

# Volatilni utjecaj eteričnih ulja na porast Fusarium vrsta

---

Šamal, Anamarija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

*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:151:909515>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-18**



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](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Anamarija Šamal

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Modul Zaštita bilja

**VOLATILNI UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA PORAST *FUSARIUM*  
VRSTA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Anamarija Šamal

Diplomski sveučilišni studij Bilinogojstvo

Modul Zaštita bilja

**VOLATILNI UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA PORAST *FUSARIUM*  
VRSTA**

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Jasenka Čosić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor
3. Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

**Osijek, 2024.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
3. MATERIJAL I METODE .....	6
3.1. Pripreme hranjive podloge.....	6
3.2. Priprema za brojanje klijavih konidija.....	11
4. REZULTATI.....	13
4.1. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. culmorum</i> nakon 72 sata .....	13
4.2. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. culmorum</i> nakon 168 sati.....	15
4.3. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. culmorum</i> nakon 240 sati.....	18
4.4. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. oxysporum</i> nakon 72 sata.....	20
4.5. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. oxysporum</i> nakon 168 sati ..	22
4.6. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive <i>F. oxysporum</i> nakon 240 sati ..	24
4.7. Utjecaj eteričnih ulja na klijavost gljive <i>Fusarium culmorum</i> .....	27
5. RASPRAVA.....	29
6. ZAKLJUČAK .....	31
7. LITERATURA .....	32
8. SAŽETAK.....	35
9. SUMMARY .....	36
10. POPIS TABLICA .....	37
11. POPIS SLIKA.....	38
12. POPIS GRAFIKONA.....	40

## 1. UVOD

Rod *Fusarium* uzrokuje značajne ekonomske gubitke u usjevima širom svijeta. Vrste iz ovog roda parazitiraju na mnogim kultiviranim i korovnim biljkama, uključujući *Abutilon theophrasti*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Sorghum halepense*, *Amaranthus hybridus* i druge (Ćosić i Vrandečić, 2003.). *Fusarium culmorum* i *Fusarium oxysporum* napadaju kulture poput pšenice, ječma, zobi, riže, kukuruza, mahunarki te povrća poput krumpira, rajčice i krastavaca, uzrokujući trulež korijena i klasova, palež klijanaca, sniježnu plijesan i venuće (Davari i Ezazi, 2022.). Zaraženi klasovi uzrokuju smanjenje broja i težine zrna te razgradnju škroba, proteina i staničnih stijenki. Infekcija se širi zaraženim sjemenom, zaraženim tlom i korovnim vrstama. Najveće štete nastaju tijekom cvatnje kada temperature prelaze 25 °C, uz relativnu vlažnost zraka iznad 85 % (Ćosić i Vrandečić, 2003.).

Osim smanjenja prinosa, vrste iz roda *Fusarium* proizvode mikotoksine, sekundarne kemijske metabolite gljiva. Među najotrovnijim i najraširenijim *Fusarium* toksinima su zearalenon, fumonizini, moniliformin i trihoteceni. Ovi toksini mogu uzrokovati ozbiljne zdravstvene probleme kod ljudi i životinja, uključujući karcinom dojke i jednjaka, povraćanje, bolove u stomaku, grčeve, dermatitis, te oštećenje bubrega i jetre. Također, mogu izazvati neplodnost i u ekstremnim slučajevima, smrt. Kod životinja, izloženost ovim mikotoksinima može dovesti do značajnih ekonomskih gubitaka zbog smanjenja proizvodnje i povećane smrtnosti (Nešić i sur., 2014.).

Suzbijanje fuzarioza može se postići sjetvom zdravog sjemena, provođenjem plodoreda s kulturama poput soje, suncokreta i šećerne repe, te dubokim zaoravanjem ostataka usjeva (Ćosić i Vrandečić, 2003.). Iako se kemijski fungicidi koriste za suzbijanje biljnih bolesti i održavanje visokih prinosa, oni imaju negativne učinke na ljudsko zdravlje i okoliš. Zbog toga su prirodni proizvodi sve popularniji jer su ekološki prihvatljiviji, biorazgradivi i učinkoviti pri nižim dozama. U posljednje vrijeme raste interes za biološkim antifungalnim sredstvima koja mogu zamijeniti sintetičke pesticide. Jedna od najsuvremenijih metoda za suzbijanje biljnih bolesti je korištenje eteričnih ulja. Eterična ulja su biljnog podrijetla i sadrže mješavinu različitih kemijskih spojeva. Razna istraživanja pokazala su da eterična ulja mogu inhibirati rast *Fusarium* vrsta i smanjiti koncentraciju mikotoksina (Perczak i sur., 2019.).

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi volatilni utjecaj eteričnih ulja na porast *F. culmorum* i *F. oxysporum*

## 2. PREGLED LITERATURE

*F. culmorum* i *F. graminearum* su uzročnici ozbiljnih biljnih bolesti. Njihovi mikotoksini izazivaju širok spektar toksičnih reakcija, uključujući karcinogene, mutagene, teratogene i estrogene učinke, koji dovode do akutnih i kroničnih bolesti kod životinja i ljudi. Perczak i suradnici (2019.) u svojoj studiji istražili su učinke odabranih eteričnih ulja na inhibiciju rasta *F. graminearum* i *F. culmorum* te smanjenje koncentracije mikotoksina u zrnu pšenice. Primjena eteričnih ulja značajno je smanjila sadržaj zearalenona, ovisno o varijanti pokusa i do 99 %. Samo je narančino ulje rezultiralo smanjenjem od oko 68,33 %. Sva ispitana eterična ulja također su značajno smanjila razinu trihotecena skupine B, u rasponu 94,51-100 %

Prema istraživanju Sharma i suradnika (2017.), ulje klinčića pokazalo je snažno antifungalno djelovanje protiv *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, gljivice koja uzrokuje venuće. Istraživanje je obuhvatilo četiri eterična ulja: ulje klinčića, limunske trave, metvice i eukaliptusa, te su procijenjena njihova protugljivična svojstva. Ulje klinčića je pokazalo najveću aktivnost, uz potpunu inhibiciju rasta micelija i klijanja spora pri koncentraciji od 125 ppm<sup>1</sup>, IC<sub>50</sub> s vrijednostima od 18,2 odnosno 0,3 ppm. Ostala eterična ulja su također pokazala inhibicijski učinak, ali u višim koncentracijama.

Istraživanje Tyśkiewicz i suradnika (2019.) izvještava o antifungalnim svojstvima ekstrakta smeđe alge *Fucus vesiculosus* protiv fitopatogena *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Fukosterol iz algi pokazao je antifungalni učinak protiv *F. culmorum*, inhibirajući rast makrokonidija za 1 %. Niže koncentracije fukosterola (0,05-0,2 %) rezultirale su kraćim makrokonidijama i strukturnom degradacijom. Ekstrakt *F. vesiculosus* inhibirao je rast micelija *F. oxysporum* za 48 % nakon 168 sati inkubacije, dok je 100 % ekstrakta inhibiralo rast *F. culmorum* i *F. oxysporum* za 72 % i 75 %.

*Fucus vesiculosus*, smeđa alga, bogata je polisaharidima, fukoksantinom, manitolom i šećernim polimerima, koji imaju štetan učinak na fitopatogene i povoljan učinak na biljke i životinje. Morske makroalge su bogat izvor bioaktivnih spojeva s antibakterijskim, antifungalnim i

---

<sup>1</sup> ppm- mjerna jedinica koja se koristi za izražavanje koncentracije jedne tvari u odnosu na milijun dijelova druge tvari. Na primjer, ako je koncentracija neke tvari 1 ppm, to znači da u milijun dijelova neke smjese ili otopine ima jedan dio te tvari; [https://bs.wikipedia.org/wiki/Parts\\_per\\_million](https://bs.wikipedia.org/wiki/Parts_per_million)

antivirusnim svojstvima, te se koriste u poljoprivredi kao stimulansi biljaka i biognojiva. Dokazano je da ekstrakti algi potiču klijanje, rast sjemena i prinos usjeva (Tyśkiewicz i sur., 2019.)

Učinak eteričnih ulja iz četiri aromatične biljke na proizvodnju mikotoksina deoksinivalenola i zearalenona *F. graminearum* istražen je u radu Zoratto Romolia i sur., (2021.). Eterična ulja dobivena su iz đumbira, kurkume, majčine dušice i ružmarina putem hidrodestilacije, a njihovi kemijski sastavi analizirani su plinskom kromatografijom/masenom spektrometrijom. Glavni spojevi identificirani u uljima bili su monoterpeni i seskviterpeni. Minimalne inhibitorne koncentracije i minimalne fungicidne koncentracije utvrđene su na 11,25, 364, 366 i 11,580  $\mu\text{g mL}^{-1}$  za ulja đumbira, kurkume, majčine dušice i ružmarina. Rezultati su pokazali značajnu inhibiciju proizvodnje deoksinivalenola i djelomičnu inhibiciju zearalenona *F. graminearum*. Eterična ulja majčine dušice i đumbira pokazala su najjači antimikotoksigeni učinak na deoksinivalenol i zearalenon. Obećavajući rezultati *in vitro* istraživanja ukazuju da bi se ova ulja mogla koristiti kao zamjena za sintetske fungicide u budućnosti.

Eterična ulja mogu zamijeniti sintetičke pesticide za kontrolu gljivičnih kontaminacija jer su sigurna za zdravlje i ne zagađuju okoliš. Ulje đumbira je dobiveno hidrodestilacijom i analizirano plinskom kromatografijom (GC/MS). Aktivnost je mjerena pomoću tekućinske kromatografije (HPLC/UV), mjerenjem količine ergosterola i deoksinivalenola. Rezultati su pokazali da ulje đumbira smanjuje proizvodnju ergosterola pri 1000  $\mu\text{g/mL}$  i deoksinivalenola pri 500  $\mu\text{g/mL}$ , što znači da ulje direktno utječe na biosintezu toksina *F. graminearum* (Ferreira i sur., 2018.).

Otkriveno je da eterična ulja *Bursera morelensis* i *Lippia graveolens* suzbijaju rast *Fusarium* vrsta. U istraživanju je proučavan utjecaj ovih ulja i čistih spojeva (kao što su karvakrol, p-cimen,  $\alpha$ -felandren,  $\alpha$ -pinen i  $\gamma$ -terpinen) na oblik i rast hifa *Fusariuma*, proizvodnju spora i klijanje. Karvakrol je pokazao najveću sposobnost inhibicije rasta hifa. Eterična ulja i čisti spojevi značajno su utjecali na strukturu hifa te smanjili proizvodnju spora i klijanje *Fusarium* vrsta (Medina-Romero i sur., 2022).

Karapetsi i suradnici (2022.) pokazali su da metabarkodiranje može pružiti korisne informacije o utjecaju različitih doza eteričnog ulja origana na *F. oxysporum* i druge gljivične vrste u uzorcima tla. Utvrđeno je da je veća doza ulja origana smanjila brojnost *F. oxysporum*, *Trichoderma evansii* i *Mortierella chlamydospora* te inhibirala klijanje i rast micelija nekih gljivica.

Istraživanje Dutta i sur., (2021.) obuhvatilo je računalno modeliranje interakcija između protein-ligand alilizotiocijanata, glavnog sastojka eteričnog ulja crne gorušice (*Brassica nigra*), s *Meloidogyne incognita* i *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Rezultati testiranja eteričnog ulja crne gorušice protiv *Meloidogyne incognita* pokazali su smrtonosne koncentracije od 47,7, 30,3 i 20,4 µg/ml nakon 24, 48 i 72 sata izlaganja. Također je zabilježena značajna inhibicija rasta micelija *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* s koncentracijom koja uzrokuje 50 % inhibicije od 6,42 µg/ml. Rezultati sugeriraju da ulje crne gorušice može biti novi biopesticid za borbu protiv *Meloidogyne incognita* i *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

*Fusarium solani*, uzročnik truleži korijena, smanjuje prinos boba (*Vicia faba*) širom svijeta. Različite koncentracije eteričnog ulja sjemenki komorača (12,5, 25, 50, 100, 200 i 400 µL/mL) protiv *F. solani* izoliranog iz korijena boba ispitali su Khaleil i sur., (2021.). *Foeniculum vulgare* (komorač) poznat je po svom djelovanju na fitopatogene gljive. *In vitro*, ulje sjemenki komorača inhibiralo je porast *F. solani* s minimalnom koncentracijom od 25 µL/mL. *In vivo*, ulje je smanjilo trulež korijena za 61,2 % i učestalost bolesti za 50 %, te djelovalo kao zaštitni agens za bob (32,5 %). Istraživanje pokazuje da bi ulje sjemenki komorača moglo biti učinkovito sredstvo protiv gljivica za kontrolu truleži korijena i pospješivanje rasta biljaka.

Cilj istraživanja Krzyśko-Łupicka i sur., (2021.) bio je procijeniti učinkovitost sedam komercijalnih eteričnih ulja (grejp, limunska trava, čajevac, majčina dušica, verbena, cajeput i *Litsea cubeba*) protiv vrsta roda *Fusarium* srednjoeuropskog podrijetla, izoliranih iz zaraženih zrna pšenice. Fungicidno djelovanje eteričnih ulja procijenjeno je u svakoj fazi korištenjem koncentracija od 0,025 % do 2,0 %, mjerenjem zona inhibicije rasta metodom disk ploče. U prvoj fazi istraživanja analizirane su vrste *Fusarium* iz poljske populacije: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. oxysporum*, dok su u drugoj fazi istraživanja promatrani izolati *Fusariuma* iz njemačke populacije, uključujući *F. culmorum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F.*



*graminearum* i *F. poae*. Uspoređena je osjetljivost izolata *Fusariuma* iz poljske i njemačke populacije, pri čemu su izolati iz njemačke populacije pokazali veću osjetljivost. Najjače fungicidno djelovanje pokazalo je ulje timijana, dok su ulja limunske trave i *Litsea cubebae* pokazala sličan učinak, ali pri koncentracijama iznad 0,025 %.

Zhang i sur., (2022.) istraživali su potencijal antifungalnog djelovanja eteričnog ulja *Sabina chinensis*, drvenaste biljke koja ima važnu ulogu u ekosustavima različitih regija Kine. Cilj istraživanja bio je analizirati kemijski sastav i antifungalno djelovanje ovog ulja, pri čemu je proces izdvajanja tvari doveden do najboljeg mogućeg načina provođenja, kako bi se postigli najbolji rezultati. Eksperimenti u Petrijevim zdjelicama otkrili su snažno i dugotrajno antifungalno djelovanje ovog ulja protiv testiranih sojeva *F. oxysporum* i *F. incarnatum*. Vrijednosti polovice maksimalnog učinka (EC50) za ove sojeve bile su 1,42 i 1,15  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , što je rezultiralo inhibicijom rasta od 76 % do 90 % pri dozi od 0,2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Eterično ulje majčine dušice pokazalo je značajnu učinkovitost u suzbijanju sive plijesni i fusarijskog venuća presadnica rajčice i rajčicama uzgojenima hidroponski. Tretirani listovi pokazali su 64 % manju kolonizaciju s *Botrytis cinerea* u usporedbi s kontrolnim uzorcima. Osim toga, ulje je smanjilo intenzitet bolesti fusarioze, posebice 7 dana nakon tretmana. Biljke su pokazale pozitivan odgovor na tretman, bilo kroz folijarno prskanje ili dodavanje ulja u hidroponski sustav, pri čemu se učinkovitost pripisuje nakupljanju peroksidaza. Primjena ulja na korijenje pokazala se posebno učinkovitom (Ben-Jabeur i sur., 2015.)

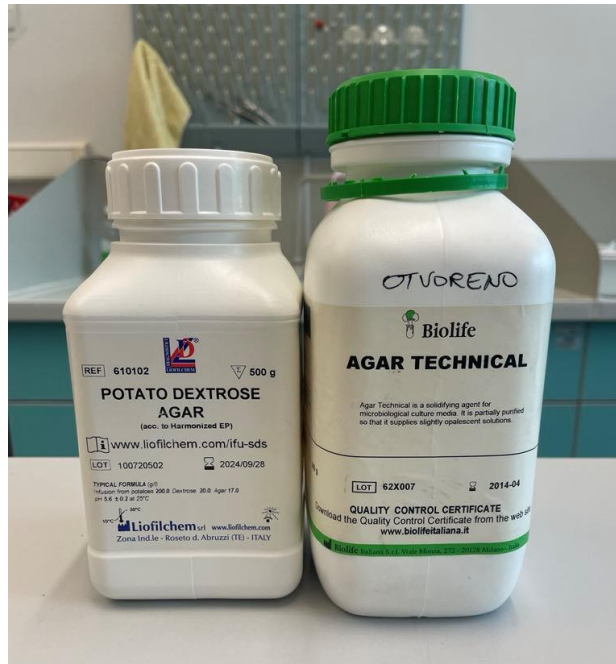
Divband i sur. (2017.) ispitivali su učinkovitost eteričnog ulja *Thymus vulgaris* (timijan) na rast gljivica i ekspresiju gena Tri4 u sojevima *F. oxysporum*. Identificirali su timol (32,67 %) i p-cimen (16,68 %) kao glavne komponente ulja timijana. Minimalne inhibitorne koncentracije varirale su od 5 do 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , s prosječnom vrijednošću od 10,50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , dok su minimalne fungicidne koncentracije bile od 8 do 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , s prosjekom od 16,20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Kvantitativni RT-PCR pokazao je smanjenje ekspresije gena Tri4 za 4,04 do 6,27 puta kod gljivica tretiranih uljem timijana. Rezultati ukazuju na to da ulje timijana može biti prirodna alternativa sintetičkim fungicidima za prevenciju i kontrolu bolesti koje se prenesu sjemenom.

### 3. MATERIJAL I METODE

*In vitro* istraživanje provedeno je u Centralnoj agrobiotehničkoj analitičkoj jedinici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Ispitan je antifungalni učinak šest eteričnih ulja: zvjezdastog anisa (*Illicium verum* Hook f.), timijana (*Thymus vulgaris* L.), klinčića (*Eugenia caryophyllus*), slatke naranče (*Citrus aurantium dulcis* L.), eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* Labill.) i limuna (*Citrus limon* L.), te njihova volatilna primjena na fitopatogene gljive *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Eterična ulja primijenjena su u količinama od 10, 20, 50, 75 i 100  $\mu$ L, a pokus je proveden u tri ponavljanja. Patogene gljive korištene u istraživanju izolirane su i identificirane na Katedri za fitopatologiju Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek te su dio njihove kolekcije.

#### 3.1. Pripreme hranjive podloge

Za pokus su korištene plastične sterilizirane Petrijeve zdjelice bez ventilacije, dimenzija 90×14 mm. Te zdjelice su plitke posudice ravnog dna koje služe za uzgoj raznih kultura bakterija i drugih mikroorganizama na hranjivim podlogama. Za pripremu hranjive podloge, u svaku Erlenmeyerovu tikvicu dodaje se po 500 ml destilirane vode, 21 g krumpir dekstroznog agara i 1,40 g tehničkog agara (slika 1). Sadržaj tikvica ručno se miješa kako bi se dobila homogena smjesa. Tikvice se zatvaraju aluminijskom folijom i steriliziraju u autoklavu na 120 °C tijekom 20 minuta (slika 2). Autoklav je uređaj koji zagrijava tvari pod tlakom na temperaturu višu od njihova vrelišta, što omogućuje provođenje kemijskih reakcija i sterilizaciju različitih materijala vodenom parom.



Slika 1. Sastojci za izradu hranjive podloge

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 2. Sterilizacija Erlenmeyerovih tikvica u autoklavu

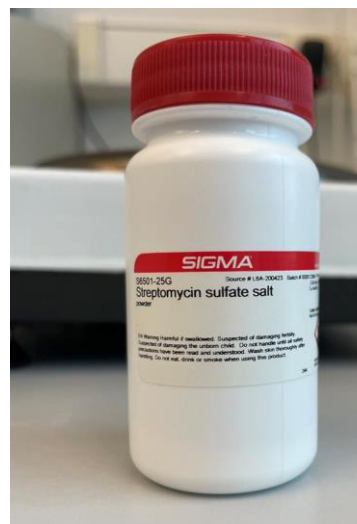
Izvor: Batrnek, N., 2023.

Nakon autoklaviranja, tikvice se vade i prati se temperatura podloge. Kada se temperatura spusti na oko 60 °C, dodaje se 0,30 g prethodno izvaganog antibiotika (slika 3 i 4).



Slika 3. Mjerenje temperature podloge

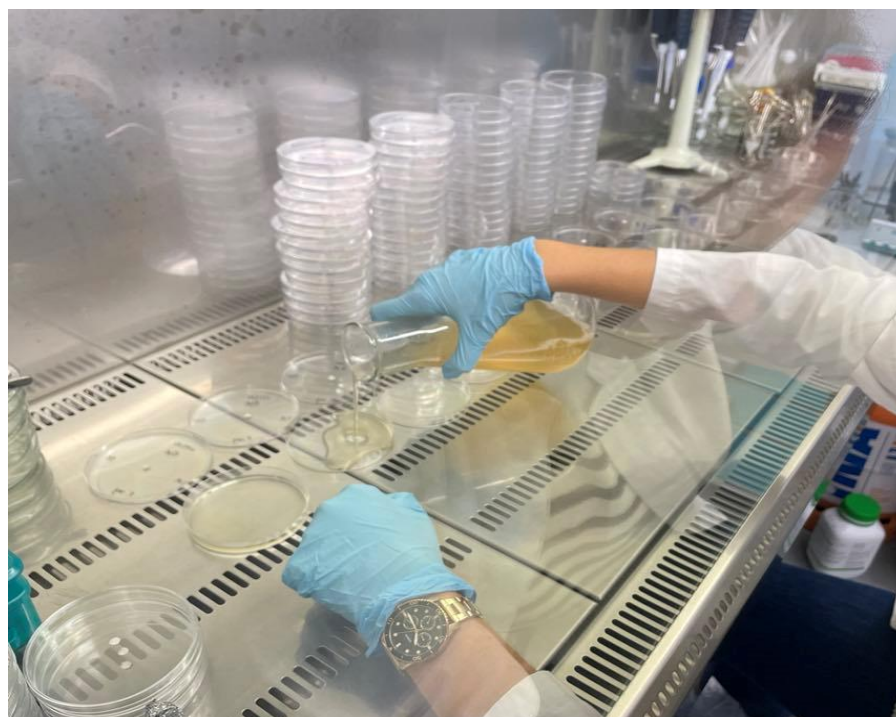
Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 4. Antibiotik

Izvor: Šamal, A., 2023.

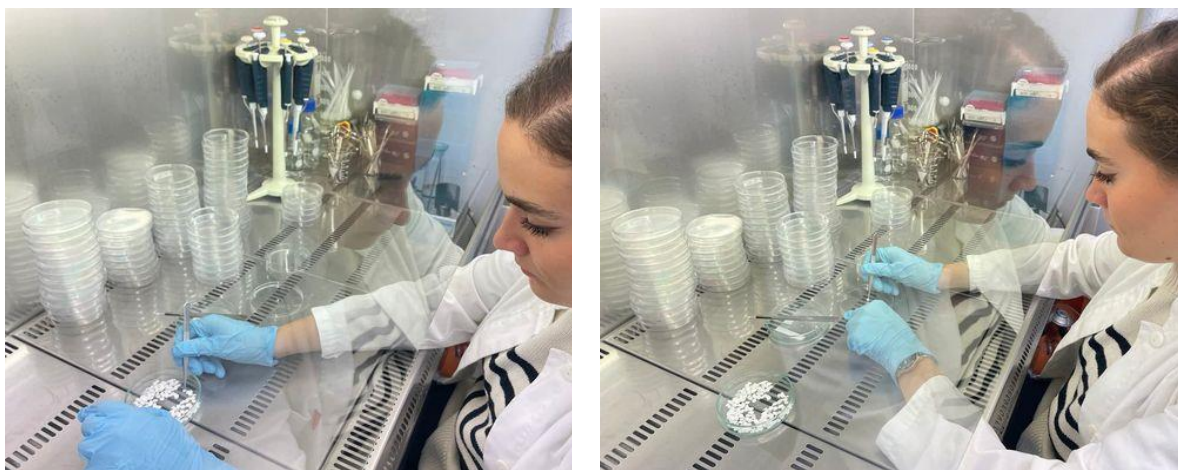
Na slici 5 vidljivo je da se Petrijeve zdjelice pune hranjivom podlogom, po 10 mL u svaku. Nakon što se podloga ohladi, zdjelice se čuvaju u hladnjaku.



Slika 5. Punjenje Petrijevih zdjelica hranjivom podlogom

Izvor: Šamal, A., 2023.

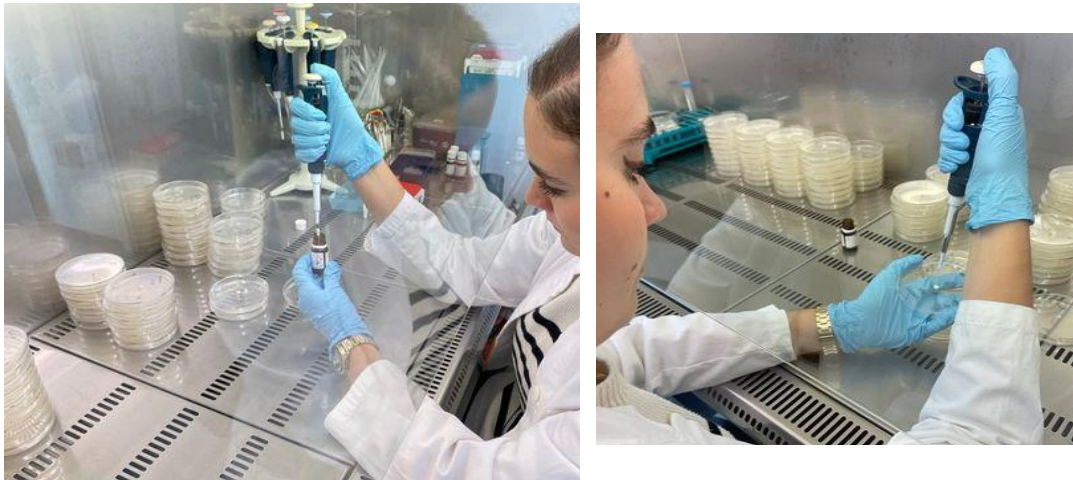
Pokus je izveden u laminaru. Prije početka, površina i sav pribor dezinficirani su etilnim alkoholom. Svaka Petrijeva zdjelica označena je datumom, nazivom gljive, nazivom primijenjenog eteričnog ulja, količinom ulja i brojem ponavljanja. Na unutrašnju stranu poklopca zdjelice postavljen je okrugli filter papir promjera 7 mm (slika 6 i 7), na koji je dodana određena koncentracija eteričnog ulja. Čista kultura gljiva *F. culmorum* i *F. oxysporum* bušena je steriliziranim metalnim kružnim rezačem uz rub zdjelice. Nakon toga, isječak kulture je nacjepljen na sredinu podloge uz pomoć dezinficirane laboratorijske igle, a zdjelica zatvorena. Pipetom su aplicirane određene vrste i količine eteričnih ulja (slika 8 i 9). Korišteno je šest vrsta eteričnih ulja: zvjezdasti anis, timijan, klinčić, slatka naranča, eukaliptus i limun, u pet različitim koncentracija: 10, 20, 50, 75 i 100  $\mu\text{L}$ , s tri ponavljanja za svaku varijantu. U kontrolnoj varijanti korištena je sterilna destilirana voda, također u tri ponavljanja.



Slika 6 i 7. Postavljanje filter papira na poklopac

Izvor: Šamal, A., 2023.

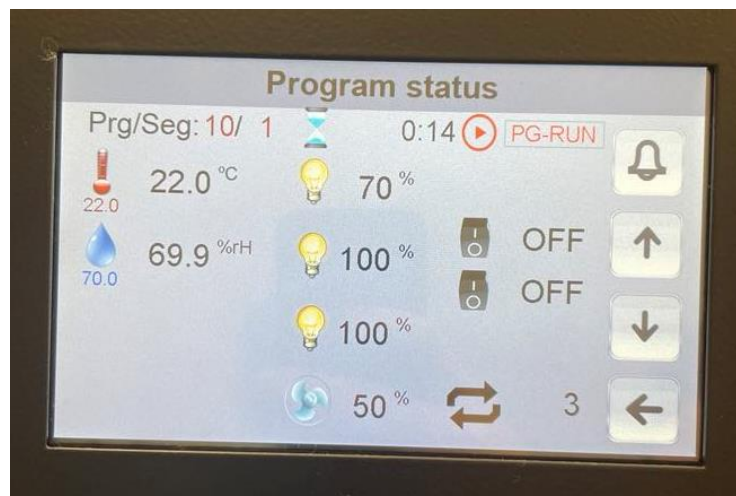




Slika 8 i 9. Aplikacija eteričnog ulja pomoću pipete

Izvor: Šamal, A., 2023.

Sve Petrijeve zdjelice premještene su u Aralab klima komoru. Na slici 10 vidljivo je podešenje komore na temperaturu od 22 °C, sa svjetlosnim ciklusom od 12 sati svjetla i 12 sati tame, te relativnom vlažnošću zraka od 70 %. Rast micelija istraživanih gljiva mjeri se nakon 72, 168 i 240 sati pomoću ravnala, vertikalno i horizontalno, na crnoj podlozi radi preciznosti. Mjerenja su provedena na svih 186 Petrijevih zdjelica. Iz tih podataka izračunava se postotak inhibicije rasta. Statistička obrada podataka izvedena je pomoću programa SAS 9.2 (SAS Inst., SAD) primjenom analize varijance ANOVA i Tukey testom ( $P \leq 0,05$ ).



Slika 10. Uvjeti u ARALAB klima komori

Izvor: Šamal, A., 2023.

### 3.2. Priprema za brojanje klijavih konidija

Nakon deset dana inkubacije, započeli smo uklanjanje micelija *F. culmorum* iz 22 Petrijeve zdjelice. Te zdjelice su odabrane jer su sadržavale gljive na čiji rast eterično ulje nije imalo značajan utjecaj. Cilj ovog postupka bio je utvrditi je li eterično ulje smanjilo broj klijavih konidija, koje su ključne za daljnje širenje bolesti. Analizom konidija mogli smo procijeniti potencijal eteričnih ulja za suzbijanje ne samo rasta gljivica, već i njihove sposobnosti reprodukcije i širenja infekcije.

Sve tri kontrole za svaku koncentraciju obrađene su na sljedeći način: micelij je uklonjen (slika 11) i stavljen u 100 mL sterilne destilirane vode, prethodno odmjerene u menzuri. Zatim se sadržaj miksao u multipraktiku kako bi se micelij usitnio (slika 12). Nakon svakog korištenja, multipraktik je temeljito opran vodom, potom destiliranom vodom, i na kraju dezinficiran alkoholom kako bi se spriječila kontaminacija i osigurala točnost rezultata. Pripremljena suspenzija micelija prebacivala se u sterilne posudice s čepom.

Iz ovih posudica je pipetom uzimana smjesa u koncentraciji od 60  $\mu$ L i stavljana u Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom (slika 13). Smjesa je ravnomjerno raspoređena laganim naginjanjem zdjelica (slika 14). Nakon pet sati inkubacije u Aralab klima komori, pregledavali smo pod mikroskopom i brojali do 60 klijavih i nekljavih konidija.



Slika 11.: Skidanje micelija *F. culmorum*

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 12. Suspenzija *F. culmorum* sa sterilnom destiliranom vodom

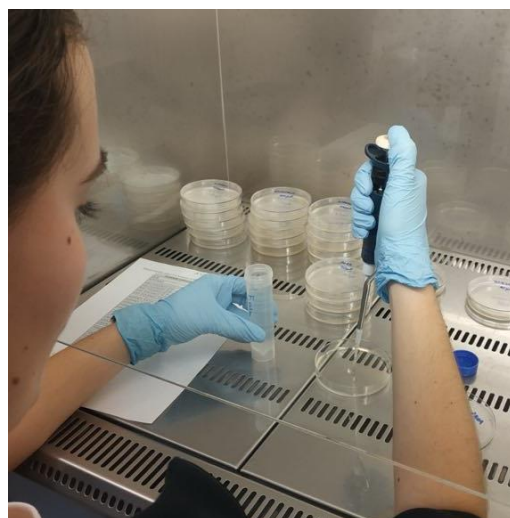
Izvor: Šamal, A.



Slika 13. Pipetiranje suspenzije

*F. culmorum*

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 14. Nacjepljivanje suspenzije

*F. culmorum*

Izvor: Šamal, A., 2023.



## 4. REZULTATI

U ovom istraživanju ispitivali smo volatilno djelovanje šest eteričnih ulja u pet različitih koncentracija na fitopatogene gljive *F. culmorum* i *F. oxysporum* u *in vitro* uvjetima nakon 72, 168 i 240 sati. Cilj je bio utvrditi razlike u rastu micelija gljiva uz primjenu različitih vrsta eteričnih ulja, kao i varijacije u rastu uz primjenu različitih količina istog eteričnog ulja. Analizirali smo promjene u rastu micelija i brojnosti konidija koje su nastale nakon određenog vremenskog perioda od primjene tretmana, kako bismo procijenili učinkovitost eteričnih ulja u suzbijanju gljivičnih infekcija.

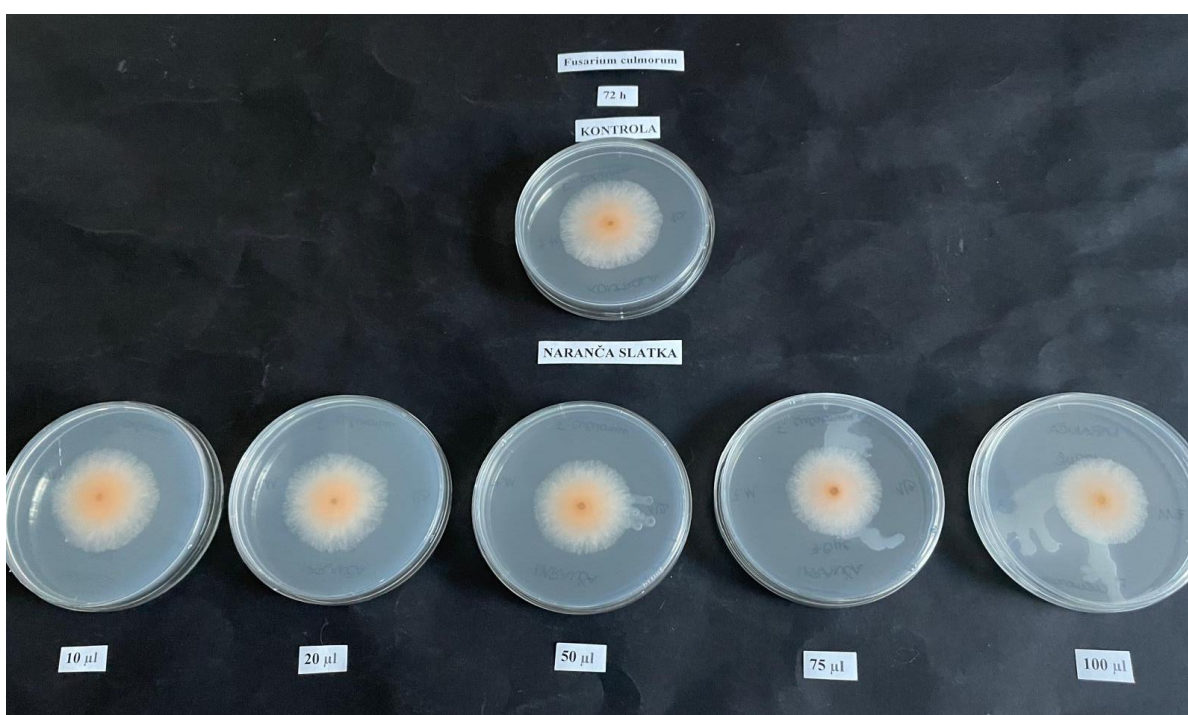
### 4.1. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. culmorum* nakon 72 sata

Rezultati prikazuju srednju vrijednost rasta micelija patogena iz tri ponavljanja  $\pm$  standardnu pogrešku aritmetičke sredine, dobivenu Tukey testom ( $P \leq 0,05$ ). Razlike između srednjih vrijednosti smatrane su značajnima ako su veće od LSD vrijednosti navedene na dnu tablice.

Tablica 1. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 72 sata.

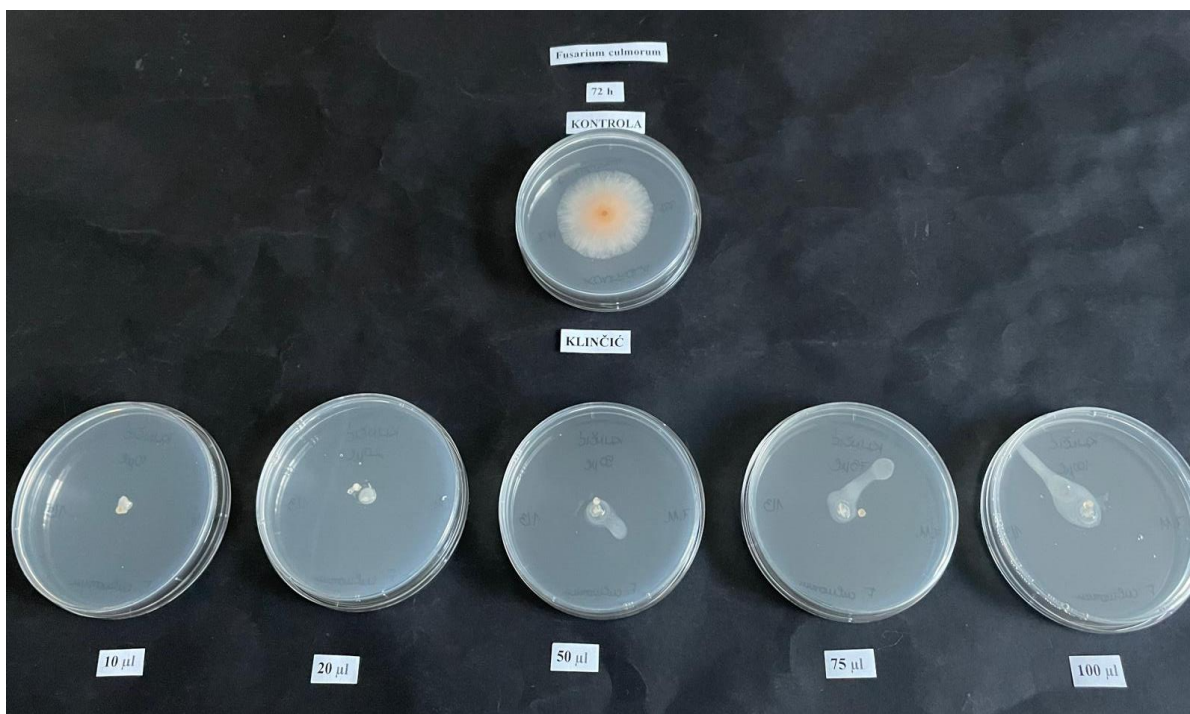
<i>Fusarium culmorum</i>						
ulje	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	75 $\mu$ L	100 $\mu$ L	LSD
Anis zvjezdasti	16,50 $\pm$ 3,122	2,67 $\pm$ 2,667	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	8,55
Timijan	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Klinčić	1,67 $\pm$ 1,667	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	3,47
Naranča slatka	39,50 $\pm$ 2,021	40,50 $\pm$ 0,866	36,00 $\pm$ 2,021	33,83 $\pm$ 0,333	34,83 $\pm$ 1,667	7,15
Eukaliptus	40,17 $\pm$ 4,206	36,50 $\pm$ 1,323	35,67 $\pm$ 2,048	21,83 $\pm$ 1,691	21,83 $\pm$ 1,202	11,00
Limun	35,17 $\pm$ 1,590	35,17 $\pm$ 0,882	35,50 $\pm$ 0,764	35,00 $\pm$ 0,866	34,83 $\pm$ 1,667	5,67
Kontrola	41,50 $\pm$ 0,764	41,50 $\pm$ 0,764	41,50 $\pm$ 0,764	41,50 $\pm$ 0,764	41,50 $\pm$ 0,764	3,56
<b>LSD 0,05</b>	11,17	6,05	5,61	3,79	5,03	

Prema podacima iz tablice 1, vidljivo je da eterična ulja anisa, timijana i klinčića pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu pri svim ispitivanim koncentracijama. To sugerira da ova tri ulja imaju snažan učinak bez obzira na primijenjenu količinu. S druge strane, eterična ulja naranče, limuna i eukaliptusa ne pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu pri nižim koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$ , što ukazuje da pri tim razinama njihovo djelovanje nije dovoljno snažno da bi se moglo statistički razlikovati od kontrolne grupe. Međutim, pri višim koncentracijama od 50, 75 i 100  $\mu\text{L}$ , postoji statistički značajna razlika. Ovi rezultati potvrđeni su prikazima na slikama 15 i 16, koje vizualno prikazuju razlike i sličnosti među ispitivanim uzorcima.



Slika 15. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja naranče u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 16. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja klinčića u svim ispitivanim koncentracijama

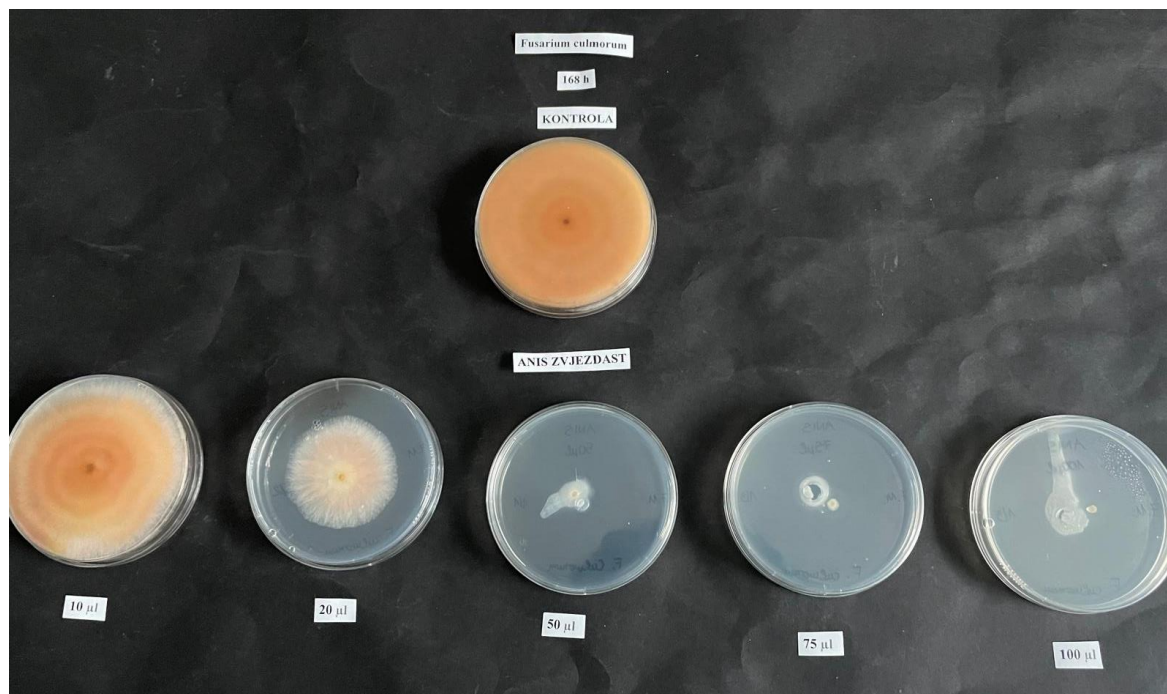
Izvor: Šamal, A., 2023.

#### 4.2. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. culmorum* nakon 168 sati

Tablica 2. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 168 sati.

<i>Fusarium culmorum</i>						
ulje	10 µL	20 µL	50 µL	75 µL	100 µL	LSD
Anis zvjezdasti	81,50 ± 4,500	49,33 ± 1,641	7,17 ± 2,205	6,00 ± 4,000	14,67 ± 8,988	23,23
Timijan	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00
Klinčić	9,67 ± 9,667	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000	20,12
Naranča slatka	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	0,00
Eukaliptus	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	0,00
Limun	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	0,00
Kontrola	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	86,00 ± 0,000	0,00
<b>LSD 0,05</b>	19,46	2,99	4,02	7,30	16,40	

Prema podacima iz tablice 2, eterično ulje anisa u koncentraciji od 10  $\mu$ L ne pokazuje statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu, dok pri višim koncentracijama postoji statistički značajna razlika. Timijan i klinčić statistički značajno inhibiraju rast micelija u odnosu na kontrolu pri svim ispitivanim koncentracijama. Eterična ulja naranče, eukaliptusa i limuna ne pokazuju nikakvu statističku razliku u odnosu na kontrolu, jer se micelij potpuno razvio pri svim koncentracijama.

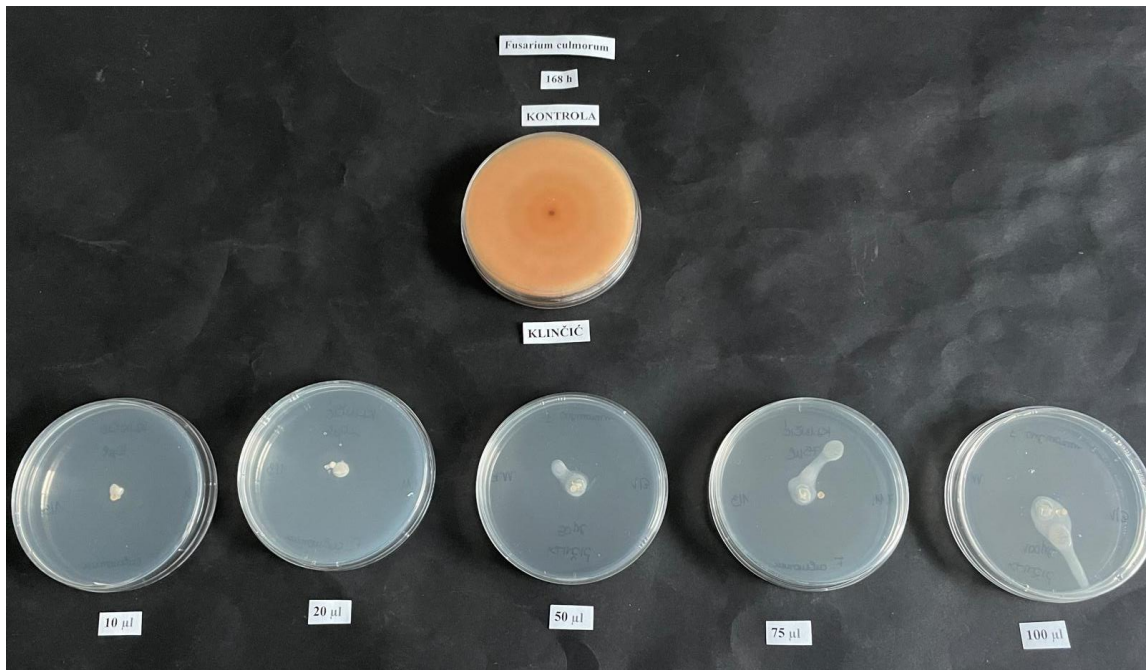


Slika 17. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja anisa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

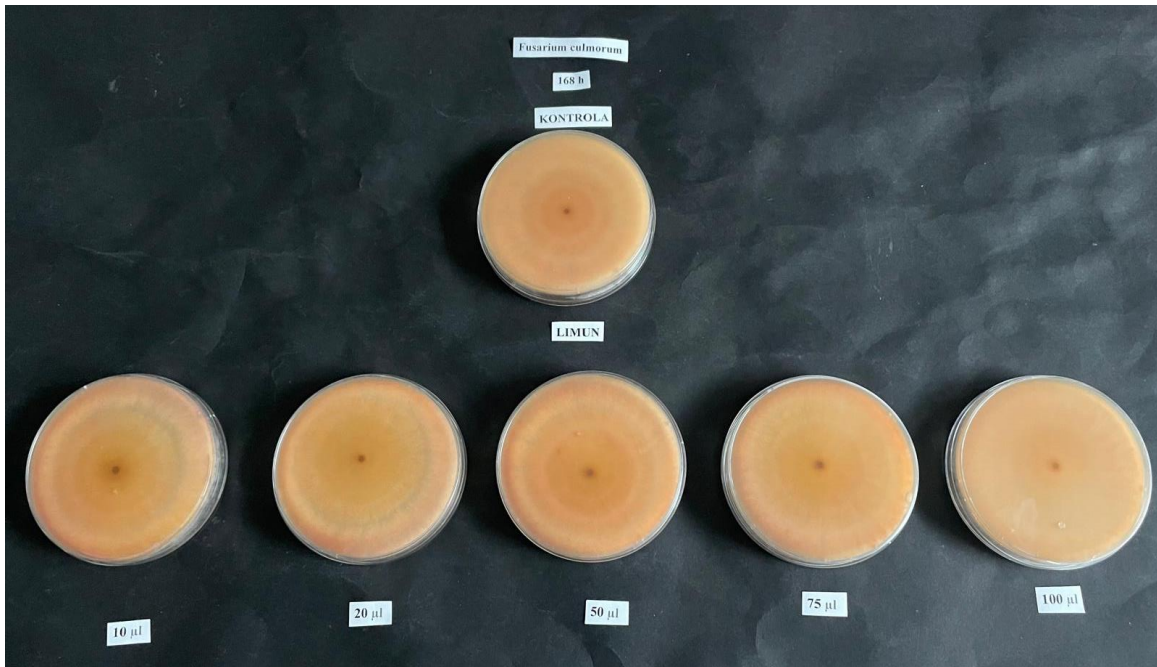
Slike 17, 18 i 19 prikazuju razvoj micelija pri različitim koncentracijama eteričnih ulja anisa, klinčića i limuna.





Slika 18. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja klinčića u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 19. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

Nakon analize prve i druge tablice, uočene su značajne razlike nakon samo 96 sati. Eterična ulja klinčića i timijana pokazala su se kao najučinkovitiji inhibitori rasta micelija. Anis je usporio rast micelija samo pri višim koncentracijama, dok su ulja limuna, naranče i eukaliptusa potpuno podržala rast micelija nakon 96 sati, ne pokazujući izraženo antifungalno djelovanje. Ovi rezultati sugeriraju da nakon određenog vremena isparavanja, antifungalna aktivnost eteričnih ulja opada.

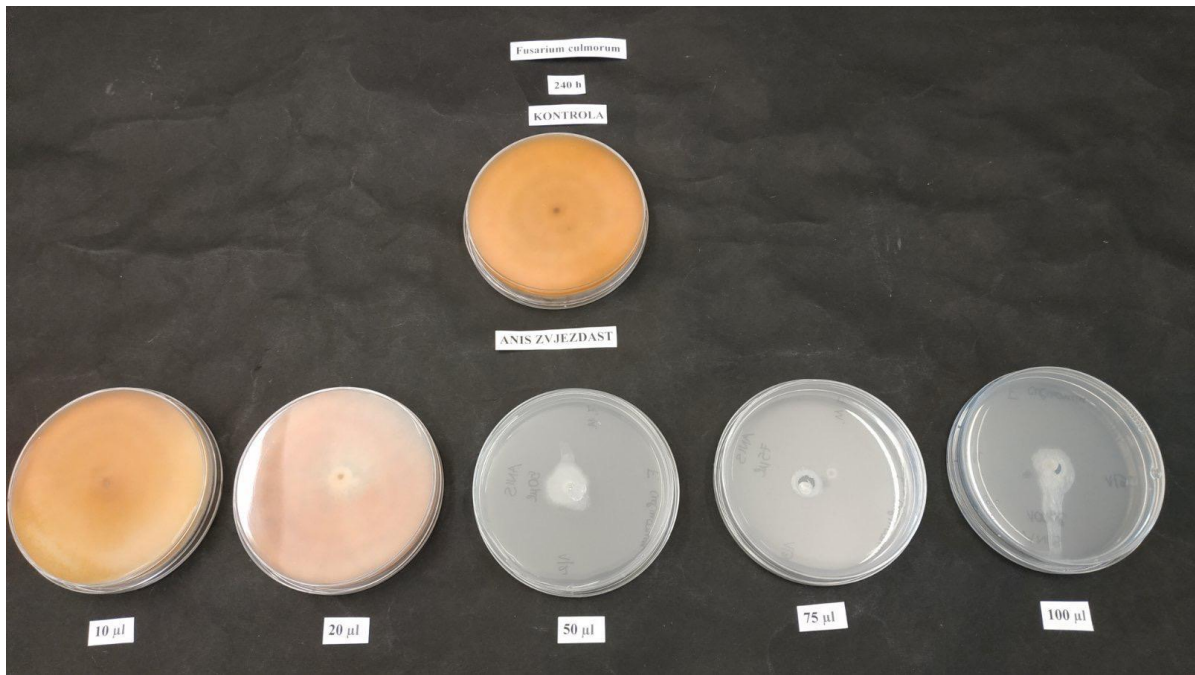
#### 4.3. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. culmorum* nakon 240 sati

Tablica 3. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 240 sati.

*Fusarium culmorum*

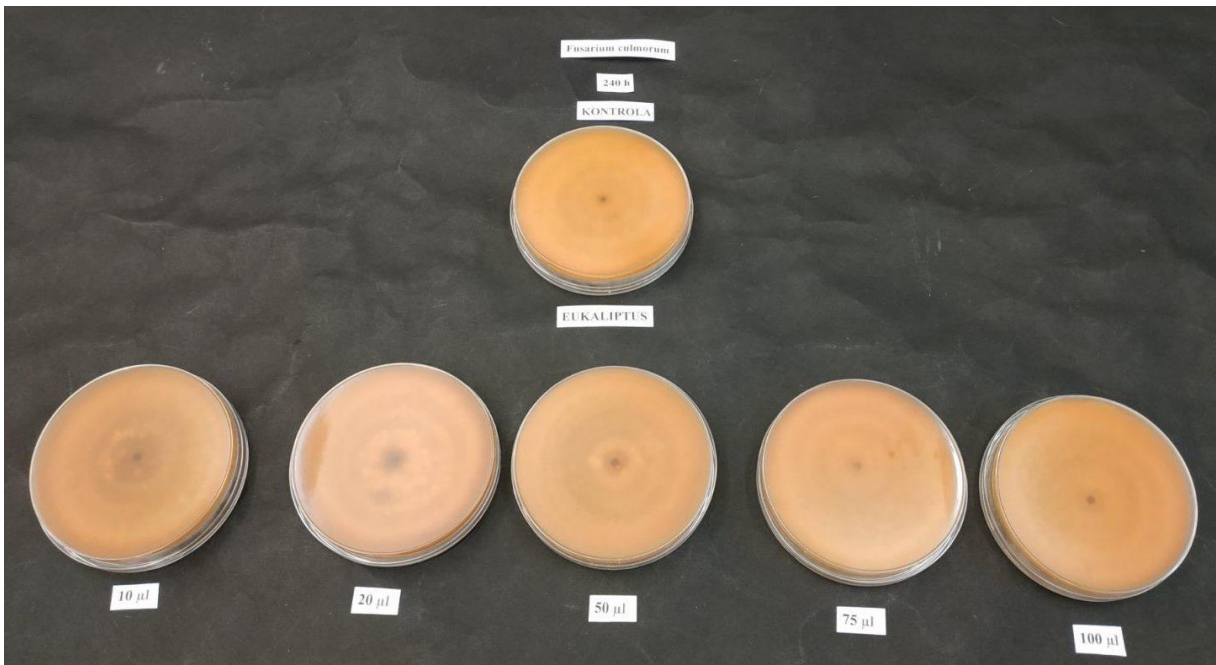
ulje	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	75 $\mu$ L	100 $\mu$ L	LSD
Anis zvjezdasti	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	24,00 $\pm$ 6,506	7,33 $\pm$ 3,844	21,33 $\pm$ 13,932	32,99
Timijan	18,00 $\pm$ 6,807	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	14,17
Klinčić	16,17 $\pm$ 16,167	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	33,65
Naranča slatka	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	0,00
Eukaliptus	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	0,00
Limun	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	0,00
Kontrola	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	86,00 $\pm$ 0,000	0,00
<b>LSD 0,05</b>	32,02	0,000001	11,88	7,016	25,43	

Treća tablica jasno pokazuje da je eterično ulje anisa slabo inhibiralo rast micelija gljive pri koncentracijama od 10 i 20  $\mu$ L, dok su se pri višim koncentracijama od 50, 75 i 100  $\mu$ L primijetile statistički značajne razlike (slika 20). Timijan i klinčić i dalje pokazuju snažan antifungalni učinak u odnosu na kontrolu. S obzirom na to da su se eterična ulja naranče, eukaliptusa i limuna već potpuno razvila nakon 168 sati, nije uočeno značajno inhibicijsko djelovanje na rast micelija, niti nakon dodatnih 72 sata (slika 21).



Slika 20. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja anisa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 21. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

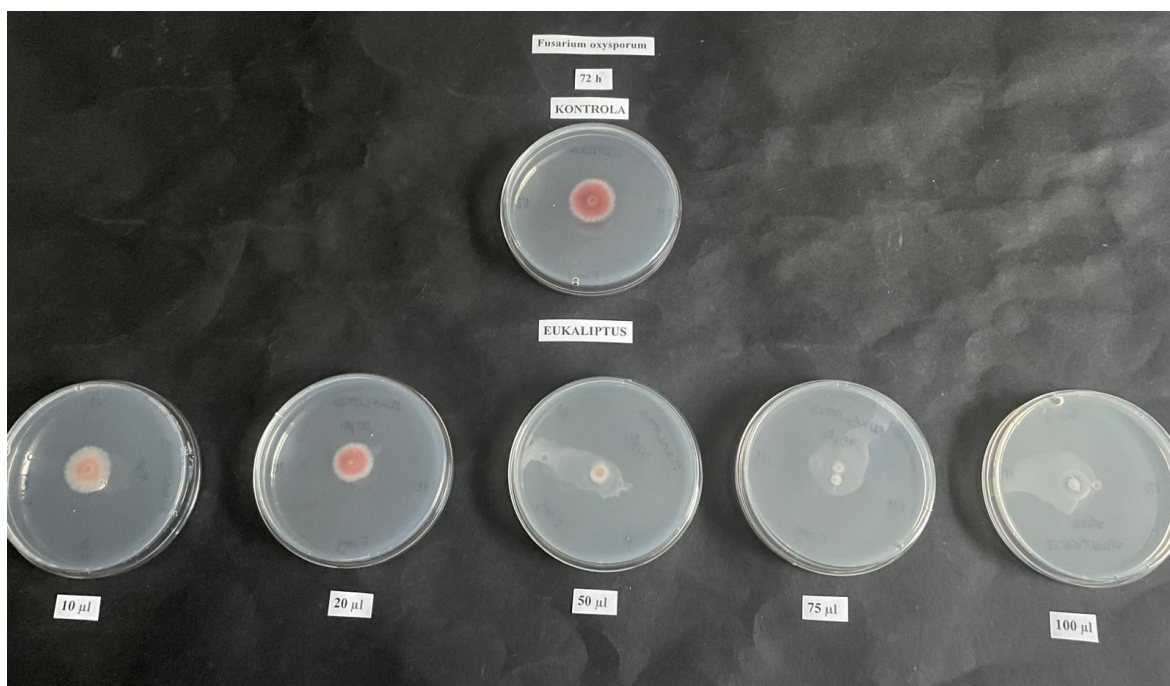
#### 4.4. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. oxysporum* nakon 72 sata

Tablica 4. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 72 sata.

<i>Fusarium oxysporum</i>						
ulje	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	75 $\mu$ L	100 $\mu$ L	LSD
Anis zvjezdasti	1,83 $\pm$ 0,167	4,50 $\pm$ 0,577	2,50 $\pm$ 1,041	1,00 $\pm$ 0,000	0,67 $\pm$ 0,333	2,56
Timijan	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Klinčić	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Naranča slatka	19,33 $\pm$ 0,726	23,00 $\pm$ 0,289	18,33 $\pm$ 0,333	13,67 $\pm$ 2,333	12,50 $\pm$ 0,577	5,31
Eukaliptus	18,83 $\pm$ 1,167	15,50 $\pm$ 1,528	6,00 $\pm$ 2,566	2,33 $\pm$ 1,302	2,33 $\pm$ 1,333	7,72
Limun	21,00 $\pm$ 0,289	21,50 $\pm$ 0,500	18,50 $\pm$ 0,289	15,00 $\pm$ 1,041	14,33 $\pm$ 0,928	3,20
Kontrola	19,50 $\pm$ 0,866	19,50 $\pm$ 0,866	19,50 $\pm$ 0,866	19,50 $\pm$ 0,866	19,50 $\pm$ 0,866	4,03
<b>LSD 0,05</b>	3,03	3,54	5,36	5,47	3,57	

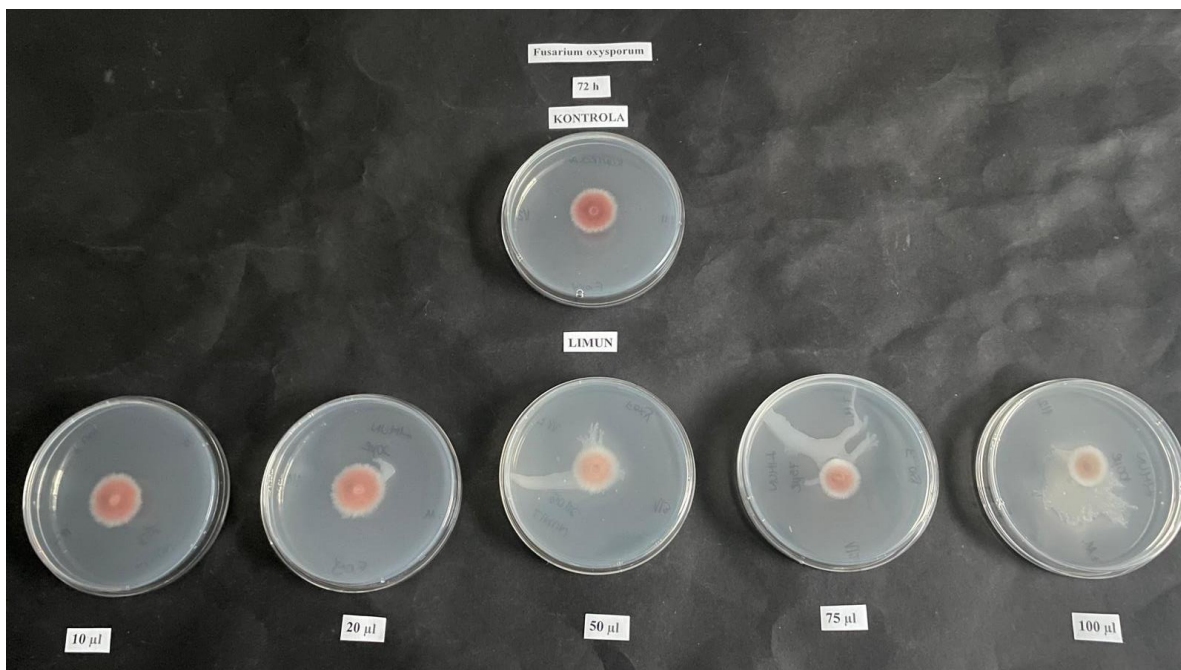
Utjecaj eteričnih ulja na *F. oxysporum*, prikazan u tablici 4, pokazuje sljedeće: anis je pokazao statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu, dok su timijan i klinčić pokazali najbolje antifungalno djelovanje u odnosu na kontrolu pri svim koncentracijama. Eterično ulje naranče je pri koncentraciji od 20  $\mu$ L povećalo rast micelija gljive, dok je pri 75 i 100  $\mu$ L pokazalo statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu. Eukaliptus u koncentraciji od 10  $\mu$ L nije pokazao statistički značajnu razliku, dok su ostale četiri koncentracije pokazale dobar inhibitorni učinak (slika 22). Pri koncentracijama od 10 i 20  $\mu$ L, eterično ulje limuna povećalo je rast micelija *F. oxysporum*, dok koncentracije od 50 i 75  $\mu$ L nisu pokazale statistički značajnu razliku. Međutim, koncentracija od 100  $\mu$ L pokazala je statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu (slika 23).





Slika 22. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 23. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama

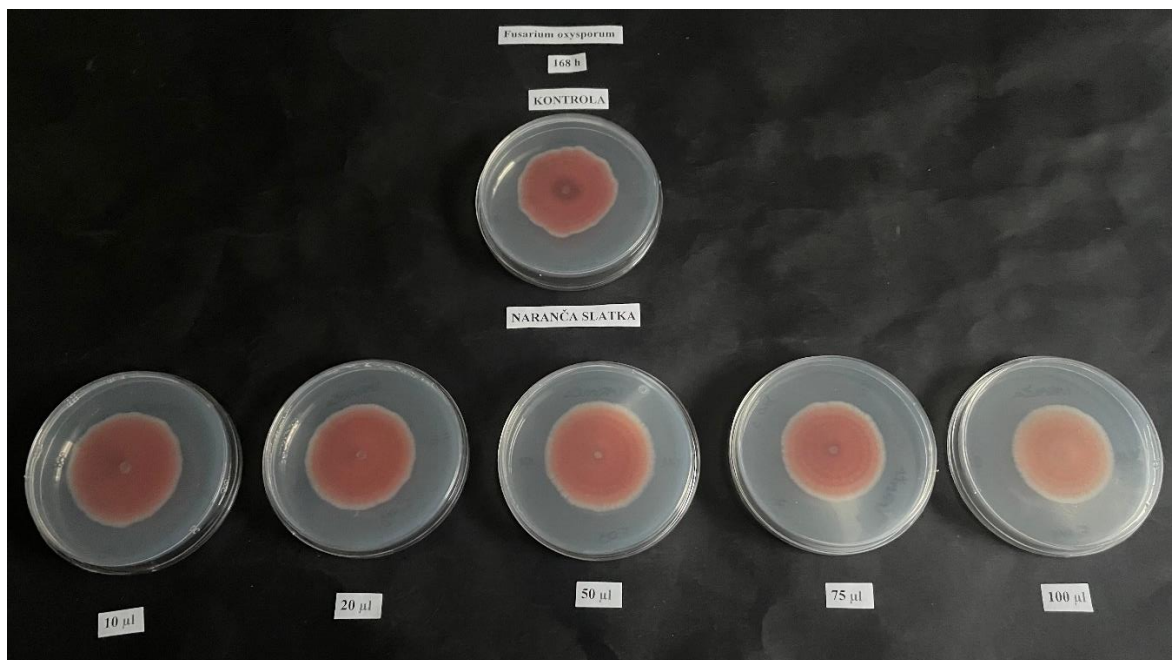
Izvor: Šamal, A., 2023.

#### 4.5. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. oxysporum* nakon 168 sati

Tablica 5. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 168 sati.

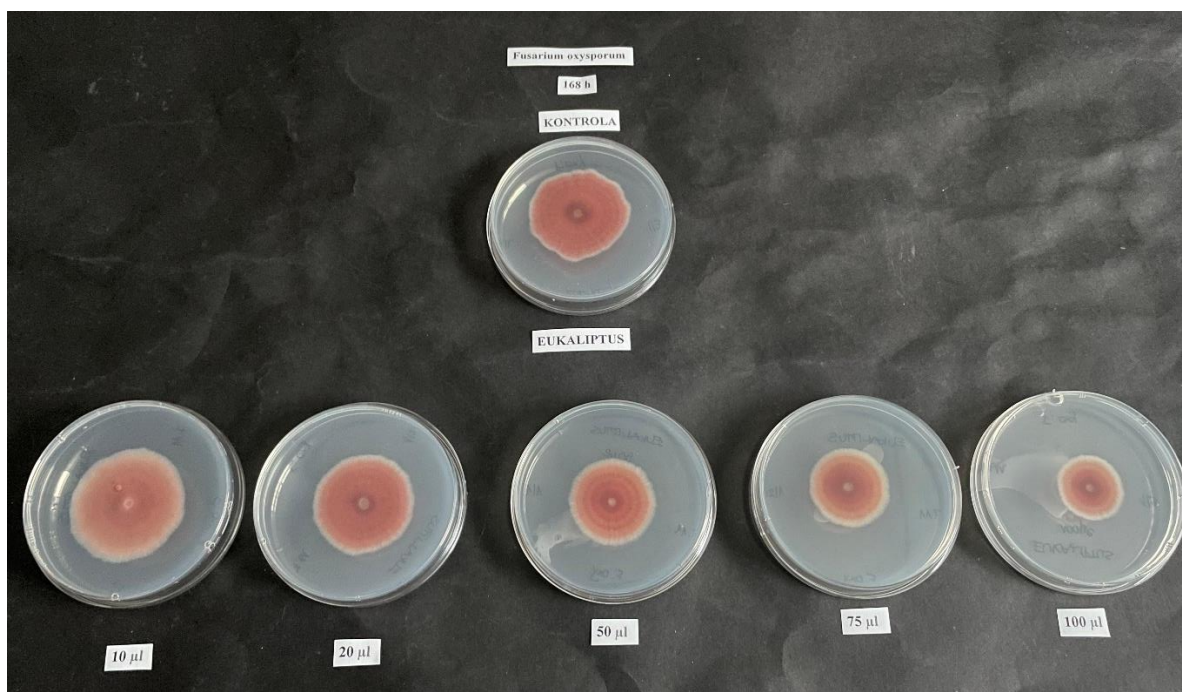
<i>Fusarium oxysporum</i>						
ulje	10 $\mu$ L	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	75 $\mu$ L	100 $\mu$ L	LSD
Anis zvezdasti	26,50 $\pm$ 1,258	26,33 $\pm$ 1,764	20,17 $\pm$ 3,371	14,50 $\pm$ 1,000	10,00 $\pm$ 4,041	12,03
Timijan	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Klinčić	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Naranča slatka	45,83 $\pm$ 0,928	48,33 $\pm$ 0,441	45,83 $\pm$ 0,667	41,50 $\pm$ 1,803	40,17 $\pm$ 0,333	4,59
Eukaliptus	46,33 $\pm$ 1,740	42,33 $\pm$ 3,114	32,67 $\pm$ 5,044	25,67 $\pm$ 5,341	28,33 $\pm$ 2,619	17,85
Limun	48,67 $\pm$ 1,691	54,00 $\pm$ 1,756	47,50 $\pm$ 2,309	42,67 $\pm$ 2,167	41,50 $\pm$ 1,756	9,09
Kontrola	44,50 $\pm$ 0,577	44,50 $\pm$ 0,577	44,50 $\pm$ 0,577	44,50 $\pm$ 0,577	44,50 $\pm$ 0,577	2,69
<b>LSD 0,05</b>	5,37	7,40	11,96	11,22	9,44	

Peta tablica prikazuje razvoj *F. oxysporum* nakon 168 sati izloženosti eteričnim uljima. Jasno je da anis pokazuje statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu pri svim testiranim koncentracijama. Eterična ulja klinčića i timijana i dalje pokazuju najbolji inhibitorni učinak. Naranča, eukaliptus i limun pokazuju stimulirajuće djelovanje u odnosu na kontrolu pri koncentraciji od 10  $\mu$ L. Na slici 24. vidljivo je da su naranča i limun pri 20 i 50  $\mu$ L također pokazali stimulirajuće djelovanje u usporedbi s kontrolom, dok se pri 75 i 100  $\mu$ L nisu statistički razlikovali od kontrolne skupine. Eterično ulje eukaliptusa (slika 25) nije pokazalo statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu pri koncentracijama od 20 i 50  $\mu$ L, dok je pri 75 i 100  $\mu$ L pokazalo statistički značajnu razliku.



Slika 24. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja naranče u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 25. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

Nakon analize prve i druge tablice, utvrđeno je da je eterično ulje anisa nakon 96 sati dovelo do rasta micelija gljive *F. oxysporum*, ali je i dalje zabilježena statistički značajna razlika u odnosu na kontrolu. Nadalje, eterična ulja klinčića i timijana pokazala su odličan inhibitorni učinak na micelij gljive. Nakon 96 sati, naranča je pri koncentracijama od 10, 20 i 50  $\mu\text{L}$  pokazala stimulirajuće djelovanje u odnosu na prethodno mjerenje, pri čemu je samo pri koncentraciji od 20  $\mu\text{L}$  zabilježen rast micelija. Eukaliptus je, u odnosu na prethodno mjerenje, pri koncentraciji od 10  $\mu\text{L}$  pokazao stimulirajuće djelovanje. Limun je nakon 96 sati pri koncentracijama od 10, 20 i 50  $\mu\text{L}$  pokazao stimulirajuće djelovanje, dok je u odnosu na ranije mjerenje zabilježen rast micelija *F. oxysporum* samo pri koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$ . Naranča i limun su u prvom mjerenju nakon 72 sata pokazali statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu pri najvišoj koncentraciji, dok se nakon 96 sati nisu statistički značajno razlikovali od kontrole.

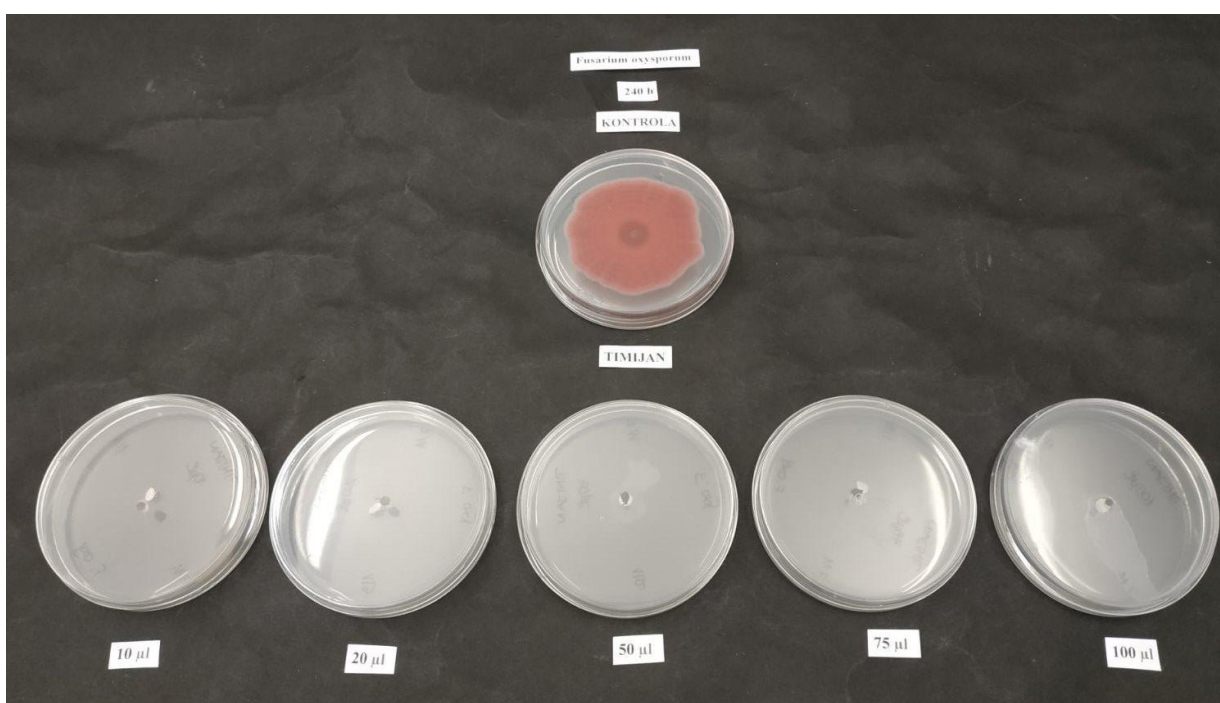
#### 4.6. Inhibitorno djelovanje eteričnih ulja na porast gljive *F. oxysporum* nakon 240 sati

Tablica 6. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 240 sati.

<i>Fusarium oxysporum</i>						
ulje	10 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	75 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	LSD
Anis zvjezdasti	47,17 $\pm$ 1,202	48,83 $\pm$ 3,180	38,83 $\pm$ 4,106	31,00 $\pm$ 1,528	23,50 $\pm$ 3,617	13,78
Timijan	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Klinčić	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00 $\pm$ 0,000	0,00
Naranča slatka	66,17 $\pm$ 1,764	65,00 $\pm$ 0,577	63,17 $\pm$ 0,601	59,67 $\pm$ 1,202	58,33 $\pm$ 1,202	5,39
Eukaliptus	62,83 $\pm$ 1,453	58,83 $\pm$ 3,930	51,67 $\pm$ 6,173	43,50 $\pm$ 6,292	46,83 $\pm$ 2,682	21,07
Limun	63,67 $\pm$ 2,186	72,00 $\pm$ 2,646	63,83 $\pm$ 3,005	59,67 $\pm$ 2,167	58,33 $\pm$ 1,691	11,09
Kontrola	63,50 $\pm$ 2,500	63,50 $\pm$ 2,500	63,50 $\pm$ 2,500	63,50 $\pm$ 2,500	63,50 $\pm$ 2,500	11,64
<b>LSD 0,05</b>	7,68	11,42	15,34	13,45	10,14	

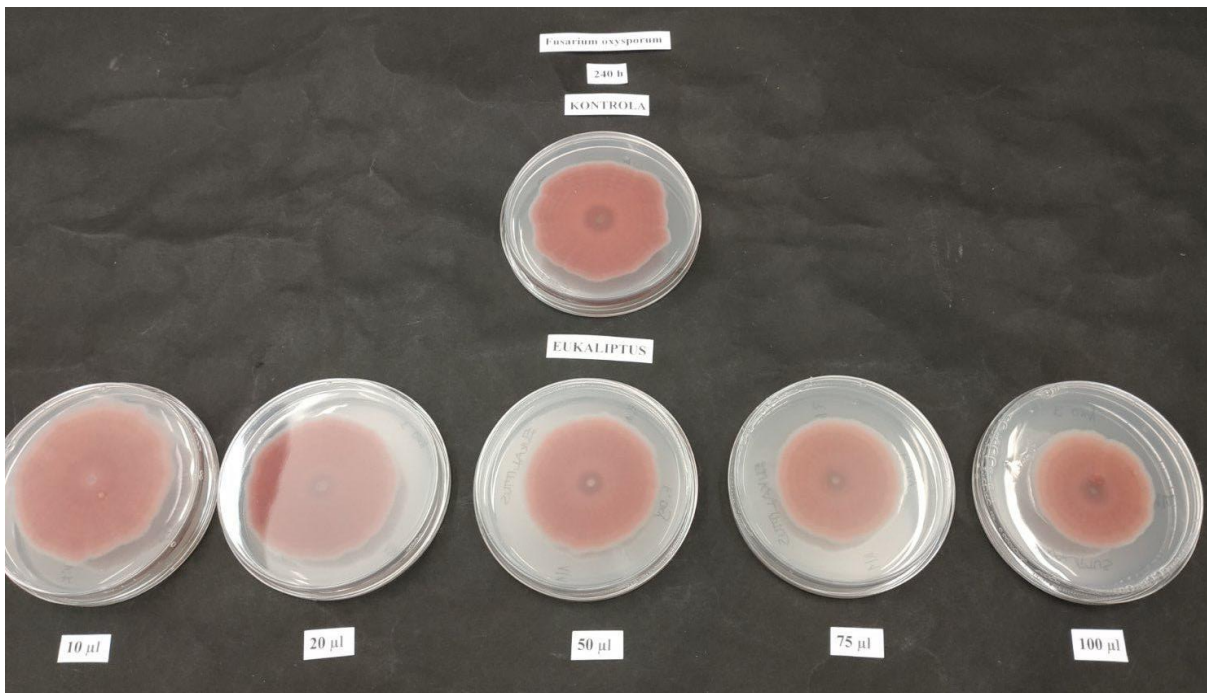


Tablica 6 prikazuje kako su eterična ulja timijana i klinčića, čak i nakon 240 sati, ostala najučinkovitija u inhibiranju rasta micelija gljive *F. oxysporum* (slika 26). Eterično ulje anisa pokazuje statistički značajnu razliku pri svim koncentracijama u odnosu na kontrolu. Eterično ulje naranče pri koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$  ima stimulirajući učinak u odnosu na kontrolu, dok ostale koncentracije ne pokazuju statistički značajnu razliku. Eterično ulje eukaliptusa nema statistički značajnu razliku pri koncentracijama od 10, 20 i 50  $\mu\text{L}$ , dok koncentracije od 75 i 100  $\mu\text{L}$  pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu (slika 27). Eterično ulje limuna pri koncentracijama od 10, 20 i 50  $\mu\text{L}$  djeluje stimulirajuće na rast micelija gljive, dok ostale koncentracije ne pokazuju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolu (slika 28).



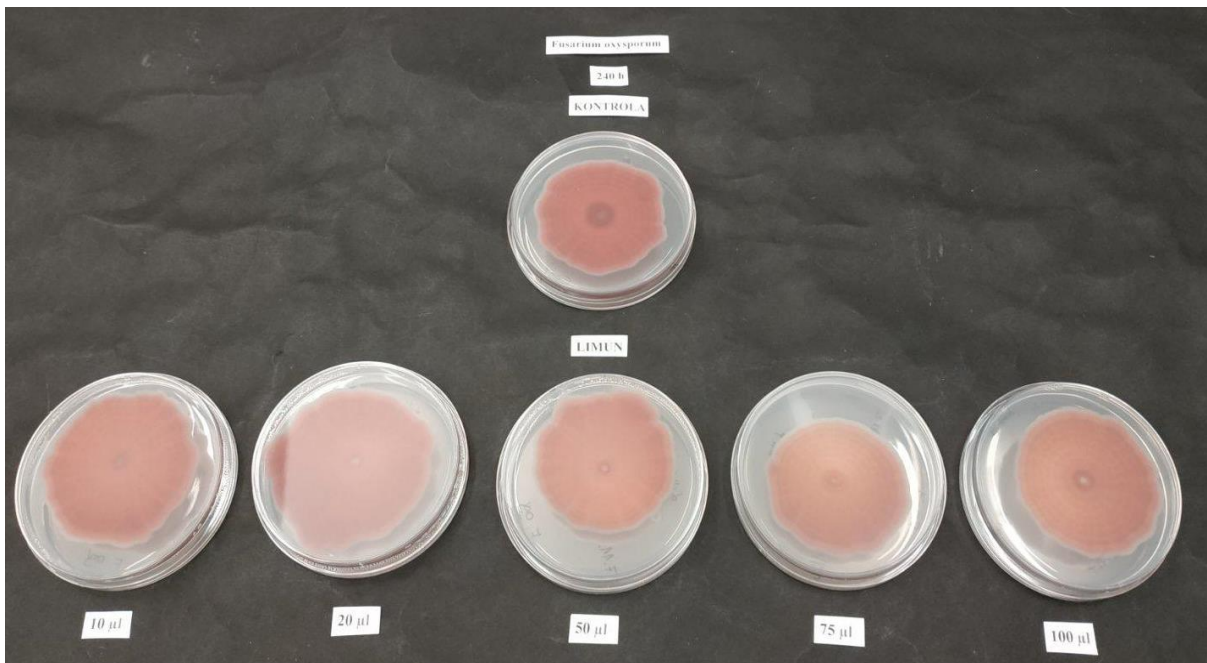
Slika 26. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja timijana u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.



Slika 27. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

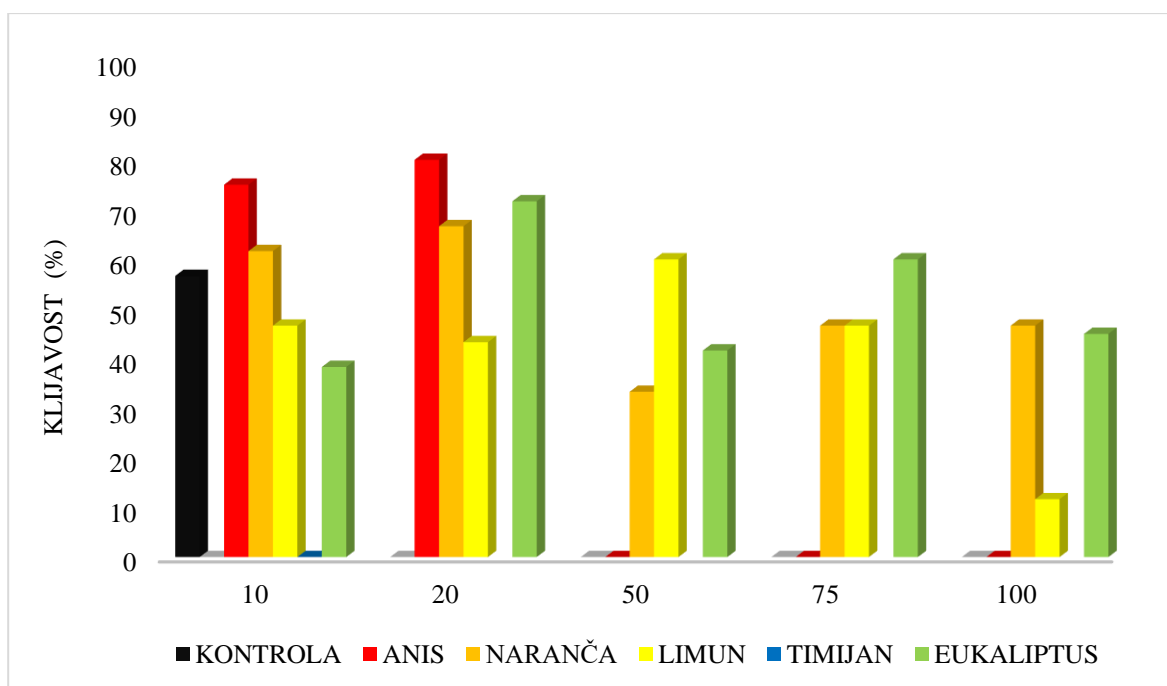


Slika 28. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama

Izvor: Šamal, A., 2023.

#### 4.7. Utjecaj eteričnih ulja na klijavost gljive *Fusarium culmorum*

Ovaj postupak je proveden kako bismo utvrdili smanjuje li eterično ulje broj klijavih konidija, koje su ključne za širenje gljive *F. culmorum*. Testirali smo eterična ulja anisa, slatke naranče, eukaliptusa i limuna u različitim koncentracijama od 10, 20, 50, 75 i 100  $\mu\text{L}$ , te eterično ulje timijana u koncentraciji od 10  $\mu\text{L}$ . Rezultati su pokazali da ova ulja nisu imala inhibitorni učinak na rast gljivica. Unatoč tome, odabrali smo pet eteričnih ulja za daljnja mjerenja kako bismo procijenili njihovu učinkovitost u sprječavanju širenja infekcije. Iako rast micelija nije bio inhibiran, analizom klijavih konidija mogli smo vidjeti mogu li ova ulja smanjiti sposobnost gljivice za reprodukciju i širenje.



Grafikon 1. Postotak klijavosti *F. culmorum* pri djelovanju pet različitih eteričnih ulja

Prema grafikonu 1, klijavost konidija je dobivena prema ukupnom broju pronađenih klijavih konidija podijeljeno s ukupnim brojem konidija (u ovom slučaju 60). Grafikon prikazuje da je, u odnosu na kontrolu s 56 % klijavih konidija, eterično ulje anisa pokazalo više od 75 % klijavih konidija pri koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$ . Eukaliptus pri 20  $\mu\text{L}$  ima 71 % klijavih konidija. Eterična ulja naranče pri 10 i 20  $\mu\text{L}$ , limuna pri 50  $\mu\text{L}$  i eukaliptusa pri 75  $\mu\text{L}$  imaju između 60 i 67 % klijavih konidija. Manje od 47 % klijavih konidija zabilježeno je za naranču pri 75 i 100  $\mu\text{L}$ , limun pri 10, 20 i 75  $\mu\text{L}$  te eukaliptusu pri 50 i 100  $\mu\text{L}$ . Manje od 38 % klijavih konidija

ima eukaliptus pri 10  $\mu\text{L}$  i naranča pri 50  $\mu\text{L}$ . Pri 100  $\mu\text{L}$ , eterično ulje limuna ima 12 % klijavih konidija. Nema klijavih konidija pri 10  $\mu\text{L}$  timijana, te pri 50, 75 i 100  $\mu\text{L}$  anisa.

Zaključeno je da su ulje anisa pri višim koncentracijama i ulje timijana pri najnižoj koncentraciji pokazali najbolji učinak među eteričnim uljima, jer su, unatoč razvoju micelija gljiva, uspješno spriječili širenje infekcije putem konidija. S druge strane, neka druga ulja, poput anisa u nižim koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$ , te eukaliptusa, naranče i limuna, pokazala su povećan broj klijavih konidija u usporedbi s kontrolnom varijantom. Međutim, kod limuna u najvišoj koncentraciji zabilježeno je smanjenje postotka klijavih konidija



## 5. RASPRAVA

Korištenje kemijskih fungicida i dalje je najučinkovitiji način zaštite od biljnih bolesti. Međutim, često korištenje kemijskih fungicida ima ozbiljne nedostatke, poput opasnosti pri rukovanju, ostataka u hrani, razvoja rezistencije, narušavanja ekosustava i rizika za ljudsko zdravlje. Zbog toga se traže alternativne nekemijske metode zaštite bilja, koje ne bi imale negativne učinke kao kemijski fungicidi. U tom kontekstu, provode se brojna istraživanja o ekološki prihvatljivim biofungicidima, kako bi se pronašla učinkovita rješenja koja su sigurna za okoliš i ljudsko zdravlje (Švitek i sur. 2024.).

Istraživanje provedeno u Centralnoj agrobiotehničkoj analitičkoj jedinici na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku pokazalo je da antifungalno djelovanje eteričnih ulja ovisi o vrsti fitopatogene gljivice (*F. culmorum* i *F. oxysporum*). Naši rezultati ukazuju da učinkovitost ulja može varirati ovisno o primijenjenoj količini ulja, vrsti eteričnog ulja i trajanju inkubacije.

Istraživanja drugih autora također potvrđuju naše zaključke. Švitek i sur., (2024.) istraživanjem su došli do rezultata da eterično ulje timijana potpuno inhibira rast gljive nakon 168 sati u svim količinama. Ostala ulja nisu pokazala takvu učinkovitost, jer je zabilježen rast micelija *F. culmorum*. Analizom rasta micelija nakon 48, 120 i 168 sati utvrđene su statistički značajne razlike pri različitim volumnim udjelima ulja (0,02 %, 0,06 %, 0,1 %). Timijan je pokazao snažnije antifungalno djelovanje u odnosu na naranču i anis, posebno pri većim koncentracijama. Ulje limuna, naranče i ružmarina također je omogućilo bolji rast gljive u odnosu na timijan pri određenim udjelima. Zaključak istraživanja je da učinak eteričnih ulja na rast micelija *F. culmorum* ovisi o vrsti i količini ulja, s tim da se antifungalno djelovanje povećava s količinom. Najjače djelovanje imali su ulja timijana i anisa.

Palfi i sur., (2018.) istražili su utjecaj pet različitih eteričnih ulja (anis, paprena metvica, bosiljak, ružmarin i lavanda) i njihovih glavnih komponenti na rast micelija *Colletotrichum coccodes*. Nakon osam dana, ulja anisa, paprene metvice, lavande, bosiljka i anetol potpuno su inhibirala rast micelija pri najvišim koncentracijama, nadmašivši fungicide Dithane M45 i Ortiva Top. Kasnije je utvrđeno da lavanda nije uspjela potpuno inhibirati rast micelija ni pri najvećoj koncentraciji, dok anetol nije potpuno zaustavio rast micelija petnaestog dana, ali je pokazao smanjenje pri 70 µL/10 mL PDA u usporedbi s fungicidima. Zaključeno je da neka eterična ulja

i komponente pokazuju izrazito antifungalno djelovanje, često efikasnije od fungicida. Najbolje rezultate u inhibiciji rasta i najniže  $IC_{50}$  vrijednosti postigli su ulja anisa i paprene metvice te anetol.

Prema istraživanju Palfi (2017.), eterično ulje timijana potpuno je inhibiralo rast micelija *F. oxysporum* pri volumenu od 7  $\mu$ L, dok je ulje komorača postiglo isti učinak pri 15  $\mu$ L, a ulja paprene metvice i anisa pri 30  $\mu$ L. Eterična ulja čajevca i prave lavande potpuno su zaustavila rast micelija pri volumenu od 50  $\mu$ L, dok je ulje bosiljka bilo učinkovito pri 70  $\mu$ L. Eterična ulja ružmarina, limuna i eukaliptusa nisu inhibirala rast micelija ni pri najvišim primijenjenim volumenima. Rezultati su pokazali da su ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa, čajevca, prave lavande i bosiljka, u određenim količinama, imala jednaki učinak kao fungicid Prosaro EC 250, koji je također potpuno inhibirao rast micelija.

Dosadašnja istraživanja, uključujući i naše istraživanje, pokazala su da eterična ulja timijana i klinčića učinkovito inhibiraju rast i razvoj micelija *F. culmorum* i *F. oxysporum* u gotovo svim ispitivanim koncentracijama. Rezultati potvrđuju potencijal ovih ulja kao snažnih antifungalnih sredstava. Nasuprot tome, eterična ulja limuna, slatke naranče i eukaliptusa nisu pokazala značajan inhibitorni učinak na rast micelija. Učinkovitost eteričnih ulja u suzbijanju fitopatogenih gljivica može značajno varirati ovisno o vrsti ulja, vrsti gljivice i primijenjenoj koncentraciji.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju istraživanja, koja su imala za cilj ispitati djelovanje šest eteričnih ulja (limuna, slatke naranče, eukaliptusa, klinčića, timijana i anisa zvjezdastog) na rast gljiva *F. culmorum* i *F. oxysporum*, donijeti su sljedeći zaključci:

1. Najbolje antifungalno djelovanje na sve ispitivane fitopatogene gljivice pokazala su eterična ulja timijana i klinčića. Ta su ulja već nakon 72 sata potpuno inhibirala rast micelija kod obje gljive.
2. Povećanjem volumena primijenjenih eteričnih ulja, uočeno je usporavanje rasta micelija. Najizraženiji učinak zabilježen je pri volumenu od 100  $\mu\text{L}$ , dok su najmanji učinci bili vidljivi pri najnižim koncentracijama.
3. Rezultati mjerenja promjera micelija *F. culmorum* i *F. oxysporum* pokazali su da je rast micelija smanjen s povećanjem primijenjenih volumena eteričnih ulja.
4. Djelotvornost eteričnih ulja varira ovisno o njihovoj vrsti i koncentraciji primijenjenih ulja.
5. Ovisno o dužini inkubacije, uočavaju se značajne promjene u rezultatima, s tendencijom smanjenja učinkovitosti eteričnih ulja pri produljenju inkubacije.
6. Učinkovitost eteričnih ulja u borbi protiv gljivičnih infekcija može varirati ovisno o specifičnoj vrsti gljivice koja se tretira.
7. Neka eterična ulja mogu stimulirati rast micelija gljiva.
8. Eterična ulja slatke naranče, limuna i eukaliptusa pokazala su najslabije djelovanje na ispitivane gljive.
9. Anis pri višim koncentracijama i timijan pri najnižoj koncentraciji pokazali su sposobnost sprečavanja širenja infekcije putem konidija.
10. Anis pri nižim koncentracijama od 10 i 20  $\mu\text{L}$ , kao i eukaliptus, naranča i limun, pokazali su povećan broj klijavih konidija u odnosu na kontrolnu varijantu

Ovi zaključci ističu važnost pažljivog odabira vrste i koncentracije eteričnog ulja za učinkovitu kontrolu rasta fitopatogenih gljiva.

## 7. LITERATURA

1. Ben-Jabeur, M., Ghabri, E., Myriam, M., Hamada, W. (2015.): Thyme essential oil as a defense inducer of tomato against gray mold and *Fusarium* wilt. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.05.006>
2. Davari, M., Ezazi, R. (2022.): Mycelial inhibitory effects of antagonistic fungi, plant essential oils and propolis against five phytopathogenic *Fusarium* species. Archives of Microbiology, 204(8), 480. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03102-6>
3. Divband, K., Shokri, H., Khosravi, A. R. (2017.): Down-regulatory effect of *Thymus vulgaris* L. on growth and Tri4 gene expression in *Fusarium oxysporum* strains. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.01.011>
4. Dutta, A., Mandal, A., Kundu, A., Malik, M., Chaudhary, A., Khan, M. R., Shanmugam, V., Rao, U., Saha, S., Patanjali, N., Kumar, R., Kumar, A., Dash, S., Singh, P. K., Singh, A. (2021.): Deciphering the behavioral response of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* toward mustard essential oil. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.714730>
5. Ćosić, J., Vrandečić, K. (2003.): Fuzarijske bolesti pšenice // Glasilo biljne zaštite, 5 (2003.), 284-288-x
6. Ferreira, F. M. D., Hirooka, E. Y., Ferreira, F. D., Silva, M. V., Mossini, S. A. G., Machinski, M. Jr. (2018.): Effect of *Zingiber officinale* Roscoe essential oil in fungus control and deoxynivalenol production of *Fusarium graminearum* Schwabe *in vitro*. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1520397>
7. Karapetsi, L., Pratsinakis, E., Xirakias, F., Osathanunkul, M., Vagelas, I., Madesis, P. (2022.): ITS metabarcoding reveals the effects of oregano essential oil on *Fusarium oxysporum* and other fungal species in soil samples. <https://doi.org/10.3390/plants12010062>
8. Khaleil, M. M., Alnoman, M. M., Abd Elrazik, E. S., Zaghloul, H., Khalil, A. M. A. (2021.): Essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. as a green fungicide and defense-inducing agent against *Fusarium* root rot disease in *Vicia faba* L. <https://doi.org/10.3390/biology10080696>
9. Krzyśko-Łupicka, T., Sokół, S., Sporek, M., Piekarska-Stachowiak, A., Walkowiak-Lubczyk, W., Sudoł, A. (2021.): Effectiveness of the influence of selected essential oils on the growth of parasitic *Fusarium* isolated from wheat kernels from Central Europe. <https://doi.org/10.3390/molecules26216488>

10. Leksikografski zavod Miroslav Krleža (2013.– 2024.): Autoklav. U Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/autoklav>
11. Medina-Romero, Y. M., Rodriguez-Canales, M., Rodriguez-Monroy, M. A., Hernandez-Hernandez, A. B., Delgado-Buenrostro, N. L., Chirino, Y. I., Cruz-Sanchez, T., Garcia-Tovar, C. G., Canales-Martinez, M. M. (2022.): Effect of the essential oils of *Bursera morelensis* and *Lippia graveolens* and five pure compounds on the mycelium, spore production, and germination of species of *Fusarium*. <https://doi.org/10.3390/jof8060617>
12. Nešić, K., Ivanović, S., Nešić, V. (2014.): Fusarial toxins: secondary metabolites of *Fusarium* fungi 10.1007/978-3-319-01619-1\_5
13. Palfi, M. (2017.): Antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice u *in vitro* uvjetima (Doktorska disertacija). Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Zaštita prirode i okoliša, Osijek. <https://www.bib.irb.hr:8443/931632>
14. Palfi, M., Konjevoda, P., Vrandečić, K. i Ćosić, J. (2018.): Antifungal activity of essential oils and their major components on mycelial growth of *Colletotrichum coccodes*. *Poljoprivreda*, 24 (2), 20-26. <https://doi.org/10.18047/poljo.24.2.3>
15. Perczak, A., Gwiazdowska, D., Marchwińska, K., Juś, K., Gwiazdowski, R., Waškiewicz, A. (2019.): Antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. *Archives of Microbiology*, 201: 1085-1097. 10.1007/s00203-019-01673-5
16. Sharma, A., Rajendran, S., Srivastava, A., Sharma, S., Kundu, B. (2017.): Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.011>
17. Švitek, M., Ćosić, D., Varga, M., Ergović, L. i Vrandečić, K. (2024.): Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Fusarium culmorum*. *Glasnik Zaštite Bilja*, 47. (3.), 50-54. <https://doi.org/10.31727/gzb.47.3.5>
18. Tyśkiewicz, K., Tyśkiewicz, R., Konkol, M., Rój, E., Jaroszuk-Ściśeł, J., Skalicka-Woźniak, K. (2019.): Antifungal properties of *Fucus vesiculosus* L. supercritical fluid extract against *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum*. <https://doi.org/10.3390/molecules24193518>

19. Zhang, J., Zhao, Z., Liang, W., Bi, J., Zheng, Y., Gu, X., Fang, H. (2022.): Essential oil from *Sabina chinensis* leaves: A promising green control agent against *Fusarium* sp. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1006303>
20. Zoratto Romoli, J. C., Veronezi Silva, M., Pante, G. C., Hoeltgebaum, D., Castro, J. C., da Rocha, G. H. O., Capoci, I. R. G., Nerilo, S. B., Mossini, S. A. G., da Gloria, E. M., Svidzinski, T. I. E., Mikcha, J. M. G., Machinski Junior, M. (2021.): Anti-mycotoxigenic and antifungal activity of ginger, turmeric, thyme and rosemary essential oils in deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEA) producing *Fusarium graminearum* <https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1996636>

## 8. SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati antifungalno djelovanje šest različitih eteričnih ulja: anisa, klinčića, timijana, limuna, naranče i eukaliptusa na porast dvije vrste gljiva, *F. culmorum* i *F. oxysporum*, pri njihovom volatilnom djelovanju. Istraživanje je provedeno kako bi se utvrdilo koje ulje ima najjače inhibitorno djelovanje na rast micelija tih gljiva te kako količina primijenjenog ulja utječe na antifungalnu učinkovitost. Rezultati su pokazali da su ulja timijana i klinčića imala najjače antifungalno djelovanje. Oba ulja značajno su inhibirala rast micelija kod obje vrste gljiva pri svim ispitivanim količinama (10, 20, 50, 75 i 100  $\mu$ L). Sljedeće po učinkovitosti bilo je eterično ulje anisa, koje je također pokazalo značajno antifungalno djelovanje. Uočeno je da se učinkovitost ovog ulja povećavala proporcionalno s povećanjem količine primjene, što sugerira da veće koncentracije ulja anisa mogu biti potrebne za postizanje optimalnog antifungalnog učinka. Suprotno tome, eterična ulja limuna, naranče i eukaliptusa nisu pokazala značajan inhibitorni učinak na rast gljiva *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Bez obzira na primijenjenu količinu i vrijeme izlaganja, ova ulja nisu uspjela spriječiti rast micelija u usporedbi s kontrolnim uzorcima.

Ključne riječi: *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, eterična ulja, inhibitorno djelovanje

## 9. SUMMARY

The aim of this research was to test the antifungal effect of six different essential oils: anise, clove, thyme, lemon, orange and eucalyptus on the growth of two types of fungi, *F. culmorum* and *F. oxysporum*, during their volatile action. The research was conducted to determine which oil has the strongest inhibitory effect on the growth of the mycelium of these fungi and how the amount of applied oil affects the antifungal effectiveness. The results showed that thyme and clove oils had the strongest antifungal activity. Both oils significantly inhibited mycelial growth in both types of mushrooms at all tested amounts (10, 20, 50, 75 and 100  $\mu\text{L}$ ). Next in effectiveness was anise essential oil, which also showed significant antifungal activity. It was observed that the effectiveness of this oil increased proportionally with the amount of application, suggesting that higher concentrations of anise oil may be required to achieve optimal antifungal effect. In contrast, essential oils of lemon, orange and eucalyptus did not show a significant inhibitory effect on the growth of *F. culmorum* and *F. oxysporum*. Regardless of the amount applied and exposure time, these oils failed to inhibit mycelial growth compared to control samples.

Key words: *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, essential oils, inhibitory action



## 10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 72 sata.

Tablica 2. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 168 sati.

Tablica 3. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. culmorum* nakon 240 sati.

Tablica 4. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 72 sata.

Tablica 5. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 168 sati.

Tablica 6. Inhibitorno djelovanje šest eteričnih ulja na porast micelija gljive *F. oxysporum* nakon 240 sati.

## 11. POPIS SLIKA

Slika 1. Sastojci za izradu hranjive podloge (Šamal, A., 2023.)

Slika 2. Sterilizacija Erlenmeyerovih tikvica u autoklavu (Batrnek, N., 2023.)

Slika 3. Mjerenje temperature podloge (Šamal, A., 2023.)

Slika 4. Antibiotik (Šamal, A., 2023.)

Slika 5. Punjenje Petrijevih zdjelica hranjivom podlogom (Šamal, A., 2023.)

Slika 6 i 7. Postavljanje filter papira na poklopac (Šamal, A., 2023.)

Slika 8 i 9. Aplikacija eteričnog ulja pomoću pipete (Šamal, A., 2023.)

Slika 10. Uvjeti u ARALAB klima komori (Šamal, A., 2023.)

Slika 11. Skidanje micelija *F. culmorum* (Šamal, A., 2023.)

Slika 12. Suspenzija *F. culmorum* sa sterilnom destiliranom vodom (Šamal, A., 2023.)

Slika 13. Pipetiranje suspenzije *F. culmorum* (Šamal, A., 2023.)

Slika 14. Nacjeppljivanje suspenzije *F. culmorum* (Šamal, A., 2023.)

Slika 15. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja naranče u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 16. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja klinčića u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 17. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja anisa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 18. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja klinčića u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 19. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 20. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja anisa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 21. Razvoj micelija gljive *F. culmorum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 22. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 23. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 24. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja naranče u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 25. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 26. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja timijana u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 27. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja eukaliptusa u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

Slika 28. Razvoj micelija gljive *F. oxysporum* pri primjeni eteričnog ulja limuna u svim ispitivanim koncentracijama (Šamal, A., 2023.)

## 12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Postotak klijavosti *F. culmorum* pri djelovanju pet različitih eteričnih ulja

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku  
Sveučilišni diplomski studiji, modul Zaštita bilja

Diplomski rad

## Volatilni utjecaj eteričnih ulja na porast *Fusarium* vrsta

Anamarija Šamal

**Sažetak:** Cilj ovog istraživanja bio je ispitati antifungalno djelovanje šest različitih eteričnih ulja: anisa, klinčića, timijana, limuna, naranče i eukaliptusa na porast dvije vrste gljiva, *Fusarium culmorum* i *Fusarium oxysporum*, pri njihovom volatilnom djelovanju. Istraživanje je provedeno kako bi se utvrdilo koje ulje ima najjače inhibitorno djelovanje na rast micelija tih gljiva te kako količina primijenjenog ulja utječe na antifungalnu učinkovitost. Rezultati su pokazali da su ulja timijana i klinčića imala najjače antifungalno djelovanje. Oba ulja značajno su inhibirala rast micelija kod obje vrste gljiva pri svim ispitivanim količinama (10, 20, 50, 75 i 100  $\mu$ L). Sljedeće po učinkovitosti bilo je eterično ulje anisa, koje je također pokazalo značajno antifungalno djelovanje. Uočeno je da se učinkovitost ovog ulja povećavala proporcionalno s povećanjem količine primjene, što sugerira da veće koncentracije ulja anisa mogu biti potrebne za postizanje optimalnog antifungalnog učinka. Suprotno tome, eterična ulja limuna, naranče i eukaliptusa nisu pokazala značajan inhibitorni učinak na rast gljiva *F. culmorum* i *F. oxysporum*. Bez obzira na primijenjenu količinu i vrijeme izlaganja, ova ulja nisu uspjela spriječiti rast micelija u usporedbi s kontrolnim uzorcima.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** Karolina Vrandečić

**Broj stranica:** 40

**Broj grafikona i slika:** 1 grafikon i 28 slika

**Broj tablica:** 6

**Broj literaturnih navoda:** 20

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, eterična ulja, inhibitorno djelovanje

**Datum obrane:** 17.9.2024.

**Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor
3. Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, course Plant Protection**

**Graduate thesis**

### **Volatile effect of essential oils on the growth of *Fusarium* species**

Anamarija Šamal

**Abstract:** The aim of this research was to test the antifungal effect of six different essential oils: anise, clove, thyme, lemon, orange and eucalyptus on the growth of two types of fungi, *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum*, during their volatile action. The research was conducted to determine which oil has the strongest inhibitory effect on the growth of the mycelium of these fungi and how the amount of applied oil affects the antifungal effectiveness. The results showed that thyme and clove oils had the strongest antifungal activity. Both oils significantly inhibited mycelial growth in both types of mushrooms at all tested amounts (10, 20, 50, 75 and 100  $\mu$ L). Next in effectiveness was anise essential oil, which also showed significant antifungal activity. It was observed that the effectiveness of this oil increased proportionally with the amount of application, suggesting that higher concentrations of anise oil may be required to achieve optimal antifungal effect. In contrast, essential oils of lemon, orange and eucalyptus did not show a significant inhibitory effect on the growth of *F. culmorum* and *F. oxysporum*. Regardless of the amount applied and exposure time, these oils failed to inhibit mycelial growth compared to control samples.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** Karolina Vrandečić

**Number of pages:** 40

**Number of figures:** 1 graph and 28 pictures

**Number of tables:** 6

**Number of references:** 20

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Key words:** *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, essential oils, inhibitory action

**Thesis defended on date:** 17.9.2024.

#### **Reviewers:**

1. Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor
3. Prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek