Usporedba volatilnog i kontaktnog djelovanja eteričnih ulja na porast gljive Fusarium graminearum

Penić, Doris

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:299593

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-09**

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

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Doris Penić
Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

USPOREDBA VOLATILNOG I KONTAKTNOG DJELOVANJA ETERIČNIH ULJA NA PORAST GLJIVE *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Diplomski rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Doris Penić
Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

USPOREDBA VOLATILNOG I KONTAKTNOG DJELOVANJA ETERIČNIH ULJA NA PORAST GLJIVE *FUSARIUM GRAMINEAERUM*

Diplomski rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Doris Penić
Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

USPOREDBA VOLATILNOG I KONTAKTNOG DJELOVANJA ETERIČNIH ULJA NA PORAST GLJIVE *FUSARIUM GRAMINEARUM*

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, 2022.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 3
3. MATERIJALI I METODE 8
3.1. Priprema hranjive podloge 9
3.2. Postavljanje pokusa – volatilni način 11
3.3. Postavljanje pokusa – kontaktni način 13
4. REZULTATI 16
4.1. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 48 sati 16
4.2. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 120 sati 20
4.3. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 168 sati 23
5. RASPRAVA 26
6. ZAKLJUČAK 28
7. POPIS LITERATURE 29
8. SAŽETAK 34
9. SUMMARY 35
TEMELJNA DOKUMENTACIJA KARTICA 36
BASIC DOCUMENTATION CARD 37

1. UVOD

Rod *Fusarium* pripada u pododjel *Ascomycota,* red *Hypochreales*, porodica *Nectriaceae*, a opisao ga je F. Link 1809. godine. *Fusarium* vrste mogu uzrokovati različite vrste bolesti, uključujući traheofuzarioze, trulež stabljike i korijena, palež klijanaca, a neke vrste mogu uzrokovati višestruke i preklapajuće simptome bolesti, ovisno o domaćinu i okolišu (Brown i sur, 2013.).

Fusarium graminearum Schw. je gljivični biljni patogen koji je najpoznatiji kao uzročnik fuzarijske paleži klasova (FHB), izrazito destruktivne bolesti pšenice, ječma i drugih strnih žita. Istraživanja o biologiji *Fusarium graminearum* usmjerena su na stjecanje uvida u detalje o procesu infekcije i otkrivanju slabih točaka u životnom ciklusu ovog patogena za razvoj fungicida koji mogu zaštiti pšenicu od zaraze (Bai i sur., 2004.). Na području Republike Hrvatske dominantni uzročnik fuzarijske paleži klasova pšenice je vrsta *Fusarium graminearum*, a zaraza ovom gljivom može imati vrlo negativne posljedice na prinos i kvalitetu pšenice (Ćosić i sur., 2004.).

Simptomi se očituju u obliku naboranih, svijetlih i malih zrna pšenice. Zrna mogu biti prekrivena bijelom ili ružičastom prevlakom, a na stražnjoj strani zrna mogu se uočiti ovalne mrlje s prozirnom sredinom i smeđim rubovima. Kada u vrijeme cvjetanja temperature budu više od 22°C te relativna vlažnost zraka veća od 85%, tada nastaju najveće štete. Koncentracija betaina i kolina koje proizvodi pšenica, povećava se pod utjecajem parazita i stimulira razvoj micelija gljive na cvjetovima pšenice. Zaraženi mogu biti pojedini klasići, dio klasa ili cijeli klas. Simptomi se uočavaju u mliječnoj zriobi. Bolesni dijelovi klasa poprimaju slamnato žutu boju te su uspravni, a na bazi klasića uočavaju se narančaste ili ružičaste sporodohije. Posljedica zaraze parazitom *Fusarium graminearum* je smanjenje broja i težine zrna, razgradnja granula škroba, uskladištenog proteina i staničnih stijenki (Ćosić i sur., 2013.).

Sve veći broj istraživanja navodi kako je integrirana zaštita bilja od izuzetne važnostiza uspješniju borbu protiv fuzarijske paleži klasova. Zaštita uzgajanih domaćina od ovog patogena najviše se svodi na provođenje agrotehničkih mjera poput plodoreda te posebice zaoravanja žetvenih ostataka što može utjecati na smanjenje zaraze zrna i smanjenu kontaminaciju mikotoksinima (Vrandečić i sur., 2019.). Vlažnost pogoduje razvoju bolesti. Stoga, manja gustoća sklopa, odnosno manji broj biljaka na jedinici površine, smanjuje vlažnost pa tako i zarazu (Ćosić i sur., 2006.).

Česta upotreba kemijskih fungicida može dovesti do rezistentnosti gljiva na aktivne tvari u njima, što vremenom dovodi do gubitka učinkovitosti fungicida. Također, povećana uporaba fungicida može izazvati akumulaciju rezidua fungicida u hrani iznad dopuštene propisane količine (El-Nahhal, 2004.). U današnje vrijeme sve je više izbjegava uporaba kemijskih fungicida. Eterična ulja potencijalno omogućuju drugačiji pristup zaštiti biljaka od uzročnika bolesti. Eterična ulja su hlapivi, prirodni, složeni spojevi intenzivnog mirisa koji se dobivaju iz biljaka, a imaju antifungalno, antivirusno i antibakterijsko djelovanje (Bakkali i sur., 2008.). Inhibitorni učinak eteričnih ulja ovisi o sastavu ulja, primjenjenim količinama, načinu primjene, okolišnim uvjetima i zemljopisnom podrijetlu biljaka iz kojih se dobiva ulje te o vrsti na koju ulje djeluje. Mehanizam njihovog djelovanja uglavnom se temelji na uništavanju strukture staničnih membrana, blokiranju izgradnje membrane, inhibiciji disanja stanica, rasta micelija i klijanja spora (Harris, 2002.).

Cilj ovog rada je utvrditi razlike u antifungalnom djelovanju eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* pri volatilnom i kontaktnom djelovanju.

2. PREGLED LITERATURE

Fuzarijsku palež klasova, koju uzrokuje *Fusarium graminearum* Schw., smatra se jednom od najopasnijih gljivičnih bolesti u proizvodnji pšenice. Bolest utječe na kakvoću zrna jer gljiva proizvodi mikotoksine koji imaju štetan utjecaj na zdravlje ljudi i životinja. Također, značajno se smanjuje prinos zrna pšenice (i preko 80 %) (Tomasović i sur., 2008.).

Posljednjih godina, glavna tema znanstvenika bila je veliki ekološki problem koji je uzrokovan prekomjernom upotrebom fungicida. Fungicidi smanjuju bioraznolikost flore i faune, a njihove rezidue se akumuliraju i ostaju prisutne u svim dijelovima agroekosustava te predstavljaju ozbiljan rizik za ljude. Sigurnost hrane i zaštita okoliša doveli su do potrebe za stvaranjem novih i sigurnih metoda za kontrolu biljnih bolesti. Prirodni proizvodi postaju sve više korištena alternativa fungicidima. Procjenjuje se da eterična ulja ekstrahirana iz biljaka imaju antifungalno djelovanje te visok potencijal primjene kao prirodni fungicidi i da su dobra alternativa sintetičkim fungicidima (Badea i sur., 2014.).

Tijekom posljednja dva desetljeća, zanimanje za tradicionalnu medicinu i biljne lijekove, iznimno se povećalo u razvijenim zemljama. Globalna i nacionalna tržišta ljekovitog bilja u značajnom su porastu i ostvaruju se veliki gospodarski dobici. Sigurnost i kvaliteta biljnog materijala i gotovih proizvoda ovise o više čimbenika, a oni se moguklasificirati u dvije skupine, odnosno kao intrizični (genetski) ili ekstrizični (na primjer, okoliš, uzgoj, žetva, obrada nakon žetve, transport i skladištenje). Do pogoršanja kvalitete i sigurnosti može dovesti nenamjerna kontaminacija mikrobnim i kemijskim čimbenicima (Essono i sur., 2007.).

Budući da su gljive sklone stvaranju rezistentnosti te činjenica da većina dostupnih fungicida ima samo fungistatično djelovanje, traženje novih i prirodnih metoda zaštite biljaka od velike je važnosti. U proteklih nekoliko godina, zbog zabrinutosti oko sigurnosti, posebno zanimanje bilo je usmjereno na moguću primjenu eteričnih ulja kao alternativnih mjera zaštite. Ona imaju širok spektar antifungalnih svojstava i ekološki su prihvatljiva, biorazgardiva su, ne ostavljaju toksične ostatke te neonečišćuju okoliš (Abdel-Kader i sur., 2011.)

Eterična ulja u svom sastavu sadrže velik broj hlapljivih tvari (ponekada i više od 100) i molekula koje posjeduju različite biološke aktivnosti. Eterično ulje se može dobiti iz svih aromatičnih biljnih dijelova ovisno o vrsti, primjerice, iz cvjetova, pupoljaka, listova, plodova, sjemenki, korijenja, rizoma, drvenastih dijelova i kore, a obično se dobiva procesom destilacije. Zajedničko svojstvo velikom broju eteričnih ulja je to da utječu na propusnost ili funkcioniranje membrane, što često dovodi do smrti stanica u gljivama ili bakterijama. Budući da imaju antimikrobno, antioksidativno i protuupalno djelovanje danas se brojna eterična ulja široko koriste u tradicionalnoj medicini, kozmetici i prehrambenoj industriji. Primjerice, eterično ulje korijandera pokazalo je dobro antifungalno djelovanje protiv gljive *Candida albicanas*, tako što se vezao na membranski ergosterol te na taj način povećao propusnost membrane (Raveau, 2020.). Velik broj istraživanja pokazuje da eterična ulja negativno djeluju i na fitopatogene gljive, ali je primjena u poljoprivredi i dalje vrlo rijetka.

Katooli i sur. (2012.) proveli su istraživanje antifungalnog djelovanja eteričnih ulja timijana i eukaliptusa na porast micelija gljiva *Penicillium digitatum, Aspergillus flavus, Colletotrichum gloeosporioides, Pythium ultimum, Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana*. Primjenjivali su eterična ulja u koncentracijama 25, 50, 75 i 100% na PDA podlozi pri 25°C. Oba eterična ulja pokazala su dobro inhibirano djelovanje na istraživane gljive. Eterično ulje timijana pokazalo je bolju fungistatičnost te je pri koncentraciji od 50, 75 i 100% izazvalo potpunu inhibiciju rasta micelija.

U istraživanju Perczak i sur. (2019.) ispitana je antifungalna aktivnost osam eteričnih ulja na gljive *Fusarium culmorum* i *Fusarium graminearum*. Pokazalo se da su ulja s najjačim antifungalnim djelovanjem ulje cimeta, origana i palmarose. S druge strane, eterična ulja komorača, metvice, ružinog drveta i naranče imala su međusobno podjednaku, ali u odnosu na prethodno navedena ulja značajno slabije antifungalno djelovanje. *Fusarium graminearum* imao je veću osjetljivost na veći broj eteričnih ulja (metvica, ružino drvo, naranča i palmarosa), dok su ostala ulja pokazala istu aktivnost protiv obje testirane gljive. Ulje verbene imalo je jače inhibiralo rast gljive *Fusarium culmorum* u odnosu na *Fusarium graminearum*. Rezultati koje su autori dobili provedenim istraživanjem ukazuju na mogućnost primjene eteričnih ulja kao alternativni način suzbijanja *Fusarium* vrsta, primjerice tretiranjem sjemena za sjetvu što doprinosi povećanju otpornosti biljaka na *Fusarium* vrste.

Antifungalno djelovanje sedam eteričnih ulja ispitano je na gljivama *Fusarium proliferatum* i *Fusarium verticillioides*. Rezultati su pokazali da su eterična ulja mente, timijana i kopra imala najjači negativni učinak na porast gljiva (Kumar i sur., 2016.).

Eterično ulje timijana pokazalo je značajno inhibitorno djelovanje na gljive *Penicillium italicum* i *Penicillium digitatum* (Vitoratos i sur., 2013.). U koncentraciji od 0,13 µL/mL rast micelija gljive *Penicillium italicum* u potpunosti je zaustavljen. Eterično ulje timijana sadrži p-cimen (36,5%), timol (33%) i 1,8-cineol (11,3%). Autori također navode da su eterična ulja origana i limuna značajno inhibirala rast micelija gljive *Botrytis cinerea*.

U istraživanju koje su proveli Palfi i sur. (2018.) potpunu inhibiciju rasta micelija gljive *Colletotrichum coccodes* nakon osam dana od inokulacije pokazuju eterična ulja anisa, lavande, paprene metvice, bosiljka i komponenta anetol u najvećim primijenjenim količinama. U istraživanju je utvrđeno da djelovanje prethodno navedenih ulja ima bolje djelovanje od komercijalnih fungicida Dithane M45 i Ortiva Top. U usporedbi između dvije glavne komponente ulja anisa, anetol i estragol, bolje antifungalno djelovanje imao je anetol.

Godinu dana nakon, Palfi i sur. (2019.) istražili su antifungalni učinak eteričnih ulja na porast micelija gljiva *Botrytis cinerea* i *Fusarium oxysporum*. Četiri dana nakon postavljanja pokusa, kod gljive *Fusarium oxysporum* sva primijenjena eterična ulja pokazala su najslabije rezultate na količini od 3µL/10mL, dok su najbolje inhibirali rast micelija na količini od 70µL/10mL. Potpuna inhibicija micelija gljive Fusarium oxysporum dogodila se kod djelovanja eteričnog ulja timijana, a pratila su ga i eterična ulja klinčića, komorača, mente i anisa s, također, jakim antifungalnim djelovanjem. Eterična ulja ružmarina, limuna i eukaliptusa nisu u potpunosti inhibirala porast micelija čak ni korištenjem još veće količine. Rezultati pokazuju da su nakon četiri dana eterična ulja timijana, klinčića, komorača, anisa, mente, čajevca, lavande, kadulje i bosiljka korišteni u određenim količinama imali isti efekt kao fungicid Prosaro 250 EC koji je primjenjen u kontrolnoj varijanti gdje je potpuno inhibiran rast gljiva. Nadalje, uočena je potpuna inhibicija rasta micelija gljive *Botrytis cinerea* pri djelovanju eteričnog ulja timijana na količini 15 µL/10 mL, paprene metvice na 50 µL/10 mL te bosiljka i komorača na 70 µL/10 mL nakon osam dana. Navedena eterična ulja imala su bolji inhibitorni učinak na

smanjenje rasta gljive *Botrytis cinerea* u odnosu na kontrolnu varijantu gdje je korišten fungicid Switch 62.5 WG.

U provedenom istraživanju Strelkova i sur. (2021.) pri koncetraciji od 125 µL/L, sva primijenjena eterična ulja, osim ulja čajevca, uspješno su inhibirala rast micelija gljiva *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. i *Penicillium ochrochloron*. Koristeći najnižu koncentraciju od 65 µL/L sva eterična ulja pokazala su određeni antifungalni učinak, dok eterično ulje čajevca nije negativno djelovalo na rast micelija ispitivanih gljiva te nije dalje korišteno u pokusu. Od svih eteričnih ulja, najbolji učinak na gljive *Aspergillus niger* i *Aspergillus flavus* imalo je eterično ulje timijana, a zatim eterično ulje origana. Nakon devet dana nije bilo statistički značajne razlike u djelovanju između tretmana s uljem klinčića, limunske trave i origana. Kod tretmana timijanom na gljive *Fusarium sporotrichioides* i *Fusarium solani* porast micelija nije utvrđen niti nakon 17 dana inkubacije. Eterično ulje limunske trave pokazalo je slabo antifungalno djelovanje sa sličnim djelovanjima protiv obje *Fusarium* vrste i *Aspergillus niger*.

Dhaouadi i sur. (2018.) ispitivali su antifungalni učinak različitih eteričnih ulja na porast micelija gljiva *Fusarium oxysporum* i *Fusarium solani*. Eterična ulja mažurana i lavande značajno su inhibirala porast micelija obje gljive u odnosu na kontrolnu uljima netretiranu varijantu, dok je mažuran imao bolji utjecaj u odnosu na lavandu. Oba ulja bolje su inhibirala rast *Fusarium oxysporum*. Postotak inhibicije kod mažurana za *Fusarium oxysporum* bio je između 49,95 i 85,71%. Obje gljivice bile su izuzetno osjetljive na ulje lavande gdje je *Fusarium oxysporum* inhibiran za 50 do 90%, a *Fusarium solani* za 35 do 85%.

Tzortzakis i sur. (2007.) u svom istraživanju su koristili eterično ulje limunske trave. U odnosu na kontrolu porast micelija *Cladosporium herbarum* bio je do 18% pri 100 ppm, *Botrytis cinerea* do 33% pri 100 ppm te *Rhizopus stolonifer* do 16% pri 25 ppm. Kada je primjenjena najveća količina od 500 ppm, inhibicija je bila gotovo potpuna kod svih gljivičnih vrsta. Količina od 500 ppm imala je fungistatičan učinak za *Colletotrichum coccodes, Cladosporium herbarum, Rhizopus stolonifer* i *Aspergillus niger* nakon deset dana od inokulacije, a kod *Botrytis cinerea* nakon osam dana.

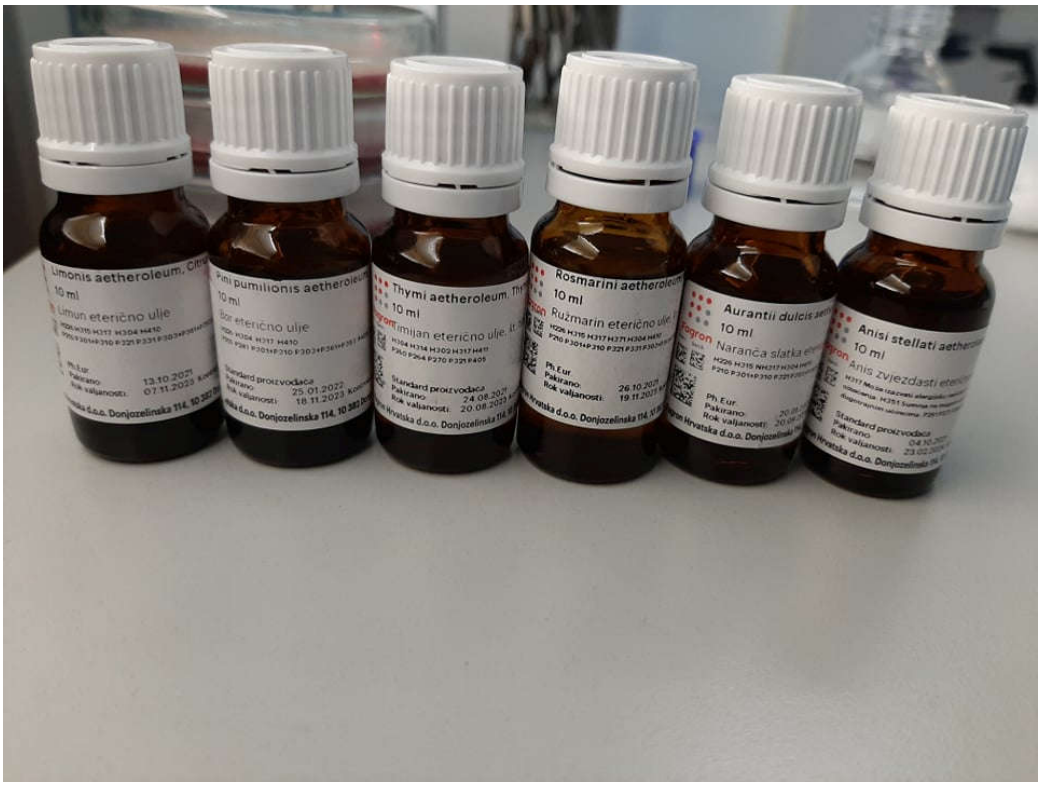
Siripornvisal i sur. (2009.) testirali su četiri eterična ulja. Budući da su eterična ulja klinčića, cimeta i limunske trave potpuno prekinula rast micelija gljive *Botytis cinerea* na količini od 15 µL autori zaključuju da imaju jak inhibicijski učinak. Isto tako, u istraživanju je utvrđeno da eterična ulja limunske trave i klinčića imaju najznačajnije antifungalno djelovanje na gljivu *Botrytis cinerea* gdje je micelij imao minimalan rast pri 10 µL i 5 µL.

.

3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje volatilnog i kontaktnog djelovanja šest vrsta eteričnih ulja na porast gljiive *Fusarium graminearum* provedeno je u Centralnoj agrobiotehničkoj analitičkoj jedinici na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. Za istraživanje je korišteno šest različitih vrsta eteričnih ulja proizvođača Kemig d.o.o., Hrvatska (slika 1.):

- *Citrus limon* –limun
- *Pynus silvestris*–bor
- *Thymus vulgaris* –timijan
- *Rosmarinus officinalis* –ružmarin
- *Citrus sinensis* –naranča slatka
- *Illicum verum* –anis zvjezdasti



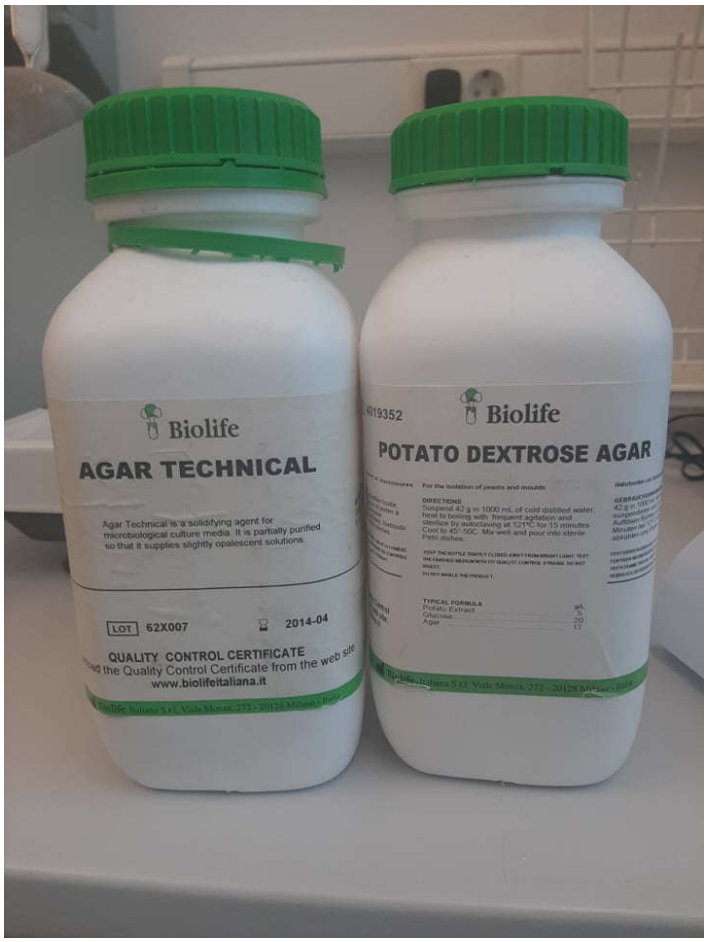
Slika 1. Korištena eterična ulja

Izvor: Penić, D., 2022.

3.1. Priprema hranjive podloge

Na početku samog postupka pripreme hranjive podloge potrebno je sterilizirati Petrijeve zdjelice u autoklavu. Autoklav je naprava za zagrijavanje tvari pod tlakom na temperaturu višu od njihova vrelišta. Sastoji se od cilindrične metalne posude čvrstih stijenki, koja se hermetički zatvara, a povezana je s tlakomjerom, termometrom i uređajem za zagrijavanje. Služi za izvođenje kemijskih reakcija i za sterilizaciju različitih materijala vodenom parom. Petrijeve zdjelice ne smiju se otvarati sve do sipanja hranjive podloge kako bi ostale sterilizirane.

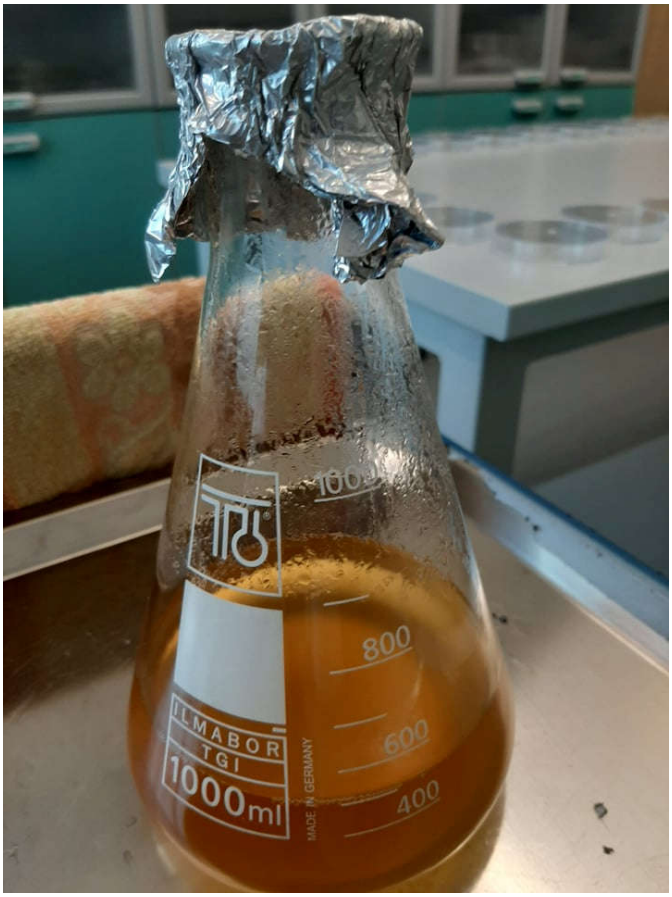
Nakon steriliziranja Petrijevih zdjelica, počinje postupak izrade hranjive podloge. U dvije odmjerne tikvice doda se 500 mL destilirane vode. Na digitalnoj vagi odvaže se 21 g krumpir dekstroznog agara i 1,40 g tehničkog agara (slika 2.).



Slika 2. Sastojci za izradu hranjive podloge

Izvor: Penić, D., 2022.

Odvagani sastojci dodaju se u odmjerne tikvice s destiliranom vodom te se zatim stavljaju u autoklav na autoklaviranje 20 minuta na 120°C. Tikvice moraju biti zatvorene alu folijom (slika 3.). Kada se tikvice izvade iz autoklava potrebno je izmjeriti pH koji u našem slučaju treba biti 6-6,5. Važno je mjeriti temperaturu podloge te kada se temperatura spusti do oko 60°C može se staviti antibiotik. Odvaže se 0,25 g antibiotika na 500 mL destilirane vode. Petrijeve zdjelice poslože se uz rub stola i pune se jedna po jedna hranjivom podlogom u količini od 10 mL (slika 4. i 5.) . Kada se hranjiva podloga ohladi na stolu, stavlja se u hladnjak na čuvanje.



Slika 3. Odmjerna tikvica prije autoklaviranja

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 4. Punjenje Petrijevih zdjelica
Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 5. Napunjene Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom
Izvor: Penić, D., 2022.

3.2. Postavljanje pokusa – volatilni način

Postavljanje pokusa za volatilni učinak obavljalo se 23. veljače 2022. godine. Cijeli pokus postavljan je u laminaru. Prije početka, potrebno je površinu u laminaru dezinficirati etilnim alkoholom, kao i sav pribor koji će se koristiti. Prvi korak pri postavljanju pokusa je na svaku Petrijevu zdjelicu napisati datum, naziv gljive, naziv primjenjenog eteričnog ulja, primjenjenu količinu eteričnog ulja te broj ponavljanja. Zatim, na unutrašnju stranu poklopca Petrijeve zdjelice postavlja se okrugli filter papir promjera 7 mm (slika 6.). Na svaki kružni filter papir dodaje se određena količina eteričnog ulja. Čista kultura gljive *Fusarium graminearum* (stara 8 dana) buši se pomoću prethodno steriliziranog metalnog kružnog rezača uz rub Petrijeve zdjelice. Nakon toga, pomoću sterilizirane laboratorijske igle uzima se kružni isječak te se postavlja po jedan u sredinu svake Petrijeve zdjelice (slika 7.). Kada se svi isječci dodaju u svoju Petrijevu zdjelicu, slijedi aplikacija određene vrste i količine eteričnog ulja pomoću pipete (slika 8.). Primjenjeno je šest vrsta eteričnih ulja u tri različite količine (10, 30 i 50 µL), u tri ponavljanja. U kontrolnoj varijanti, umjesto eteričnog ulja, korištena je sterilna destilirana voda, također u tri ponavljanja.

Slika 6. Postavljanje filter papira na poklopac

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 7. Isječci čiste kulture *Fusarium graminearum*

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 8. Aplikacija eteričnog ulja pomoću pipete

Izvor: Penić, D., 2022.

3.3. Postavljanje pokusa – kontaktni način

Postavljanje pokusa za kontaktni učinak odvijalo se 09. ožujka 2022. godine. Kao i za volatilni, tako i za kontaktni učinak prvenstveno je bilo potrebno sve površine i pribor detaljno dezinficirati i sterilizirati etilnim alkoholom ili na plameniku. Također, i ovaj pokus se postavljao u laminaru (slika 9.).

Postupak je započeo umješavanjem određene vrste i količine eteričnog ulja u hranjivu podlogu (slika 10.). Nakon toga, na isti način kao i u prethodnom pokusu su postavljani isječci čiste kulture gljive *Fusarium graminearum*. Čista kultura gljive *Fusarium graminearum* bušena je prethodno steriliziranim metalnim bušačem uz sam rub te su se zatim ti isječci postavili u sredinu svake Petrijeve zdjelice (slika 11.). I u ovom slučaju je korišteno istih 6 vrsta ulja u tri količine (10, 30 i 50 µL) i tri ponavljanja te kontrolna varijanta s destiliranom vodom.

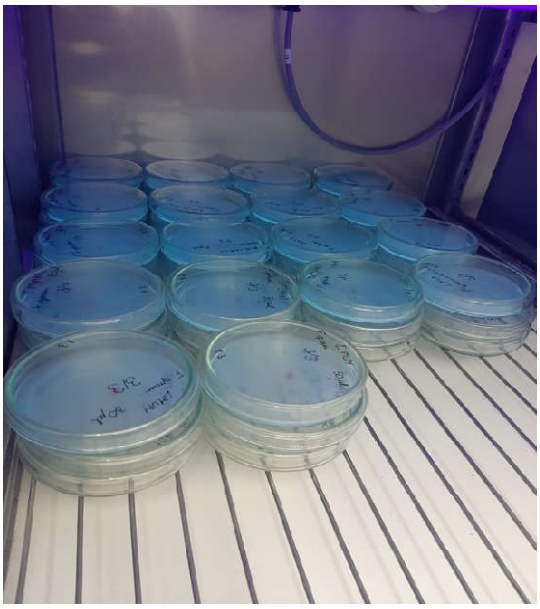
Slika 9. Rad u laminaru
Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 10. Umješavanje eteričnog ulja i hranjive podloge
Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 11. Postavljeni isječak čiste kulture gljive *Fusarium graminearum*
Izvor: Penić, D., 2022.

Sve Petrijeve zdjelice postavljene su u ARALAB klima komoru na temperaturu 22°C i svjetlosni režim 12 sati svjetlo/12 sati tama (slika 12.). Mjerenja su obavljena nakon 48 sati, 120 sati i 168 sati. Pomoću ravnala mjerio se promjer micelija u dva smjera te zatim izračunala srednja vrijednost.

Iz dobivenih podataka o rastu micelija izračunat će se postotak inhibicije rasta. Pri statističkoj obradi podataka koristit će se program SAS 9.2 (SAS Inst., SAD).



Slika 12. Petrijeve zdjelice u ARALAB klima komori

Izvor: Penić, D., 2022.

4. REZULTATI

Ovim istraživanjem bilo je potrebno u *in vitro* uvjetima ispitati kontaktno i volatilno djelovanje šest eteričnih ulja primjenjenih u tri količine na fitopatogenu gljivu *Fusarium graminearum*. Utvrdile su se razlike u porastu micelija gljive kod različitih vrsta eteričnih ulja, kao i razlike kod iste vrste eteričnog ulja, ali pri različitim količinama te razlike koje su nastale nakon određenog vremena od postavljanja tretmana.

4.1. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 48 sati

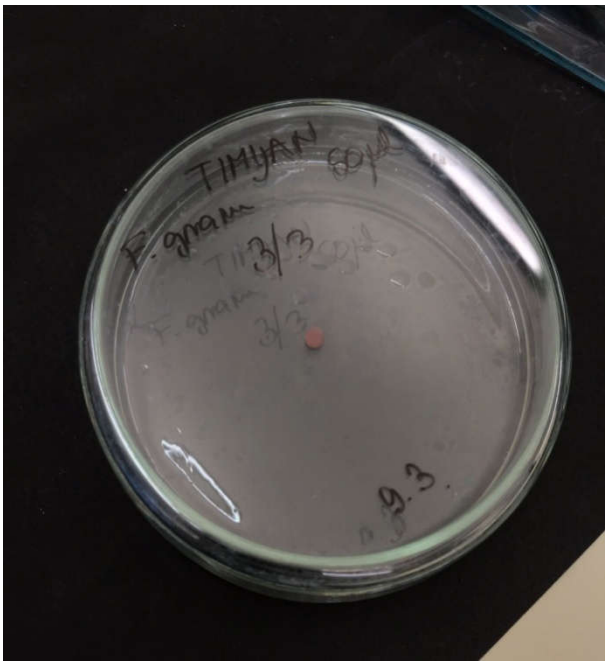
Učinak eteričnih ulja primjenjenih u različitim količinama na porast micelija gljive *Fusarium graminearum* pri volatilnom i kontaktnom djelovanju nakon 48 sati izražen kao postotak inhibicije rasta prikazan je u Tablici 1.

Tablica 1. Postotak inhibicije rasta za gljivu *Fusarium graminearum* nakon 48 sati (kontaktni i volatilni učinak)

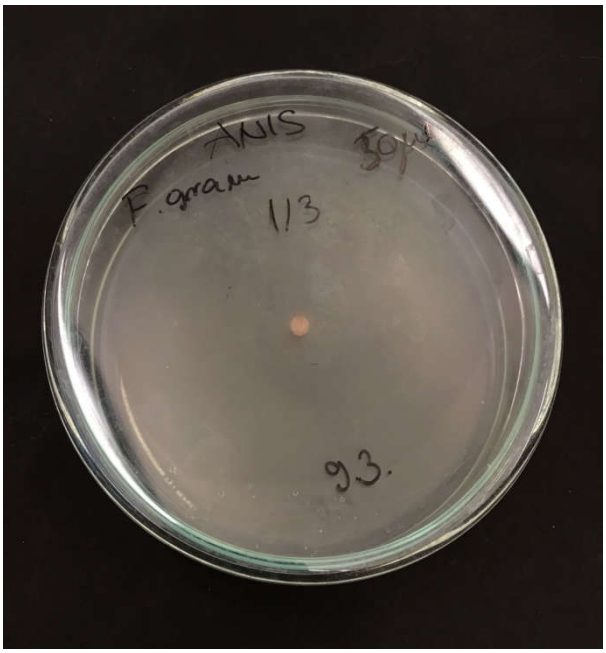
	Kontaktni učinak			**Volatilni učinak**			**LSD 0,05**
Ulje	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	
Limun	63,54± 1,45	67,72± 5,22	64,38± 9,05	-2,53± 5,22	15,04± 3,83	33,43± 2,90	9,23
Naranča	-0,02 ± 3,83	13,36± 11,31	14,20± 2,51	-17,58± 6,31	11,69± 6,64	25,07± 3,83	11,43
Bor	4,16± 4,35	16,71± 16,45	35,11± 10,14	-3,36±10,94	10,02± 7,66	30,92± 2,90	17,48
Ružmarin	-1,69± 2,90	14,20 ± 17,38	25,91± 7,66	17,54± 14,70	25,91± 14,70	44,31± 13,28	22,71
Timijan	62,70± 20,12	81,94± 0,00	81,94± 0,00	81,94± 0,00	81,94± 0,00	81,94± 0,00	14,61
Anis	81,94± 0,00	47,65± 30,96	81,94± 0,00	41,80± 9,05	73,57± 1,45	81,94± 0,00	23,45
Kontrola	-0,02± 5,22	-0,02± 5,22	-0,02± 5,22	-0,02± 5,22	-0,02± 5,22	-0,02± 5,22	
LSD 0,05	14,45	27,40	11,02	14,98	12,61	10,15	

Pri kontaktnom djelovanju najjače antifungalno djelovanje imala su eterična ulja anisa i timijana, a nakon njih slijedi eterično ulje timijana. Timijan je imao jače inhibitorno djelovanje pri količinama 30 i 50 µL u odnosu na 10µL (slika 13.), dok je anis jače

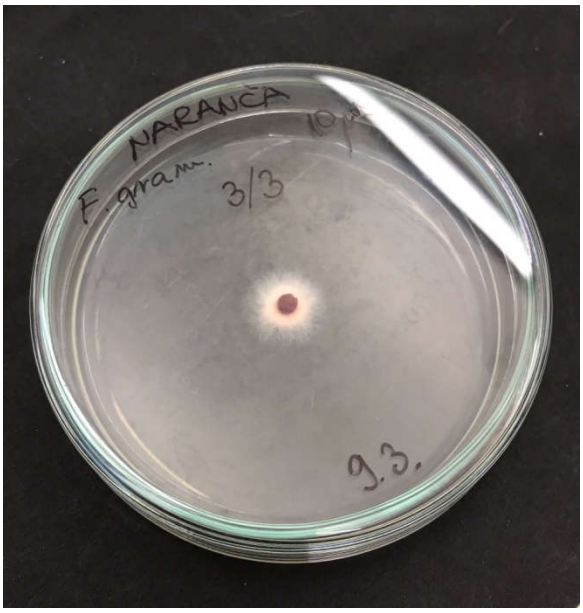
inhibitorno djelovanje pokazao pri količinama 10 i 50 µL, u odnosu na 30 µL (slika 14.). Eterično ulje limuna također je imalo dobro antifungalno djelovanje i to pri svim primjenjenim količinama. Kontaktno djelovanje eteričnih ulja naranče, bora i ružmarina pri primjeni 10 µLu odnosu na kontrolu nije statistički značajno (slika 15. i 16.), dok je pri primjeni istih ulja u količinama 30 i 50 µL statistički značajno inhibiralo rast gljive.



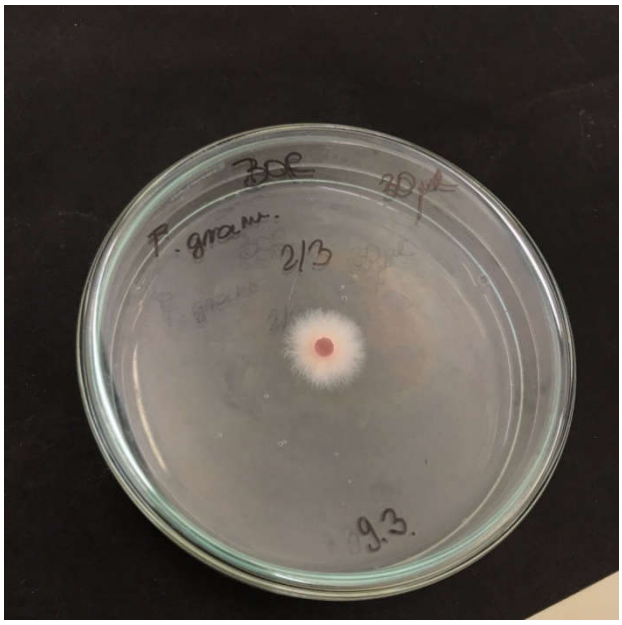
Slika 13. Inhibitorno djelovanje eteričnog ulja timijana (50 µL)
Izvor: Penić, D., 2022.



Slika 14. Inhibitorno djelovanje eteričnog ulja anisa (50 µL)
Izvor: Penić, D., 2022.



Slika 15. Djelovanje eteričnog ulja naranče
Izvor: Penić, D., 2022.



Slika 16. Djelovanje eteričnog ulja bora
Izvor: Penić, D., 2022.

Kod volatilnog djelovanja eterično ulje timijana je pokazalo najbolje inhibitorno djelovanje u odnosu na kontrolu kao i u odnosu na sva ostala ulja. Postotak inhibicije rasta micelija za ulje timijana jednako je kod svih primijenjenih količina ulja. Eterično ulje anisa također je značajno inhibiralo rast micelija u odnosu na kontrolu pri svim primijenjenim količinama. Pri količinama 30 i 50 µL ulje timijana je značajno jače inhibiralo rast gljive u odnosu na primjenu ulja u količini 10 µL (slika 17.). Eterično ulje ružmarina pri volatilnom djelovanju je statistički značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na kontrolu kod svih primjenjenih količina, a ulje limuna pri količinama 30 i 50 µL.

S druge strane, eterično ulje naranče pri količini od 10 µL djelovalo je statistički značajno stimulativno na porast micelija, pri količini 30 µL nije bilo značajnih razlika u odnosu na kontrolu, a pri 50 µL ulje naranče je značajno inhibiralo porast micelija (slika 18.).

Usporedimo li kontaktni i volatilni učinak pojedinih ulja (bez obzira na primijenjenu količinu ulja) možemo zaključiti da ulje timijana pri obje primjene ima podjednako djelovanje na gljivu *F. graminearum* dok ulja limuna i naranče imaju statistički značajno bolje djelovanje pri kontaktnom djelovanju u odnosu na volatilno djelovanje. Ulje

ružmarina značajno jače je inhibiralo porast gljive ukoliko je primijenjeno volatilno u odnosu na kontaktnu primjenu.

Slika 17. Volatilno djelovanje eterično ulja anisa nakon 48 sati
Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 18. Volatilno djelovanje eteričnog ulja naranče nakon 48 sati
Izvor: Penić, D., 2022.

4.2. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 120 sati

Kontaktni i volatilni učinak eteričnih ulja izražen kao postotak inhibicije rasta na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 120 sati inkubacije prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. Postotak inhibicije rasta za gljivu *Fusarium graminearum* nakon 120 sati (kontaktni i volatilni učinak)

	Kontaktni učinak			**Volatilni učinak**			**LSD 0,05**
Ulje	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	
Limun	84,25 ± 1,53	86,68 ± 1,53	84,86 ± 1,53	-2,03 ± 1,27	4,26 ± 2,11	12,59 ± 3,96	39,60
Naranča	-3,05 ± 2,44	9,14 ± 8,44	19,69 ± 2,88	-3,05 ± 0,00	0,81 ± 4,32	6,29 ± 5,63	8,46
Bor	4,06 ± 3,87	18,68 ± 20,49	46,08 ± 10,93	2,64 ± 5,49	9,74 ± 5,20	21,11 ± 2,31	18,04
Ružmarin	-2,84± 0,93	8,32± 11,05	21,92± 6,59	18,07± 11,70	24,16± 15,90	23,75± 9,51	18,47
Timijan	62,93± 12,32	95,62± 0,00	95,62± 0,00	95,62± 0,00	95,62±0,00	95,62± 0,00	8,95
Anis	85,06 ± 18,28	39,38 ± 48,75	95,62 ± 0,00	25,38 ± 10,69	74,50 ± 3,72	66,38 ± 11,62	39,60
Kontrola	0,00± 3,05	0,00± 3,05	0,00± 3,05	0,00± 3,05	0,00± 3,05	0,00± 3,05	
LSD 0,05	15,09	36,26	8,95	11,32	11,95	11,22	

Nakon 120 sati od inokulacije utvrdili smo da eterično ulje timijana i pri kontaktnoj i pri volatilnoj primjeni gotovo potpuno inhibira porast micelija *Fusarium graminearum* pri primjeni 30 i 50 µL ulja. Kod primjene 10 µL ulja pri volatilnoj primjeni učinak je isti kao i kod viših količina, dok je kontaktni učinak nešto slabiji iako još uvijek statistički značajno bolji od kontrole i ulja naranče, bora i ružmarina (slika 19. i 20.).

Antifungalno djelovanje ulja limuna pri kontaktnoj primjeni također je značajno bolje od kontrole kod sve tri primijenjene količine te u odnosu na djelovanje ulja naranče, bora i ružmarina (slika 21.).

Kontaktni učinak ulja naranče, bora i ružmarina na porast micelija kod primjene u količinama 10 i 30 µL nije bio značajan u odnosu na kontrolu.

Slika 19. Kontaktno djelovanje eteričnog ulja timijana pri 50 µL nakon 120 sati

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 20. Kontaktno djelovanje eteričnog ulja timijana pri 10 µL nakon 120 sati

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 21. Stimulativno djelovanje eteričnog ulja naranče

Izvor: Penić, D., 2022.

Eterično ulje timijana i nakon 120 sati pri volatilnom djelovanju ima najjače djelovanje s postotkom inhibicije rasta micelija većom od 95 i to pri svim primijenjenim količinama. Eterično ulje anisa značajno je inhibiralo porast gljive u odnosu na kontrolu, no ipak značajno slabije u odnosu na timijan. Ulje ružmarina također je pri svim primijenjenim količinama značajno inhibiralo porast gljive u odnosu na kontrolu, ali i značajno slabije u odnosu na ulja timijana i anisa.

Ulja limuna, naranče i bora pri primjeni 10 µL nisu imala antifungalni učinak na gljivu *Fusarium graminearum* (slika 22. i 23.).

Ulje limuna je pri kontaktnoj primjeni imalo značajno bolji negativni učinak na rast micelija u odnosu na učinak pri volatilnoj primjeni.

Slika 22. Volatilno djelovanje eteričnog ulja bora nakon 120 sati

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 23. Kontrolna varijanta nakon 120 sati

Izvor: Penić, D., 2022.

4.3. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 168 sati

Kontaktni i volatilni učinak eteričnih ulja izražen kao postotak inhibicije rasta na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 168 sati inkubacije prikazan je u tablici 3.

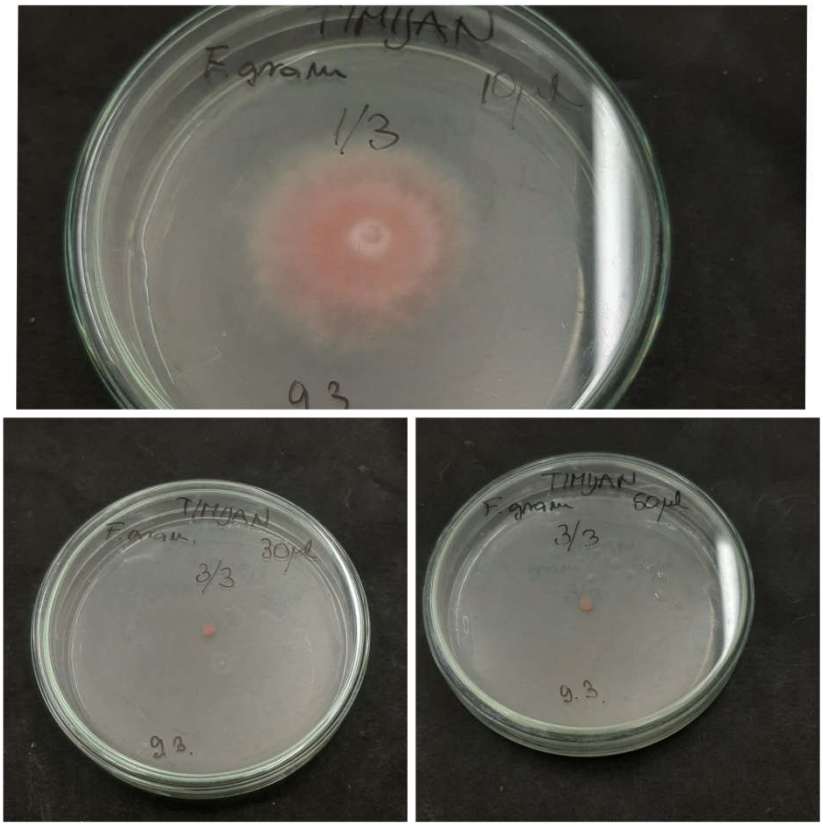
Tablica 3. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Fusarium graminearum* nakon 168 sati (kontaktni i volatilni učinak)

	Kontaktni učinak			**Volatilni učinak**			**LSD 0,05**
Ulje	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	**10 µL**	**30 µL**	**50 µL**	
Limun	80,36± 2,79	82,96± 3,17	82,03± 2,43	5,58± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	3,54
Naranča	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	0,00
Bor	0,00± 0,00	2,60± 4,51	21,21± 18,37	5,58± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	13,74
Ružmarin	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	5,58± 0,00	0,00
Timijan	41,29± 23,75	93,01± 5,15	95,98± 0,00	95,80± 0,32	95,98± 0,00	95,98± 0,00	17,66
Anis	64,73± 33,05	28,46± 49,29	90,59± 4,68	6,14± 0,97	57,29± 6,98	39,43± 16,48	45,15
Kontrola	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00± 0,00	0,00 ± 0,00	
LSD 0,05	27,00	33,01	12,65	0,67	4,62	10,91	

Nakon 168 sati kontaktnog djelovanja ulja limuna i timijana pri svim primjenjenim količinama imaju značajno antifungalno djelovanje u odnosu na kontrolu i na sva ostala ulja izuzev anisa (tablica 3). Ulje anisa ima značajno antifungalno djelovanje u odnosu na kontrolu pri primjeni 10 i 50 µL, a ulje bora pri primjeni 50 µL. Pri volatilnom djelovanju sva su ulja i u svim primjenjenim količinama imala značajno antifungalno djelovanje u odnosu na kontrolu. Najbolje djelovanje je imalo ulje timijana kod kojega je postotak inhibicije rasta kod svih primijenjenih količina iznosio 95,98 %.

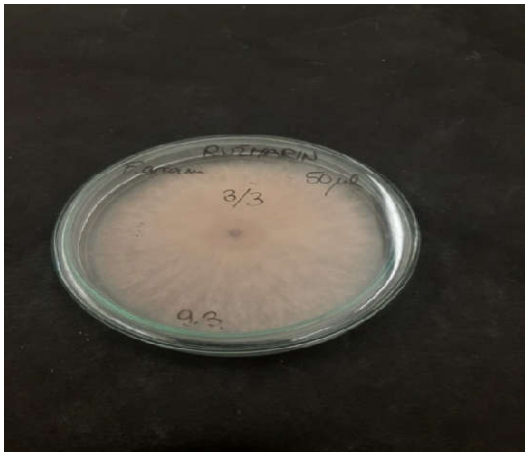
Ulja limuna i timijana (bez obzira na primijenjenu količinu) su značajno bolje djelovala pri kontaktnoj primjeni u odnosu na volatilno djelovanje. Ulja naranče i ružmarina su imala bolje djelovanje pri volatilnoj primjeni.

Učinak ulja pri kontaktnom djelovanju prikazan je na slikama 24 i 25, a pri volatilnom na slikama 26, 27 i 28.



Slika 24. Kontaktno djelovanje eteričnog ulja timijana nakon 168 sati (10, 30 i 50 µL)

Izvor: Penić, D., 2022.



Slika 25. Kontaktno djelovanje eteričnog ulja ružmarina nakon 168 sati

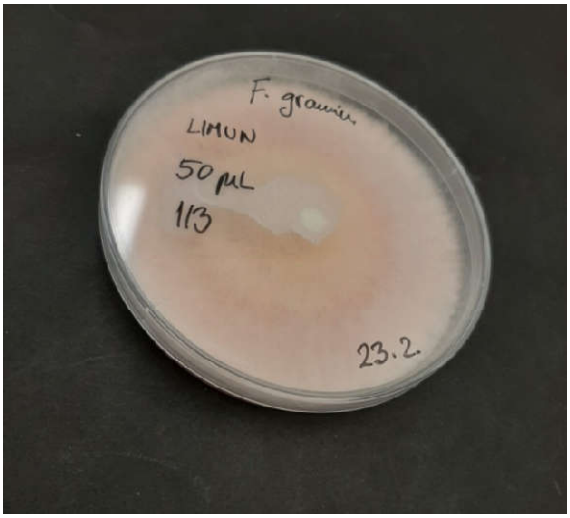
Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 26. Volatilno djelovanje eteričnog ulja timijana

Izvor: Penić, D., 2022.

Slika 27. Volatilno djelovanje eteričnog ulja anisa nakon 168 sati

Izvor: Penić, D., 2022.



Slika 28. Volatilno djelovanje eteričnog ulja limuna nakon 168 sati

Izvor: Penić, D., 2022.

5. RASPRAVA

Učinak eteričnih ulja na rast i razvoj gljiva ovisi o vrsti i sastavu ulja, vrsti gljive, načinu primjene i primijenjenoj količini ili koncentraciji.

Eterična ulja koja se sastoje od velikih fenolnih spojeva poput timola i eugenola imaju bolji učinak pri kontaktnoj primjeni dok ulja koja sadrže nefenolne hlapljive spojeve poput citrala i limonena bolje djeluju ukoliko je gljiva izložena isparavanjima eteričnog ulja (Suhar i Nielsen, 2003).

U našem istraživanju eterično ulje timijana pokazalo je najjače antifungalno djelovanje na gljivu *Fusarium gramineaerum* bez obzira na način primjene i bez obzira na primjenjenu količinu. Katooli i sur. (2012.) navode da je ulje timijana imalo jače antifungalno djelovanje na *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gleosporioides*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana* u odnosu na ulje eukaliptusa. U istraživanju jedanaest eteričnih ulja na porast dvanaest fitopatogenih gljiva Ćosić i sur. (2010.) su utvrdili da najjače antifungalno djelovanje imaju ulja timijana, lista cimeta, klinčićevca i anisa.

Prema istraživanju Posavac i sur. (2014.) o utjecaju eteričnih ulja na porast fitopatogene gljive *Macrophomina phaseolina* najbolji antifungalni učinak imalo je ulje timijana, dok su najslabije rezultate pokazala eterična ulja naranče i bora.

Jelenić i sur. (2020.) proveli su istraživanje antifungalnog djelovanja devet eteričnih ulja na porast micelija gljive *Botrytis cinerea* izolirane s vinove loze. Eterično ulje timijana je pri svim ispitivanim koncentracijama inhibitorno djelovalo na porast micelija te je i nakon 96 sati i dalje djelovalo fungistatično.

Verma i sur. (2011.) istražili su antifungalni utjecaj devet eteričnih ulja na gljive *Apergillus niger* i *Geotrichum candidum*. Rezultati istraživanja pokazali su da je eterično ulje limuna imalo najveći antifungalni utjecaj na rast obje ispitivane gljive. S druge strane, Ragab i sur. (2012.) utvrdili su da ulje timijana ima bolje inhibitorno djelovanje nego ulje limuna.

Nakon 120 sati od primjene ulja u našem istraživanju ulja naranče, bora i ružmarina nisu negativno utjecala na porast micelija kod primjene u količinama 10 i 30 µL (kontaktno djelovanje), a ulja naranče, bora i limuna pri volatilnoj primjeni u količini 10 µL.

U istraživanju Lee i sur. (2007.) utvrđeno je da eterična ulja bora i ružmarina nemaju nikakav inhibitorni učinak na rast micelija ispitivanih gljiva.

Ćosić i sur. (2010.) navode da eterična ulja naranče, ružmarina i bora ne inhibiraju porast niti jedne od dvanaest ispitivanih fitopatogenih gljiva, a na određene imaju i stimulativno djelovanje.

Ispitivanjem učinka eteričnih ulja limuna, mandarine, grejpfruta i naranče na rast plijesni povezanih s kvarenjem hrane Viuda-Martos i sur. (2008) su utvrdili da eterična ulja citrusa pokazuju određenu antifungalnu aktivnost. Povećanjem primijenjene koncentracije ulja povećava se postotak inhibicije rasta micelija što je djelomično utvrđeno i u našem istraživanju.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja kontaktnog i volatilnog djelovanja šest eteričnih ulja na rast micelija gljive Fusarium graminearum koja su provedena u Centralnoj agrobiotehničkoj analitičkoj jedinici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek može se zaključiti:

1. Učinak eteričnih ulja ovisi o vrsti i primijenjenoj količini ulja kao i o načinu primjene.
2. Najjače antifungalno djelovanje utvrđeno je za ulje timijana pri svim primijenjenim količinama i kod oba načina djelovanja.
3. S produljenjem inkubacije učinkovitost ulja u pravilu počinje opadati.
4. Najslabije djelovanje na ispitivanu gljivu imala su ulja naranče i bora.
5. Nakon 168 sati inkubacije ulja limuna i timijana (bez obzira na primijenjenu količinu) su značajno bolje djelovala pri kontaktnoj primjeni u odnosu na volatilno djelovanje, a ulja naranče i ružmarina su imala bolje djelovanje pri volatilnoj primjeni.

7. POPIS LITERATURE

1. Abdel-Kader, M.M., El-Mougy, N.S., Lashin, S.M. (2011.): Essential oils and Trichoderma harzianum as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. Journal of Plant Protaction Research, 51(3): 306-313

2. Badea, M., Delian, E. (2014.): In vitro antifungal activity of the essential oils from *Artemisia* spp. L. on *Sclerotinia sclerotiorum*. Romanian Biotechnological Letters, 19: 3

3. Bai, G., Shaner, G. (2004.): Management and resistance in wheat and barley to *Fusarium* head blight. Annual Review of Phytopathology, 42: 135-161

4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008.): Biological effects of essential oils – a review. Food and Chemical Toxicology, 46(2): 446-476

5. Brown, DW., Proctor, RH. (2013.): *Fusarium*, Genomics, Molecular ana Cellular Biology, Norfolk, UK

6. Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K. (2013.): Fuzarijska palež klasova. Glasnik zaštite bilja, 4:64-67

7. Ćosić, J., Vrandečić, K., Novoselović, D., Drezner, G., Jurković, D. (2006.): Influence of planting density and planting date on the occurence of *Fusarium* root rot on winter wheat – a phytosanitary food chain problem. Cereal Research Communications, 34(1): 769-772

8. Ćosić, J., Vrandečić, K., Poštić, J., Jurković, D., Ravlić, M. (2010.): In vitro antifungal activity of essential oils on growth of phytopatogenic fungi. Poljoprivreda, 16(2): 25-28

9. Ćosić, J., Vrandečić, K., Svitlica, B. (2004.): *Fusarium* vrste izolirane s pšenice i kukuruza u istočnoj Hrvatskoj. Poljoprivreda, 10(1): 5-8

10. Dhaouadi, S., Rouissi, W., Mougou-Hamdane, A., Nasraoui, B. (2018.): Antifungal activity of essential oils of *Origanum majrana* and *Lavender angustifolia* against *Fusarium* wilt and root rot disease of melon plants. Tunisian Journal of Plant Protection, 13(1): 39-55

11. El-Nahhal, Y. (2004.): Contamination and Safety Status of Plant Food in Arab Countries. Journal of Applied Science, 4(3): 411-417

12. Essono, G., Ayodele, M., Akoa, A., Foko, J., Olembo, S., Gockowski, J. (2007.): Aspergillus species on cassava chips in storage in rural areas of southern Cameroon: their relationship with storage duration, moisture content and processing methods. African Journal of Microbiology Research, 001-008

13. Harris, R. (2002.): Progress with superficial mycoses using essential oils. Int J Aromather, 12(2): 83-91

14. 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

15. Jelenić, J., Ilić, J., Ćosić, J., Vrandečić, K., Velki, M. (2020.): Antifungalno djelovanje eteričnih ulja domicilnog bilja Hrvatske na uzročnika sive plijesni (*Botrytis cinerea*) s vinove loze. Poljoprivreda, 26(2): 58-64

16. Katooli, N., Maghsodlo, R., Honari, H., Razavi, S.E. (2012.): Fungistatic activity of essential oils of Thyme and Eucalyptus against of posthardvest and soilborne plant pathogenic fungi. Global Journal of Medicinal Plant Research, 1(1): 1-4

17. Kumar, P., Mishra, S., Kumar, A., Kumar Sharma, A. (2016.): Antifungal efficacy of plant essential oils against stored grain fungi of *Fusarium* spp. J Food Sci Technol, 53(10): 3725-3734

18. Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.C. (2007.): Antifungal activity of five plant essentioal oils as fumigant against posthardvest and soilborne plantpathogenic fungi. Plant Pathol J, 23(2): 97-102

19. Palfi, M., Konjevoda, P., Vrandedčić, K., Ćosić, J. (2018): Antifungalna aktivnost eteričnih ulja i njihovih glavnih kmponenti na rast micelija *Colletotrichum coccodes*. Poljoprivreda, 24(2): 20-26

20. Palfi, M., Konjevoda, P., Vrandečić, K., Ćosić, J. (2019.): Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea*. Emirates Journal of Food and Agriculture, 31(7): 544-554

21. Perczak, A., Gwiazdowska, D., Marchwinska, K., Jus, K., Gwiazdovski, R., Waskiewicz, A. (2019.): Antifungal activity of selected essential oils against *Fusariumculmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. Archives of Microbiology, 201: 1085-1097

22. Posavac, I., Vrandečić, K., Ćosić, J. (2014.): Utjecaj eteričnih ulja na porast *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Glasnik zaštite bilja, 5/2014.

23. Ragab, M.M.M., Ashour, A.M.A., Abdel-Kader, M.M., El-Mohamady, R., Abdel-Aziz, A. (2012.): In vitro evaluation of some fungicides alternatives against *Fusariumoxysporum* the casual of wilt disease of pepper (*Capsicum annum* L.). International Journal of Agriculture and Forestry, 2(2): 70-77

24. Raveau, R., Fontaine, J., Sahraoui, A.L.H. (2020.): Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: a review. Foods, 9: 365

25. Siripornvisal, S., Rungprom, W., Sawatdirkan, S. (2009.): Antifungal activity of essential oils derivedfrom some medicinal plants against grey mould (*Botrytis cinerea*). Asian Journal of Food and Agro-Industry, S229-S233

26. Strelkova, T., Nemes, B., Kovacs, A., Novotny, D., Božik, M., Klouček, P. (2021.): Inhibitoin of fungal strains isolated from cereal grains via vapor phase of essential oils. Molecules, 26: 1313

27. Suhra, K.I., Nielsen, P.V.(2003.): Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. J Appl Microbiol 94(4):665-674.

28. Tomasović, S., Palaveršić, B., Mlinar, R., Ikić, I., Ivanušić, T. (2008.): Linije ozime pšenice dobre otpornosti na fuzarijsku palež klasa (*Fusarium graminearum* Schw.). Sjemenarstvo, 25:2

29. Tworkovski, T. (2017.): Herbicide effects of essential oils. Weed Science, 50(4): 425-431

30. Tzortzakis, N.G., Economakis, C.D. (2007.): Antifungal activity of lemongrass (*Cympopogon citratus* L.) essential oil against key posthardvest pathogens. National Agricultural Reseaarch Foundation, 253: 1-6

31. Verma, R.K., Chaurasia, Kumar, M. (2011.): Antifungal activity of essential oils against selected building fungi. Indian Jorunal of Natural Products and Resources, 2(4): 448-451

32. Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. (2008.): Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), 107 grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Food control 19(12):1130-1138.

33. Vitoratos, A. Bilalis, D., Karkanis, A., Efhtimiadou, A. (2013.): Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicilliumdigitatum*. Not Bot Horti Agrobo, 41(1): 86-92

34. Vrandečić, K., Jug, D., Ćosić, J., Ilić, J., Jug, I. (2019.): The impact of different conservation soil tillage and nitrogen fertilization on wheat grain infection with *Fusarium* sp. Poljoprivreda, 25(1): 26-31

8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kontaktni i volatilni utjecaj šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium gramineaerum*. Korištena su eterična ulja timijana, anisa, limuna, bora, ružmarina i naranče. Ulja su primijenjena u količinama 10, 30 i 50 µL. Porast micelija mjeren je nakon 48, 120 i 168 sati. Najjači antifungalni učinak imalo je eterično ulje timijana i pri kontaktnoj i pri volatilnoj primjeni. Eterična ulja limuna i anisa su imala značajno bolje antifungalno djelovanje pri kontaktnoj primjeni u odnosu na volatilnu primjenu. Ulja naranče i bora bolje su djelovala pri volatilnoj primjeni.

Ključne riječi: *Fusarium graminearum*, inhibitorni učinak, eterično ulje, porast micelija

9. SUMMARY

The aim of this study was to determine volatile and contact effect of six essential oils on the growth of mycelium of the fungus *Fusarium graminearum*. Essential oilsof thyme, anise, lemon, pine, rosemary and orange were used. The oils were applied in three quanttities: 10, 30 and 50 µL. Mycelial growth was measured after 48, 120 and 168 hours. Essential oil of thyme had the strongest antifungal effect, both in contact and volatile application. Essential oils of lemon and anise had better antifungal effect in contact application than in volatile. Orange and pine essential oils had better antifungal effect in volatile application.

Key words: *Fusarium graminearum*, inhibitory effect, essential oils, mycelial growth

TEMELJNA DOKUMENTACIJA KARTICA

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

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Sveučilišni diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

Usporedba volatilnog i kontaktnog djelovanja eteričnih ulja na porast gljive *Fusarium graminearum*

Doris Penić

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kontaktni i volatilni utjecaj šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium gramineaerum*. Korištena su eterična ulja timijana, anisa, limuna, bora, ružmarina i naranče. Ulja su primijenjena u količinama 10, 30 i 50 µL. Porast micelija mjeren je nakon 48, 120 i 168 sati. Najjači antifungalni učinak imalo je eterično ulje timijana i pri kontaktnoj i pri volatilnoj primjeni. Eterična ulja limuna i anisa su imala značajno bolje antifungalno djelovanje pri kontaktnoj primjeni u odnosu na volatilnu primjenu. Ulja naranče i bora bolje su djelovala pri volatilnoj primjeni.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 36

Broj slika: 28

Broj tablica: 3

Broj literaturnih navoda: 34

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Fusarium graminearum*, inhibitorni učinak, eterično ulje, porast micelija

Datum obrane: 07.07.2022.

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, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD

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

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

University Graduate Studies Vegetable growing and floriculture

Comparison of volatile and contact effect of essential oils on growth of *Fusarium graminearum*

Doris Penić

Abstract:

The aim of this study was to determine volatile and contact effect of six essential oils on the growth of mycelium of the fungus *Fusarium graminearum*. Essential oils of thyme, anise, lemon, pine, rosemary and orange were used. The oils were applied in three quanttities: 10, 30 and 50 µL. Mycelial growth was measured after 48, 120 and 168 hours. Essential oil of thyme had the strongest antifungal effect, both in contact and volatile application. Essential oils of lemon and anise had better antifungal effect in contact application than in volatile. Orange and pine essential oils had better antifungal effect in volatile application.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Nuber od pages:36

Number of figures:28

Number of tables: 3

Number of references:34

Number of appendices:0

Original in: Croatian

Key words: *Fusarium graminearum*, inhibitory effect, essential oils, mycelial growth

Thesis defended on date: 07.07.2022.

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 Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d