukturu i izgled te tvari (Verma i sur., 2008.).

Fitopatogene gljive uzrokuju oko 75 % biljnih bolesti. Imaju specijaliziran način prehrane te se kao takve hrane živim organizmom koje napadaju te ih stoga prema načinu ishrane svrstavamo u parazite. Eukariotski su organizmi koji u biljku mogu prodrijeti na tri načina: kroz prirodne otvore biljke, kroz mehanička oštećenja ili kroz neozlijeđeno tijelo same biljke.



Slika 1. Eterično ulje lavande , Kemig
(Izvor : <http://www.kosarica.hr>)

Pythium vrste su biljni fakultativni paraziti koji uzrokuju bolest poznatu pod imenom palež klijanaca koji naseljavaju različite tipove tla. Domaćini su im mnogobrojne uzgajane (slika 2), samonikle, uskolisne i širokolisne, zeljaste i drvenaste biljne vrste. Najugroženije su mlade biljke koje se uzgajaju u plastenicima/staklenicima ili u polju. Zaražene biljčice najčešće propadaju od 7 do 10 dana nakon klijanja te tijekom i nakon nicanja. Na korijenu mladih biljčica vidljive su male vodenaste, a kasnije i smeđe pjegice. Simptom zaraze *Pythium* vrstama može biti i trulež korijena. Tkivo posmeđi, nekrotizira te gubi mogućnost usvajanja vode i hranjivih tvari od vrha prema osnovi korijena (Jurković i sur., 2016.). Micelij ove gljive je jednostaničan, bezbojan ili blijedožučkast. Na miceliju se nespolnim putem razvijaju zoosporangiji u kojima se nalaze zoospore. Za slobodno kretanje zoospora potrebna je voda. Micelij stvara i dvije gamete, a to su oogoniji i anteridiji. Nakon kopulacije anteridija i oogornija nastaje zoospora koja može klijati u micelij ili u zoospore. Potrebna temperatura za klijanje je između 10 i 18°C, a potrebna je i slobodna voda. Od ratarskih kultura najveću opasnost *Pythium* vrste predstavljaju za usjeve repe.



Slika 2. *Pythium spp.* na dinji
(Izvor : www.ipmimages.org)

U ratarskoj proizvodnji priježetveni i posliježetveni gubitci uslijed gljivičnih bolesti mogu iznositi i do 12 % u razvijenim zemljama (Lee et al., 2001.) . Istraživanjima u posljednjih sto godina utvrđena su antimikrobna svojstva velikog broja eteričnih ulja. Maruzzela i sur. (1961.) su testirali antifungalno djelovanje 196 aromatičnih kemikalija na rastućim kulturama četiri gljive . Rezultati su pokazali da je 63 % ovih kemikalija inhibiralo rast testiranih gljiva. Također, Verma i sur. (2011.) su istraživali antifungalni utjecaj eteričnih ulja na gljive *Apergillus niger* van Tieghem i *Geotrichum candidum* L. Koristili su eterična ulja biljaka papra (*Piper nigrum* Linn.), ricinusa (*Ricinus communis* Linn.), cedra (*Cedrus deodara* Roxb.), klinčića (*Syzygium aromaticum* Linn.) , eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* Labill.), naranče (*Citrus aurantium* Linn.), limuna (*Citrus limon* Linn.), masline (*Olea europaea* Linn.) i mente (*Mentha piperita* Linn.). Rezultati su pokazali da su eterična ulja klinčića, limuna i mente imala najveći antifungalni utjecaj na rast obje istraživane gljive.

Na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu u Zagrebu Kosalec i sur. (2005.) istraživali su antifungalno djelovanje tekućeg ekstrakta i eteričnog ulja iz plodova anisa (*Pimpinella anisum* L.) na izolate sedam vrsta kvascica sličnih gljivica i četiri vrste dermatofita. Koristili su dvije metode za ispitivanje antifungalne aktivnosti: metode difuzije cilindrima i metode razrjeđivanja u tekućem hranilištu. Utvrđena je značajna razlika ($p < 0,01$) između minimalne inhibitorne koncentracije tekućeg ekstrakta anisa i eteričnog ulja

anisa. Jaču antifungalnu aktivnost na istraživanim kvascima sličnim gljivicama i dermatofitima pokazalo je eterično ulje anisa.

Al-Reza i sur. (2010.) su istraživali inhibitorno djelovanje eteričnih ulja i organskih ekstrakata jasmina (*Cestrum nocturnum* L.) na biljne patogene u *in vitro* i *in vivo* uvjetima. Koristeći eterično ulje (1000 ppm) i ekstrakt cvijeta jasmina (1500 µg/disc) ispitivali su antifungalni utjecaj na *Botrytis cinerea* Pers ex Fr., *Colletotrichum capsici* (Syd.) E.J. Butler & Bisby, *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen, *Fusarium solani* (Mart) Sacc., *Phytophthora capsici* Leonian, *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn i *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Eterično ulje jasmina pokazalo je umjereno do visoko antifungalno djelovanje na sve testirane gljive, dok su ekstrakti heksan, kloroform, etil-acetat i metanol pokazali inhibitorni rast na neke fitopatogene, ali ne na sve.

Singh i Maurya (2005.) istraživali su antimikrobna, antifungalna i insekticidna svojstva 6 različitih eteričnih ulja. Došli su do zaključka da su eterična ulja prirodne fitokemikalije koje imaju različito djelovanje na različite uzročnike bolesti. Navode da je zbog zdravlja ljudi i higijene hrane potrebno pronaći odgovarajuće prirodne aditive koji se nalaze u biljnom materijalu kao kompleksi. Na temelju ovog istraživanja kasnije su provedena mnoga druga istraživanja .

Sitara i sur. (2008.) su u Pakistanu proveli istraživanje o antifungalnom utjecaju eteričnih ulja u *in vitro* uvjetima na rast različitih patogenih gljiva. Eterična ulja ekstrahirana su iz sjemena nima (*Azadirachta indica* A. Juss) , gorušice (*Brassica campestris* L.) , pitome crnjkike (*Nigella sativa* L.) i devesilje (*Ferula assafoetida* L.) te je ispitano njihovo antifungalno djelovanje (koncentracije ulja 0,5; 0,1 i 0,15%) na osam uzročnika bolesti koje se prenose sjemenom. Radi usporedbe učinka eteričnih ulja i njihovog antifungalnog djelovanja uzet je i fungicid Ridomyl gold 68%. Svi ekstrakti ulja osim ulja gorušice su pokazala fungistatično djelovanje različitog stupnja. Od svih navedenih ulja, ulje devesilja u koncentracijama 0,1% i 0,15% značajno je inhibiralo rast svih gljiva osim *Aspergillus flavus* L.. Pitoma crnjika u koncentraciji 0,15% je također bila vrlo učinkovita, dok su malu fungističnu aktivnost pokazala ulja nima i gorušice i fungicid Ridomyl gold.

Sve veća učestalost pojave različitih biljnih bolesti, problemi koji se javljaju u njihovoj kontroli kao i sve češćoj pojavi rezistentnosti uzročnika bolesti na sredstva za zaštitu bilja potaknuli su istraživanja prirodnih alternativa. Antifungalni utjecaj eteričnih ulja i njihovih spojeva na inhibiciju rasta micelija *Fusarium oxysporum* f.sp.*gladioli* istraživali

su Barrera-Necha i sur. (2009.). Značajan antifungalni učinak utvrđen je za ulja cimeta, timijana i klinčića koji su u potpunosti inhibirali rast micelija gljive kod primjene u količinama 100, 150, 200, 250 i 300 ppm. Ovisno o primjenjenoj količini ulja mirisne lobode, mente i gorke naranče imala su različit antifungalni učinak. Eterična ulja češnjaka, paprike, alepske rutvice i eukaliptusa nisu imala antifungalni utjecaj na testiranu gljivu bez obzira na primjenjenu količinu ulja. Spojevi carvacrol (cimofenol), geraniol i trans-cinanamaldehyd imaju značajnu antifungalnu aktivnost protiv testirane gljive. Na temelju tih rezultata predloženi su alternativni fungicidi.

Eterično ulje origana je poznat izvor antimikrobnih spojeva za primjenu u konzerviranju hrane. Istraživanje Čabarkapa I. i sur. (2011.) eteričnog ulja origana na šest izolata gljive *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx. i 4 izolata gljive *Penicillium chrysogenum* Thom. izoliranih iz tradicionalne proizvodnje Petrovačke kobasice. Nalazi otkrivaju da eterično ulje origana ima značajno inhibitorno djelovanje na sve testirane izolate gljiva. *P. aurantiogriseum* i *P. chrysogenum*. Eterično ulje origana je pokazalo visoko antifungalno djelovanje (aktivnost) na sve testirane izolate pri primjeni najveće količine ulja 250 µL/mL.

Pineda i sur. (2018.) su ispitali antifungalni učinak ekstrakata iz peršina (*Petroselinum crispum* Mill.) kao i eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogenu gljivu *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds. Rezultati su pokazali da su svi ekstrakti kao i eterično ulje vrlo značajno inhibirali rast gljive *C. acutatum* pri količini većoj od 100 µg/mL.

Svako eterično ulje ima specifičan inhibitorni učinak te on može ovisiti o načinu aplikacije. Veliki fenolni spojevi kao što su timol i eugenol su komponente nekih eteričnih ulja te je poznato da ona bolje djeluju pri kontaktnoj primjeni. Ulja koja sadrže nefenolne hlapljive spojeve kao što su na primjer citral i limonen imaju najbolji učinak na mnoge gljive pri primjeni eteričnih ulja isparavanjem (Suhar i Nielsen, 2003.).

Glavna komponenta eteričnog ulja anisa *Illicium verum* Hook (zvjezdoliki anis) je spoj antenol. Huang i sur. (2010.) navode da ulje anisa ima antifungalno djelovanje na rast micelija gljiva *Fusarium graminearum* Schw. i *Fusarium oxysporum* (f.sp. *cucumerinum*, f.sp. *lycopersici*, f.sp. *vasinfectum*).

Velluti i sur. (2003.) su istraživali utjecaj pet vrsta eteričnih ulja (limunska trava, origano, palmarosa, klinčić i cimet) na porast micelija *Fusarium proliferatum* (Mashus.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg i produkciju mikotoksina fumonizina B1 na različitim temperaturama i pri različitim količinama vode u zrnu kukuruza. Na temperaturama 20 i 30 °C i pri većem sadržaju vode u zrnu inhibitorni učinak na rast micelija bio je veći. Proizvodnja mikotoksina fumonizina B1s inhibirana je pri većoj količini vode i višoj temperaturi.

Eugenol je jedna od glavnih komponenata eteričnih ulja klinčića i cimeta te ima vrlo jako antifungalno djelovanje na patogene gljive *Botrytis cinerea* i *Sclerotinia sclerotiorum* (Wang i sur., 2010.).

Prema istraživanju Silva i sur. (2008.) jako antifungalno djelovanje ima eterično ulje limunske trave (*Cymbopogon citratus* L. Spreng) na vrste iz roda *Candida*, posebno na vrstu *Candida albicans*.

Inhibitorni utjecaj eteričnih ulja timijana i eukaliptusa na šest patogenih gljiva: *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Phytium ultimum*, *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana* (Ito & Kurib) Drechsler ex Dastur istraživali su Katooli i sur. (2012.). *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana* su iz izolirani iz riže, *Penicillium digitatum* i *Aspergillus flavus* su izolirani iz plijesni kruha, a *Colletotrichum gloeosporioides* i *Phytium ultimum* iz citrusa. Čiste kulture su uzgojene na PDA podlozi, a iz listova timijana i eukaliptusa su ekstrahirana eterična ulja. Ova eterična ulja primijenjena su u količini 10 µL i to nerzrijeđena i razrijeđena s acetonom 25 %, 50 % i 75 %. Petrijeve zdjelice su inkubirane u termostatu na 25°C kroz 30 dana. Rezultati su pokazali da je eterično ulje eukaliptusa potpuno inhibiralo rast micelija *Phytium ultimum* i *Rhizoctonia solani* u svim primijenjenim količinama dok na patogene gljive *Penicillium digitatum* i *Aspergillus flavus* nije utvrđen nikakav antifungalni učinak. Eterično ulje timijana u koncentraciji ulja 75% i 100% je potpuno inhibiralo rast micelija *Penicillium digitatum*, a kod *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytium ultimum* i *Rhizoctonia solani* u svim koncentracijama.

Krauze-Baranowska i sur. (2002.) istraživali su antifungalno djelovanje eteričnih ulja iz roda *Pinus* (*Pinus ponderosa* Douglas ex C. Lawson, *Pinus resinosa* Sol. ex Aiton i *Pinus strobus* L.) na tri vrste gljiva iz roda *Fusarium* (*Fusarium culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc., *F. solani* i *Fusarium poae* (Peck.) Wollenw.). Od svih navedenih eteričnih ulja najjače

antifungalno djelovanje je imalo ulje *P. ponderosa* na sve tri vrste roda *Fusarium* i to pri najnižoj koncentraciji ulja od 2%. *P. resinosa* i *P. strobilus* su imale inhibitorni učinak na sve tri vrste roda *Fusarium*, ali u puno manjoj mjeri. Razlog tome je različiti kemijski sastav ulja. *P. strobilus* ima najmanje ugljikovodičnih terpena te je zato imalo i najslabije antifungalno djelovanje.

Antifungalno djelovanje eteričnog ulja *Ziziphora clinopodioides* L. na *Sclerotinia sclerotiorum* istraživali su Ma i sur. (2016.). Rast micelija ove gljive je potpuno inhibiran pri količini 1,25 µl/ml kontaktnim djelovanjem i 0,15 µl/ml isparavanjem ulja. Pri količini ulja 0,15 µl/ml isparavanjem ulje je pokazalo snažni inhibitorni učinak na stvaranje sklerocija. Potpuni inhibitorni učinak na stvaranje sklerocija je pri kontaktnom djelovanju ulja i količini 1 µl/ml.

Al-Taisan i sur. (2014.) proveli su istraživanje o djelovanju pet eteričnih ulja na gljivu *Sclerotinia sclerotiorum*. Pokus je proveden u Petrijevim zdjelicama na PDA podlozi. Aplicirane su četiri količine ulja 0.01 µL/mL, 0.1 µl/ml, 0.5 µl/ml i 1 µl/ml. Pokus je postavljen u termokomori na 25 °C kroz 24 sata. Najbolji inhibitorni učinak na porast micelija pokazalo je ulje lišće eukaliptusa (62%), zatim ulje cimeta (55.7%) pa ulje piskavice (30%).

Istraživanje o utjecaju 12 eteričnih ulja na rast gljiva *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *F. oxysporum*, *Phytophthora parasitica* Dastur, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc., *Cladobotryum mycophilum* (Oudem) Gams & Hooz i *Trichoderma aggressivum* f. sp. *europaeum* proveli su Dianez i sur. (2018.). Pokus je postavljen u Petrijevim zdjelicama na PDA podlozi. Eterična ulja ružmarina, timijana i eukaliptusa su imala negativan utjecaj na rast micelija *S. sclerotiorum* samo kod primjene kombinacije sva tri ulja. Eterična ulja klinčića, paprene metvice i ružičastog geranija su potpuno inhibirala rast gljiva *S. sclerotiorum* i *P. parasitica* pri količini od 8 µl.

Sukatta i sur. (2008.) istraživali su antifungalni utjecaj eteričnih ulja klinčića i cimeta i njihovo sinergističko djelovanje na 6 različitih gljiva: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc., *Rhizopus stolonifer* Vuillemin i *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. Antifungalno djelovanje ulja klinčića vrlo je slabo i pokazuje minimalnu inhibiciju kada je primijenjeno u količinama 200, 200, 4000, 800, 200 i 200 mg/ml. Rezultati su pokazali da eterično ulje klinčića i cimeta nisu značajno utjecali na inhibiciju rasta *A. alternata*, *A.*

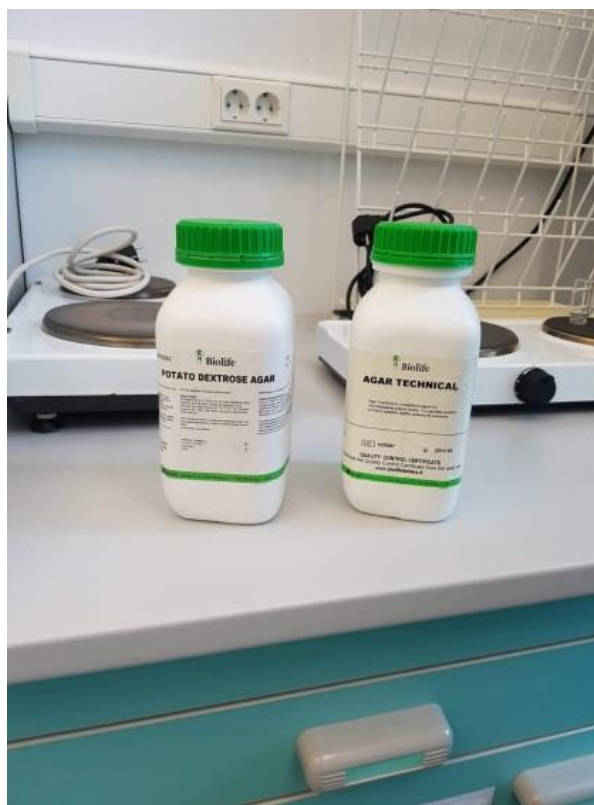
niger, *P. viticola*, ali su značajno inhibirali rast *C. gloesporioides*, *R. stolonifer* i *L. theobromae*. Eterično ulje cimeta u količini 10 μ l imalo je 100% antifungalni učinak na sve testirane gljive osim na *R. stolonifer*, dok je eterično ulje klinčića potpuno inhibiralo porast micelija svih testiranih gljiva.

Utjecaj 22 eterična ulja (anis, timijan, kim, paprena metvica, lavanda, kadulja, matičnjak, ružmarin, mirta, cimet list, bosiljak, bijeli bor, eukaliptus, cedar, bergamot, mandarina, čempres, pačuli, đumbir, gorke naranče, sandal i kamfor) na porast micelija *Botrytis cinerea* istraživali su Grgić i sur. (2016.) Porast micelija je mjeren nakon 3 i 9 dana, a ulja su primjenjena u tri količine (3, 5 i 9 μ l). Antifungalno djelovanje pokazala su sva ulja osim gorke naranče, sandala i kamfora. U odnosu na kontrolu, najbolji učinak su imala ulja anisa i timijana. Eterična ulja gorke naranče, sandala i kamfora su imala stimulativan učinak na rast gljive *B. cinerea*.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Priprema PDA podloge

Priprema hranjive podloge započinje kuhanjem 500 ml destilirane vode 21 g gotovog krumpir dekstroznog agara i 1,4 g tehničkog agra (slika 3). Ova smjesa se kuha u Erlenmayer tikvici jedan sat vremena u vodenoj kupki. Nakon kuhanja tikvicu poklopimo aluminijskim čepom, umotamo u filter papir te stavljamo u autoklav na sterilizaciju. Sterilizacija traje 20 minuta na temperaturi od 120° C, dok ukupan rad autoklava traje oko sat i pol . Kada se temperatura podloge spusti na 60°C u nju dodajemo prethodno pripremljenu otopinu 0,5 g antibiotika i 2 ml sterilne destilirane vode.



Slika 3. Krumpir dekstrozni i tehnički agar (Izvor: Petrić ,2019.)

Petrijeve zdjelice stavljamo u posebne aluminijske stalke te ih u autoklavu steriliziramo na 120 °C. Nakon sterilizacije, Petrijeve zdjelice ne smijemo otvarati do trenutka kada u njih sipamo hranjivu podlogu. Nakon što izlijemo hranjivu podlogu u Petrijeve zdjelice, one se ohlade te ih stavljamo u hladnjak na čuvanje .

3.2. Postavljanje pokusa

Sedam dana prije postavljanja pokusa potrebno je gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* precijepiti na PDA podlogu i inkubirati u termostatu na 22°C (slika 4) kako bi se razvile čiste kulture koje ćemo koristiti dalje u pokusu.



Slika 4. Termostat komora
(Izvor : Petrić, 2019.)

Nakon što smo pripremili PDA podlogu, uslijedilo je i precjepljivanje gljiva na podloge (slika 5) te aplikacija eteričnih ulja. Ovaj je postupak proveden u Centralnom laboratoriju za fitomedicinu Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek. Za postupak precjepljivanja potrebna je metalna pinceta, 96% etilni alkohol, plamenik i metalni kružni rezač. U pokusu je korošteno devet eteričnih ulja: čajevac, eukaliptus, čempres, citronela, anis zvjezdasti, cimet kora, lavanda, bor i klinčić u tri različite količine: 5 μ l, 15 μ l i 30 μ l.



Slika 5. Precjepljivanje gljiva (Izvor: Petrić ,2019.)

Pokus je postavljen u 3 ponavljanja. U sredinu Petrijeve zdjelice postavljen je kružni isječak filter papira (5mm) i na njega pipetom određena količina eteričnog ulja (5 μ l, 15 μ l i 30 μ l) (slika 6). Gljive smo precijepili na hranjive podloge pomoću sterilnog bušača na način da smo na svaku PDA podlogu stavili po 4 dijagonalno raspoređena „kružića“ micelija gljive. U kontroliranoj varijanti umjesto eteričnog ulja na filter papir stavlja se destilirana voda. Ova inokulacija se obavlja u laminaru, a nakon nje Petrijeve zdjelice se ostavljaju u termostatu na 22°C (slika 7).



Slika 6. Pipetiranje eteričnog ulja na podlogu
(Izvor: Petrić, 2019.)

Zonu inhibicije mjerili smo (u cm) 4. i 8. dana od postavljanja pokusa.



Slika 7. Petrijeve zdjelice u termostatu komori
(Izvor: Petrić, 2019.)

4.REZULTATI

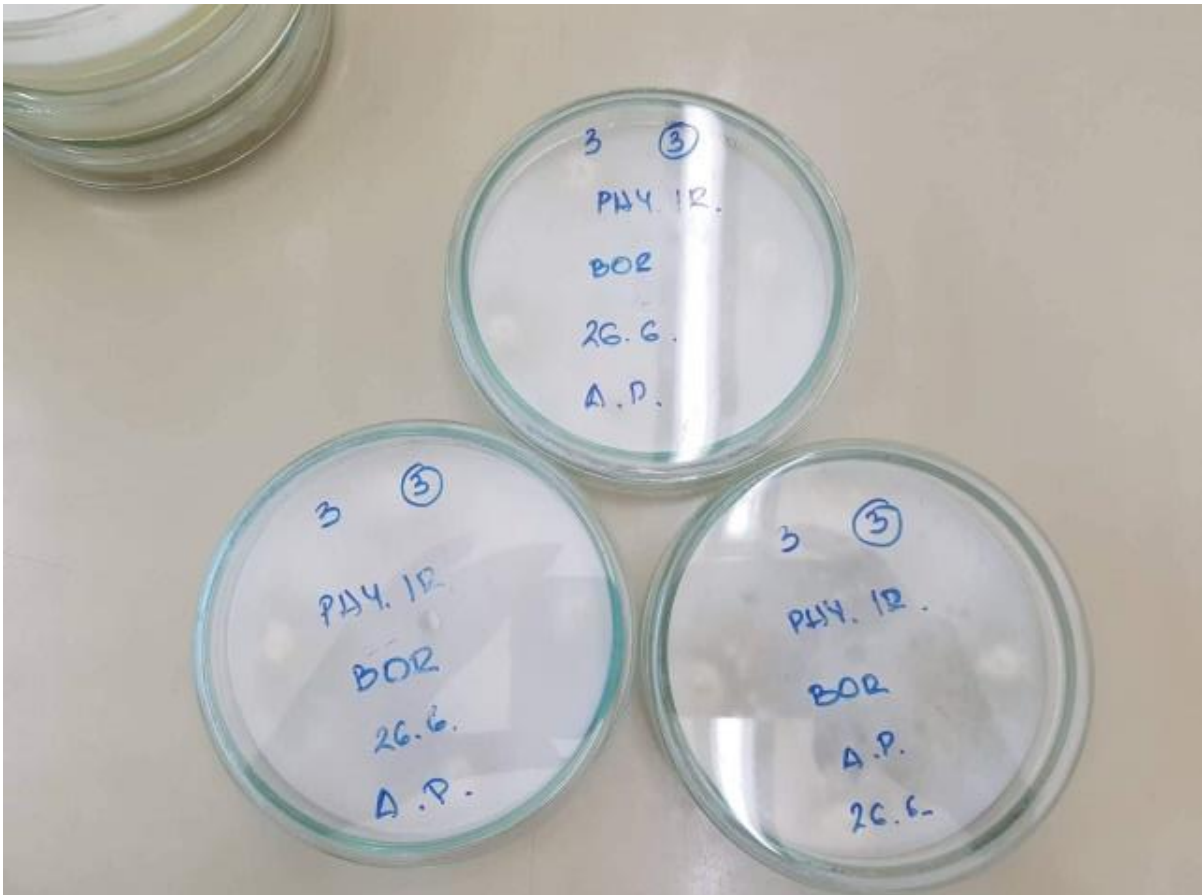
4.1. Utjecaj eteričnih ulja u količini 5 μ l

Mjerenje zone inhibicije je 4. i 8. dana od postavljanja pokusa. Nakon osam dana eterična ulja čajevca, eukaliptusa, čempresa, lavande i bora (slika 8) nisu imala nikakav inhibitorski utjecaj na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*.

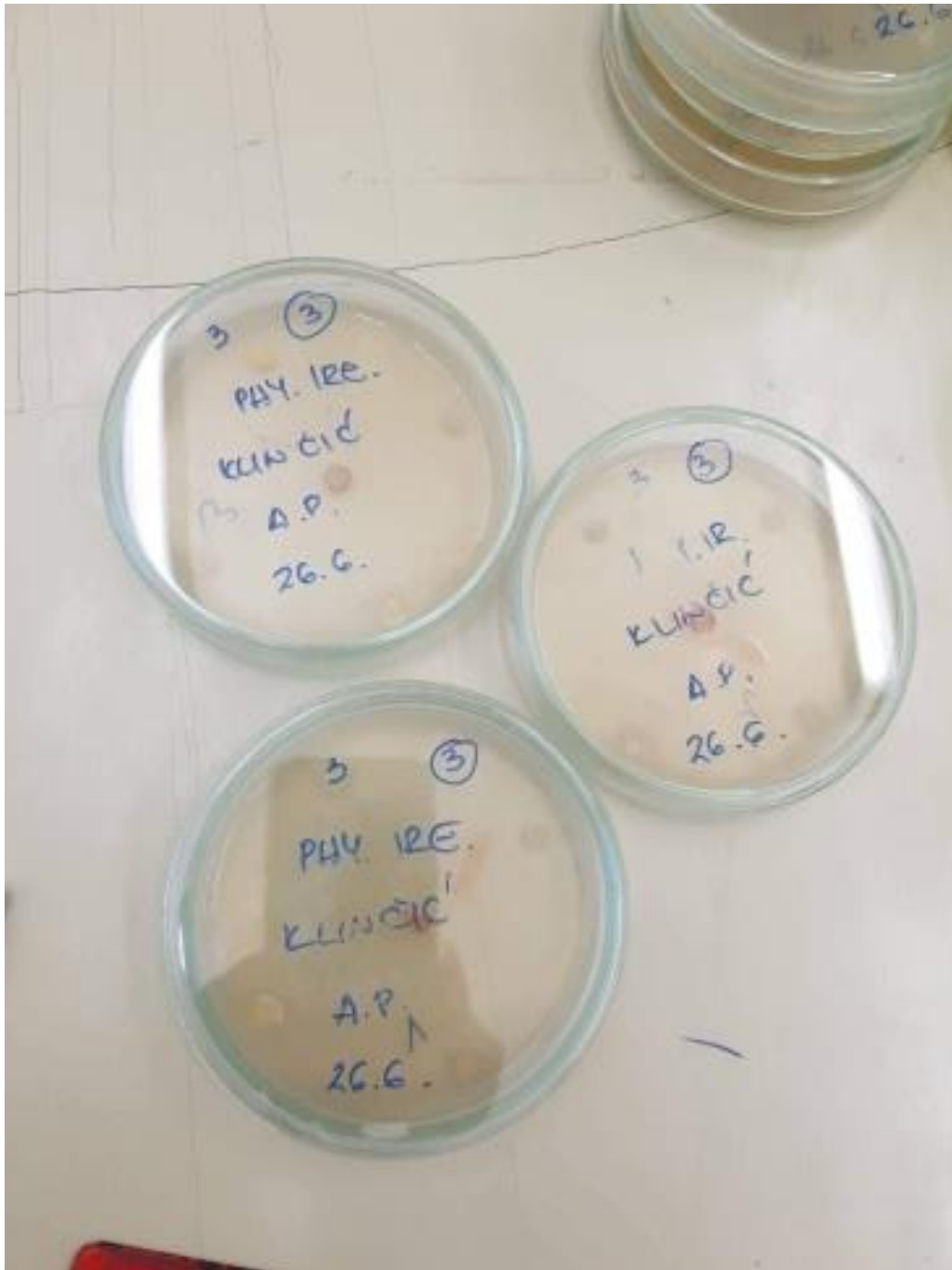
Na gljivu *Pythium irregulare* eterična ulja citronele javanske, anisa, klinčića i cimet kore nakon 4 dana su imali statistički vrlo značajan antifungalni utjecaj u odnosu na kontrolu. Nakon 8 dana micelij gljive je potpuno prerastao zdjelice u svim varijantama pokusa izuzev kod primjene ulja klinčića koje je i dalje statistički vrlo značajno inhibiralo porast gljive. Prethodno navedena ulja i ulje lavande su imala statistički vrlo značajno inhibitorsko djelovanje na porast gljive *Pythium ultimum* nakon 4 dana u odnosu na kontrolu. Osmog dana od nacjepljivanja statistički vrlo značajno inhibitorsko djelovanje na porast micelija u odnosu na kontrolu imaju samo eterična ulja citronele javanske, cimeta i klinčića (Tablica 1). Najznačajnije inhibitorsko djelovanje na obje gljive imalo je eterično ulje klinčića (slika 9).

Tablica 1. Utjecaj eteričnih ulja (5 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

	<i>Pythium irregulare</i>		<i>Pythium ultimum</i>	
	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana
Čajevac	0	0	0	0
Eukaliptus	0	0	0	0
Čempres	0	0	0	0
Citronela jav.	1,30	0	1,85	1,85
Anis zvjezdasti	1,03	0	2,07	0,10
Cimet	1,43	0	1,72	1,64
Lavanda	0	0	1,98	0
Bor	0	0	0,22	0
Klinčić	1,67	1,5	1,83	1,57
Kontrola	0	0	0	0
LSD(0,05)	0,26	0,11	0,55	0,31
LSD (0,01)	0,39	0,15	0,75	0,43



Slika 8. Utjecaj eteričnog ulja bora na *Pythium irregulare*
(Izvor: Petrić, 2019.)



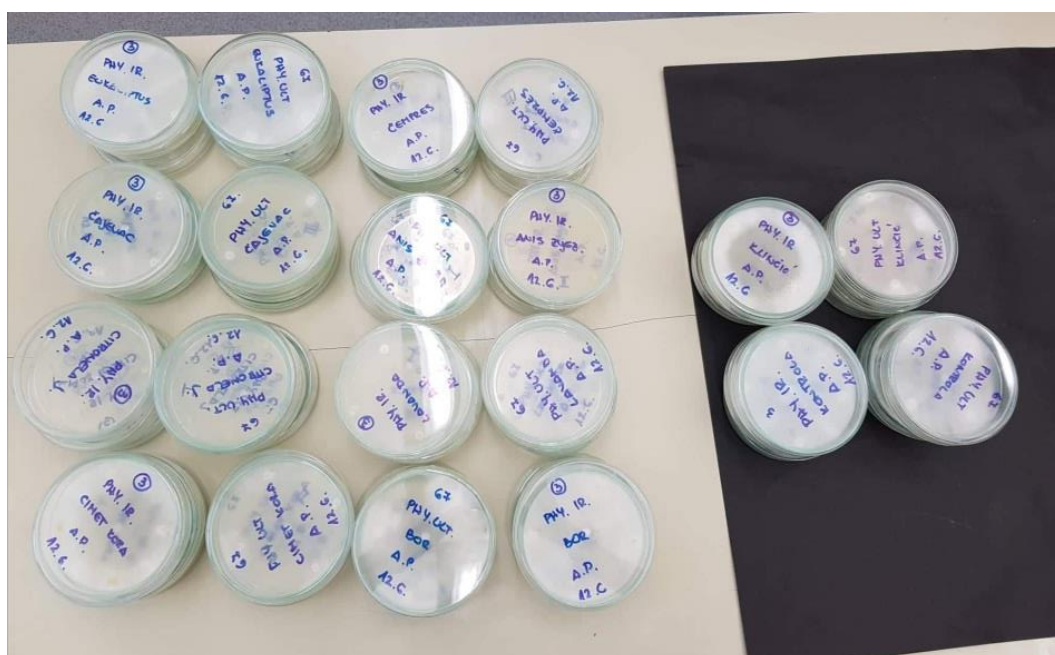
Slika 9. Utjecaj eteričnog ulja klinčića na *Pythium irregulare* (Izvor: Petrić, 2019.)

4.2. Utjecaj eteričnih ulja u količini 15 μ l

Nakon 4 dana od postavljanja pokusa inhibitorni učinak na rast micelija gljiva *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* (slika 10) imala su eterična ulja čajevca, citronele javanske, anisa zvjezdastog, cimeta, lavande i klinčića (Tablica 2.). Veća primjenjena količina ulja pokazuje i veći inhibitorni učinak. Osam dana od nacjepljivanja ulje cimeta statistički značajno, a ulja čajevca, citronele, anisa, lavande i klinčića statistički vrlo značajno inhibiraju porast *P. irregulare* u odnosu na kontrolu. Također, osmog dana od nacjepljivanja ulje čajevca statistički značajno, a ulja citronele, anisa, lavande, cimeta i klinčića statistički vrlo značajno inhibiraju porast *P. ultimum* u odnosu na kontrolu.

Tablica 2. Utjecaj eteričnih ulja (15 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

	<i>Pythium irregulare</i>		<i>Pythium ultimum</i>	
	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana
Čajevac	3,10	1,83	2,75	0,83
Eukaliptus	0	0	0	0
Čempres	0	0	0	0
Citronela jav.	2,50	2,30	3	3
Anis zvjezdasti	3	1,83	3,10	2
Cimet	1,67	1,50	2,09	1,83
Lavanda	3	2,40	2	1,80
Bor	0	0	0	0
Klinčić	2,10	1,80	3	2,80
Kontrola	0	0	0	0
LSD(0,05)	0,31	1,17	0,97	0,79
LSD (0,01)	0,43	1,60	1,32	1,08



Slika 10. Porast *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* pri primjeni 15 μ l eteričnih ulja (Izvor: Petrić, 2019.)

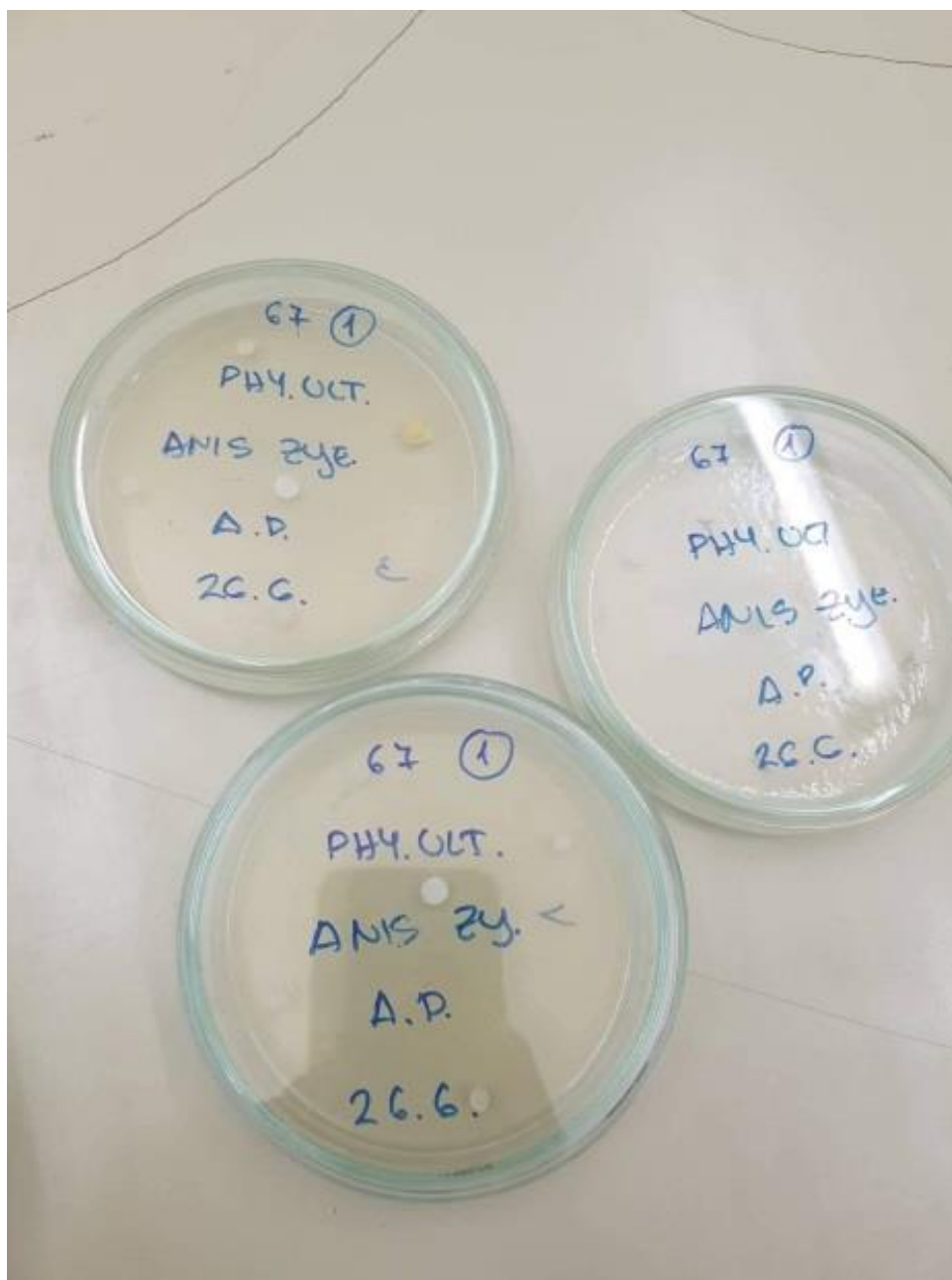
4.3. Utjecaj eteričnih ulja u količini 30 μ l

Pri primjeni eteričnih ulja u količini 30 μ l četiri dana od postavljanja pokusa ulje cimeta je statistički značajno, a ulja čajevca, eukaliptusa, citronele, anisa, lavande i klinčića statistički su vrlo značajno inhibirala rast *Pythium irregulare* u odnosu na kontrolu. Nakon osam dana od nacjepljivanja ulja čempresa i bora nisu inhibirala rast gljive dok su sva ostala ulja statistički značajno ili vrlo značajno inhibirala porast micelija ispitivane gljive (Tablica 3).

Eterična ulja čajevca, eukaliptusa, citronele javanske, anisa (slika 11), cimeta, lavande i klinčića su četiri i osam dana nakon postavljanja pokusa statistički vrlo značajno inhibirala rast *Pythium ultimum* (Tablica 3).

Tablica 3. Utjecaj eteričnih ulja (30 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

	<i>Pythium irregulare</i>		<i>Pythium ultimum</i>	
	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana	Nakon 4 dana	Nakon 8 dana
Čajevac	2,24	2,24	3,10	3,10
Eukaliptus	2,07	2,06	2,61	2,07
Čempres	0	0	0,50	0
Citronela jav.	3,10	3,10	3,10	3,10
Anis zvjezdasti	1,94	1,47	3,10	3,10
Cimet	1,76	1,50	2,58	2
Lavanda	2,38	1,87	3,10	2,73
Bor	0	0	0	0
Klinčić	2,34	1,34	2,90	2,58
Kontrola	0	0	0	0
LSD(0,05)	1,38	1,49	0,68	1,06
LSD (0,01)	1,88	2,03	0,93	1,44



Slika 11. Utjecaj eteričnog ulja anisa zvjezdastog na *Pythium ultimum*
(Izvor: Petrić, 2019.)

4.4. Utjecaj eteričnog ulja klinčića na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*

Eterično ulje klinčića pokazalo je najbolji učinak na supresiju rasta micelija obje istraživane gljive. Za obje gljive je utvrđeno da je najbolji učinak ostvaren primjenom ulja u količini 15 μ l iako je i pri primjeni ulja u količini 5 μ l i 30 μ l također utvrđen inhibitorni učinak.

Tablica 4. Utjecaj eteričnog ulja klinčića na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*

	<i>Pythium irregulare</i>			<i>Pythium ultimum</i>		
	5 μ l	15 μ l	30 μ l	5 μ l	15 μ l	30 μ l
Klinčić	1,50	1,80	1,34	1,57	2,80	2,58
LSD (0,05)	0,41			0,61		
LSD (0,01)	0,61			0,93		

5. RASPRAVA

Eterična ulja su hidrofobne i koncentrirane tekućine, dobivene su iz biljaka te sadrže nestabilne aromatične spojeve (Isman, 2000.). Postaju predmet sve većeg broja istraživanja zbog svojih bioloških osobina kao što su insekticidna, antifungalna i antibakterijska.

Na temelju provedenog istraživanja u Centralnom laboratoriju za fitomedicinu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek dokazali smo da različita ulja imaju različito djelovanje na rast gljiva *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* što je u skladu s rezultatima drugih istraživanja (Krauze-Baranowska i sur., 2002., Sukatta i sur., 2008., Verma i sur., 2011.). Iako u pravilu veća koncentracija ili količina primjenjenog eteričnog ulja znači i jače antifungalno djelovanje to ne mora nužno uvijek biti tako (Ćosić i sur., 2010.). Pri primjeni u količini 5 µl eterično ulje čajevca nije pokazalo inhibitorno djelovanje na gljive *Pythium ultimum* i *Pythium irregulare*. Povećanjem količine eteričnog ulja povećao se i supresivni učinak ovog eteričnog ulja. Pri najvećoj koncentraciji od 30 µl eterično ulje čajevca je pokazalo statistički vrlo značajno inhibitorno djelovanje na porast micelija obje gljive. S druge strane, eterično ulje klinčića je imalo najbolji učinak na obje gljive pri primjeni ulja u količini 15 µl. U istraživanju Ćosić i sur. (2010.) ulje klinčića je imalo jako inhibitorno djelovanje na rast devet od ukupno 12 istraživanih gljiva. Inhibitorni učinak ulja lavande također se pojačava s povećanjem primjenjene količine.

Eterična ulja čempresa i bora su pokazali najslabije djelovanje na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*. U svim primjenjenim količinama (5 µl, 15 µl i 30 µl) već nakon 4 dana od postavljanja pokusa micelij gljiva je prerastao Petrijevu zdjelicu. Naši rezultati u skladu su s rezultatim Ćosić i sur. (2010.) koji navode da ulje bora nije imalo inhibitorni učinak na osam od 12 istraživanih gljiva.

Na neke gljive eterična ulja djeluju vrlo slabo. Tako Ćosić i sur. (2010.) navode da na *Tanatephorus cucumeris* Don K. od 11 istraživanih ulja inhibitorno djeluje samo ulje anisa, a na *Fusarium graminearum* samo ulje timijana.

U našem istraživanju eterično ulje eukaliptusa je imalo značajan inhibitorni učinak na rast micelija samo u količini 30 µl dok je u ostalim primjenjenim količinama učinak bio vrlo slab ili ga nije bilo. Inhibitorni utjecaj eteričnih ulja timijana i eukaliptusa na šest patogenih gljiva *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gleosporoides*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana* istraživali su Nafiseh Katooli i

sur. (2012.). Na temelju njihovog istraživanja eterična ulja eukaliptusa i timijana su potpuno inhibirala rast gljive *Pythium ultimum*.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja fungistatičnog djelovanja eteričnih ulja čajevca, eukaliptusa, čempresa, citronele javanske, anisa zvjezdastoga, cimeta kore, lavande, bora i klinčića na porast micelija patogena *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* možemo zaključiti:

1. Veća koncentracija eteričnog ulja ne znači nužno i jače antifungalno djelovanje.
2. Jačina antifungalnog djelovanja ovisi o vrsti gljive i vrsti eteričnog ulja.
2. Najslabije antifungalno djelovanje na porast micelija obje gljive imala su eterična ulja bora i čempresa.
3. Najjače antifungalno djelovanje na porast micelija obje gljive imalo je eterično ulje klinčića.

7. POPIS LITERATURE

1. Al-Reza, M., Rahman, A., Ahmed, Y., Kang, S. (2010.): Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum octurum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology, 96: 86-92.
2. Al-Taisan, W., Elgorban, A., Bahkali, A., El-Metwally, M. (2014.): Effective Influence of Essential Oils and Microelements against *Sclerotinia sclerotiorum*. International Journal of Pharmacology, 10(5): 275-281.
3. Barrera-Necha, L.L., Garduno –Pizana, C., Garcia-Barera, L.J. (2009.): In vitro Antifungal Activity of Essential Oils and Their Compounds on Mycelial Growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli*, Plant Pathology Journal, 8(1): 17-21.
4. Čabarkapa, I., Škrinjar, M., Nemet, N., Milovanović, I. (2011.): Effect of Origanum Heracleotium L. Essential Oil on Food-Borne *Penicillium Aurantiogriseum* and *Penicillium Chrysogenum* Isolates. Proc..Nat:120: 81-91.
5. Ćosić, J., Vrandečić, K., Poštić, J., Jurković, D., Ravlić, M. (2010.): In vitro antifungal activity of essential oils on fungal growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda, 16(2): 25-28.
6. Dianež, F., Parra, C., Santos, M., Navarro, M.J. (2018.): Screening of antifungal activity of twelve essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom. Letters in applied microbiology, 67(4): 400-410.
7. Grgić, S., Ćosić, J., Rebekić, A., Vrandečić, K. (2016.): Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija *Botrytis cinerea*. Poljoprivreda, 22(2): 29-33.
8. 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.
9. Isman, M., B. (2000): Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.
10. Jurković, D., Ćosić, J., Vrandečić, K. (2016.): Pseudogljive i gljive ratarskih kultura. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
11. Katooli, N., Maghsoldo, R., Honari, H., Razavi, S. (2012.): Fungistatic activity of Essential oil of Thyme and Eucalyptus against of Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. Global Journal of Medicinal Plant Research, 1(1): 1-4.

12. 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.
13. Krauze-Baranowska, M., Mardarowicz, M., Wiwart, M., Pobłocka, L., Dynowska, M. (2002.): Antifungal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus *Pinus*. *Z. Naturforsch.*, 57: 478-482.
14. Lee, S.E., Kim, J.E., Lee, H.S. (2001.): Insecticide resistance in creasing interest. *Agri. Chem. Biotechnol.*, 44: 105-112.
15. Ma, B., Bana, X., Zenga, H., Jun, T., Chena, Y. (2016.): Antifungal activity of *Ziziphora clinopodioides* Lam. essential oil against *Sclerotinia sclerotiorum* on rapeseed plants (*Brassica campestris* L.). *Crop Protection Volume*, 89: 289-295.
16. Maruzzella J., Chiaramonte J., Garofalo M. (1961.): Effect of Vapors of Aromatic Chemicals on fungi. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(8): 665-668.
17. Pineda, R., Vizcaino, S., Garcia, C., Gill, J., Durango, D. (2018.): Antifungal activity of extracts, essential oil and constituents from *Petroselinum crispum* against *Colletotrichum acutatum*. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellin*, 71(3): 8563-8572.
18. Singh, G., Maurya, S. (2005.): Antimicrobial, antifungal and insecticidal investigations on essential oils. *Natural Product Radiance*, 179-192.
19. Sitara, U., Niaz, I., Naseem, J., Sultana, N. (2008.): Antifungal effect of essential oils in vitro growth of pathogenic fungi. *Pak. J. Bot.*, 40(1): 409-414.
20. 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.
21. Sukatta, U., Haruthaithanasan, V., Chantaraonot, W., Dilokkunanat, W., Suppakul, P., (2008.): Antifungal Activity of Clove and Cinnamon Oil and their Synergistic Against Postharvest Decay fungi of Grape *in vitro*. *Nat. Sci.*, 42: 169-174.
22. 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.
23. Verma, R.K., Chaurasia, M., Kumar, M. (2011.): Antifungal activity of essential oils against selected building fungi. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(4): 448-451.

24. 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.
25. Znaor, D. (1996): *Ekološka poljoprivreda*. Nakladni zavod Globus.

8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj devet eteričnih ulja (čajevac, eukaliptus, čempres, citronela javanska, anis zvjezdasti, cimet kora, lavanda, bora, klinčić) na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*. Ulja su primjenjena u količinama 5 μ l, 15 μ l i 30 μ l.

Statistički najznačajniji negativni utjecaj na porast micelija *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* imalo je eterično ulje klinčića dok je naslabiji učinak utvrđen za ulja bora i čempresa.

Ključne riječi: eterično ulje, rast micelija, inhibicijski utjecaj

9.SUMMARY

The aim of this study was to determine the effect of 9 essential oils (tea tree, eucalyptus, cypress, javanese citronella, star anise, cinnamon bark, lavender, pine, clove) on the fungi *Pythium irregulare* and *Pythium ultimum*. Different concentrations of essential oils 5 µl, 15 µl and 30 µl were applied.

The statistically most significant inhibitory effect on the growth of mycelium had clove essential oils while the weakest effect was found for pine and cypress oils.

Key words: essential oil, mycelium growth, inhibitory effect

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Utjecaj eteričnih ulja (5 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

Tablica 2. Utjecaj eteričnih ulja (15 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

Tablica 3. Utjecaj eteričnih ulja (30 μ l) na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* izražen kao zona inhibicije (cm)

Tablica 4. Utjecaj eteričnog ulja klinčića na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Eterično ulje lavande , Kemig (Izvor: www.kosarica.hr)

Slika 2. *Pythium spp.* na dinji (Izvor : www.ipmimages.org)

Slika 3. Krumpir dekstrozni i tehnički agar (Izvor: Petrić ,2019.)

Slika 4. Termostat komora (Izvor: Petrić,2019.)

Slika 5. Precjepljivanje gljiva (Izvor: Petrić, 2019.)

Slika 6. Pipetiranje eteričnog ulja na podlogu (Izvor : Petrić, 2019.)

Slika 7. Petrijeve zdjelice u termostat komori (Izvor: Petrić, 2019.)

Slika 8. Utjecaj eteričnog ulja bora na *Pythium irregulare* (Izvor: Petrić, 2019.)

Slika 9. Utjecaj eteričnog ulja klinčić na *Pythium irregulare* (Izvor: Petrić, 2019.)

Slika 10. Porast *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* pri primjeni 15 µl eteričnih ulja (Izvor: Petrić, 2019.)

Slika 11. Utjecaj eteričnog ulja anisa zvjezdastog na *Pythium ultimum* (Izvor: Petrić, 2019.)

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Sveučilišni diplomski studij, smjer Zaštita bilja

Diplomski rad

Fungistatično djelovanje eteričnih ulja na *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*

Antonia Petrić

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj devet eteričnih ulja (čajevac, eukaliptus, čempres, citronela javanska, anis zvjezdasti, cimet kora, lavanda, bora, klinčić) na gljive *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum*. Ulja su primjenjena u količinama 5 μ l, 15 μ l i 30 μ l. Statistički najznačajniji negativni utjecaj na porast micelija *Pythium irregulare* i *Pythium ultimum* imalo je eterično ulje klinčića dok je naslabiji učinak utvrđen za ulja bora i čempresa.

Rad je izrađen : Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: Jasenka Ćosić

Broj stranica: 32

Broj slika: 11

Broj tablica : 4

Broj literaturnih navoda: 25

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: eterično ulje, porast micelija, inhibitorno djelovanje

Datum obrane: 25.9.2020.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić , predsjednik
2. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof. dr. sc. Renata Baličević, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera Osijek, Vladimira Preloga 1

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences
Graduate studies, Course Plant protection

Graduate Thesis

Fungistatic activity of essential oils to *Pythium irregulare* and *Pythium ultimum*

Antonia Petrić

Summary:

The aim of this study was to determine the effect of 9 essential oils (tea tree, eucalyptus, cypress, javanese citronella, star anise, cinnamon bark, lavender, pine, clove) on the fungi *Pythium irregulare* and *Pythium ultimum*. Different concentrations of essential oils 5 µl, 15 µl and 30 µl were applied. The statistically most significant inhibitory effect on the growth of mycelium had clove essential oils while the weakest effect was found for pine and cypress oils.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: Jasenka Ćosić

Number of pages: 32

Number of figures: 11

Number of tables: 4

Number of refereces: 25

Number of attachemets: 0

Original in : Croatian

Key words: essential oil, mycelium growth, inhibitory effect

Thesis defended on date :25.9.2020.

Reviewers:

1. prof .dr. sc.Karolina Vrandečić, president
2. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof. dr. sc. Renata Baličević, member

Thesis deposited at : Library, Faculty of biotechnical science in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1