

# Utjecaj temperature, pH podloge i eteričnih ulja na razvoj *Sclerotinia sclerotiorum*

---

**Kubala, Matija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:581263>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-27**



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  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Matija Kubala, apsolvent

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

**UTJECAJ TEMPERATURE, PH PODLOGE I ETERIČNIH ULJA NA RAZVOJ  
*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

**Diplomski rad**

**Osijek, 2016.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Matija Kubala, apsolvent

Diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

**UTJECAJ TEMPERATURE, PH PODLOGE I ETERIČNIH ULJA NA RAZVOJ  
*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

**Diplomski rad**

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada :

1. izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, mentor
3. prof. dr. sc. Nada Parađiković, član

**Osijek, 2016.**

## SADRŽAJ

|   |     |
|---|-----|
| 1. Uvod.....  | 1   |
| 1.1. Klasifikacija <i>S. sclerotiorum</i> .....   | 1   |
| 1.2. Razvojni ciklus .....  | 2   |
| 1.3. Patogenost i uvjeti razvoja gljive.....  | 3   |
| 1.4. Mjere zaštite .....  | 4   |
| 1.5. Cilj istraživanja.....   | 4   |
| 2. Pregled literature .....   | 5   |
| 3. Materijal i metode .....   | 11  |
| 4. Rezultati .....  | 199 |
| 4.1. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 15°C..... | 19  |
| 4.2. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 30°C..... | 20  |
| 4.3. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 30°C..... | 21  |
| 4.4. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 15°C..... | 22  |
| 4.5. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 22°C..... | 23  |
| 4.6. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 30°C..... | 24  |
| 5. Rasprava.....  | 255 |
| 6. Zaključak.....   | 27  |
| 7. Popis literature .....   | 28  |
| 8. Sažetak .....  | 31  |
| 9. Summary .....  | 32  |
| 10. Popis tablica .....   | 33  |

|  |    |
|--|----|
| 11. Popis slika .....                  | 34 |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA ..... | 35 |
| BASIC DOCUMENTATION CARD .....         | 36 |

## 1. Uvod

### 1.1. Klasifikacija *S. sclerotiorum*

*S. sclerotiorum* je vrlo patogena gljiva koja parazitira na više od 408 biljnih vrsta. Samim time kažemo da je polifagna gljiva, što znači da egzistira na puno različitih domaćina. Hrvatski naziv bolesti koju izaziva ova gljiva je bijela trulež (Slika 1).

Klasifikacija *S. sclerotiorum* :

Carstvo: Gljive

Pododjel: *Ascomycota*

Razred: *Discomycetes*

Red: *Helotiales*

Porodica: *Sclerotiniaceae*

Rod: *Sclerotinia*

Vrsta: *Sclerotinia sclerotiorum*



Slika 1. Bijela trulež mrkve (<http://www.apsnet.org>)

## 1.2. Razvojni ciklus

*S. sclerotiorum* je polifagna parazitska gljiva čiji simptomi djelomično variraju ovisno o domaćinu na kojem gljiva egzistira. Tijekom vegetacije formira jedino bijeli micelij (Slika 2) i sklerocije. Budući da pripada pododjelu *Ascomycota*, razvija višestanični micelij. Ova gljiva nema konidijski stadij.

Za spolno razmnožavanje ova gljiva stvara spolne stanice: anteridij (muška) i askogon (ženska). Svaka ova stanica je haploidna. Prilikom spajanja anteridija i askogona prvo dolazi do plazmogamije (stapanja plazmi stanica bez spajanja jezgara). Rezultat plazmogamije je jedna stanica s dvije haploidne jezgre (dikarionska stanica) iz koje se razvije tzv. askogeni micelij (Ćosić, 2012.). Na askogenom miceliju nastaju askusi s askosporama.

Sklerocije *S. sclerotiorum* kliju na dva načina: direktno u micelij i u plodonosno tijelo koje se zove apotecij. Apotecij je plitko, zdjeličasto, potpuno otvoreno plodonosno tijelo.



Slika 2. Bijela trulež na mahunarkama (<http://www.abc.net.au>)

### 1.3. Patogenost i uvjeti razvoja gljive

Kao što je ranije navedeno *S. sclerotiorum* je iznimno patogena gljiva. Uzrokuje trulež na više od 408 biljnih vrsta svrstanih u 278 porodica i 78 rodova (Ćosić, 2012.). Pojava crnih sklerocija na ili u bolesnim tkivima uvijek je siguran znak zaraze. Međutim, na posve mladim biljkama pri proizvodnji rasada formiranje sklerocija izostaje pa se propadanje rasada često pogrešno pripisuje drugim uzročnicima bolesti.

Optimalna temperatura za razvoj gljive je između 15 i 21°C i visoka relativna vlaga zraka. Razvoj je također intenzivniji na prozračnim i lakšim tlima. Glavni izbor zaraze su sklerocije koje ostaju vitalne u tlu i biljnim ostacima između 4 do 6 godina. Neke od kultura koje napada su rajčica (Slika 3), paprika, luk, suncokret, soja, mrkva, salata, kupus, grah, krastavac, dinja.



Slika 3. Bijela trulež rajčice

(<https://ag.umass.edu>)

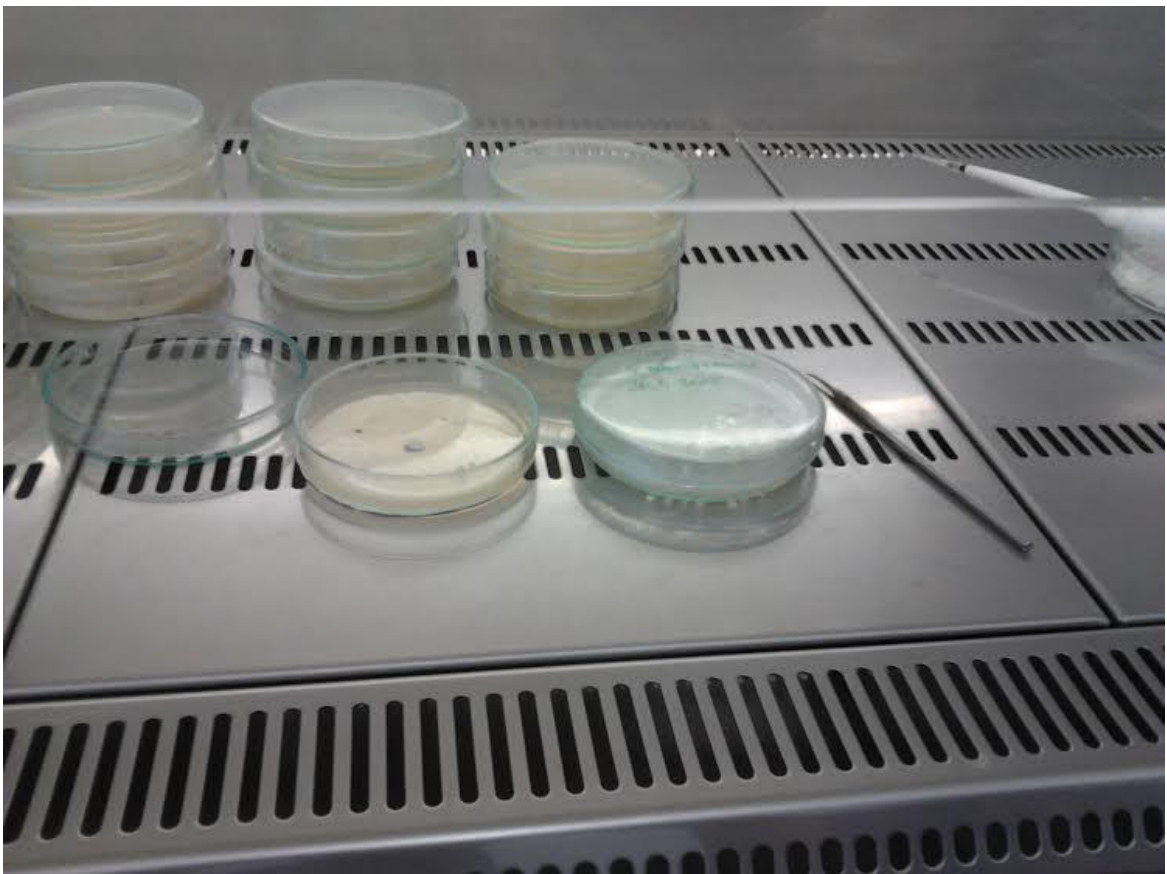


#### 1.4. Mjere zaštite

Postoji nekoliko mjera zaštite pri čemu su najznačajnije preventivne mjere: plodored i duboko zaoravanje biljnih ostataka iz prethodne vegetacije. Jedna od mogućih mjera je poplavljanje poljoprivrednih površina, ali ova mjera nije baš praktična. Ukoliko se bolest pojavi kod mnogih biljnih vrsta moguća je uporaba fungicida.

#### 1.5. Cilj istraživanja

Cilj ovog diplomskog rada je bio utvrditi utjecaj različitih temperatura, pH hranjive podloge i eteričnih ulja na porast micelija gljive *S. sclerotiorum* (slika 4).



Slika 4. Priprema uzorka u laminaru  
(foto Matija Kubala)

## 2. Pregled literature

U pregledu literature potrebno je spomenuti fitopatologiju kao znanstvenu disciplinu. Fitopatologija se kao samostalna disciplina intenzivno razvija krajem 19. stoljeća. Od tada je njen razvoj dinamičan i svestran, pa se tako i sama dalje rasčlanjuje na više samostalnih disciplina (stručnjak za gljivične bolest- mikolog, za virusne bolesti- virolog, za bakterijske bolesti- bakteriolog, zatim za razvoj i primjenu fungicida i niz drugih). Većina bolesti kod biljaka je uzrokovana gljivama. Gljive uzrokuju mikoze. Većina gljiva su saprofiti, što znači da razgrađuju mrtvu organsku tvar dok parazitske gljive uzrokuju bolesti kod biljaka. Za razliku od bakterija, gljive uzrokuju mali broj bolesti kod čovjeka i životinja (Kišpatić, 1992.).

*Sclerotinia sclerotiorum* je iznimno patogena polifagna gljiva. Uzrokuje trulež na više od 408 biljnih vrsta svrstanih u 278 porodica i 78 rodova (Ćosić, 2012.). Pojava crnih sklerocija na ili u bolesnim tkivima uvijek je siguran znak zaraze. Kišpatić (1992.) navodi vrste *Sclerotiniae* kao pripadnike reda *Discomycetes* čije plodište se zove apotecij. Također navodi iste vrste kao uzročnike truleži ploda jabuke, kruške breskve i ostalih kultura. Optimalna temperatura za razvoj je između 15 i 21°C i visoka relativna vlaga zraka. Neke od povrtnih kultura koje napada su rajčica, paprika, luk, mrkva, salata, kupus, grah, krastavac i druge.

Ljekovito bilje i eterična ulja spominju se od davnina. Kuštrak (2005.) navodi da neki znanstvenici smatraju da su se ljekovitim biljem koristio i pračovjek tako što je zahvaljujući svojoj inteligenciji bio vještiji u njihovoj primjeni od životinja. Promatranjem životinja uvidio je ljekovitost određenog bilja. Prve pisane dokaze o korištenju ljekovitog bilja su ostavili drevni Sumerani. Pod ruševinama grada Nipura u Iraku pronađena je glinena pločica na koju je Sumerski liječnik urezao dvanaest recepata za masti u lijekove za unutarnju primjenu. Na pločicama nađenim u arheološkim iskapanjima spominje se iscjedan smokve, datulje i med.

Također nam je danas poznat i proces balzamiranja pokojnika kod starih Egipćana. Postoje zapisi na papirusu u kojima se navode vrste ljekovitih biljaka korištenih u tom procesu. Neke od tim biljaka su *Pinus pinae*, *Papaver rhoeas*, *Mentha piperita*, *Vitis vinifera*, *Nymphaea lotus* i druge.

Eterična ulja su smjese jače ili slabije hlapljivih lipofilnih sastavina izoliranih iz biljaka ili biljnih dijelova. To su lako pokretljive tekućine koje jako lome svjetlo intenzivnog su, najčešće ugodnog mirisa. Okusa su ljutog ili gorkog, slatkog (aniševog i komoračevog ulje) i s osjećajem hlađenja (ulje paprene metvice – mentol). Miris eteričnog ulja ovisi o kemijskom sastavu. Načina dobivanja eteričnih ulja su postupak destilacije, ekstrakcija ulja pomoću organskih otapala, ekstrakcija pomoću nehlapljivih otapala i dobivanje triještenjem ( Kuštrak, 2005.).

Eterična ulja su prema Isman (2000.) esencijalna ulja koncentrirane, hidrofobne tekućine koje u sebi sadrže nestabilne aromatične spojeve dobivene iz biljnih dijelova. Eterična ulja koja imaju snažno fungicidno djelovanje imaju fenolne i aromatske komponente (Burt, 2004.). Također eterična ulja uzrokuju razgradnju membrane kod patogenih gljiva i raspadanje stanica patogena (Burt, 2004). Svako eterično ulje sastoji se od glavnih i sporednih komponenti (Jacobelis i sur., 2005.). Klimatski uvjeti, mjesto uzgoja te genotip biljke su neki od uvjeta koji utječu na udio pojedinih komponenti u eteričnom ulju.

Eterična ulja imaju povoljno djelovanje ne samo na biljni svijet nego su korisna u suzbijanju bolesti kod ljudi i životinja. Dorman i Deans (2000.) navode antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja dok Pandey i sur. (2000.) navode njihovo nematocidno i insekticidno djelovanje. U eteričnim uljima nalaze se fenolni spojevi. Neki od fenolnih spojeva koji se nalaze u uljima timijana i klinčićevca su eugenol i timol. Eterična ulja koja u sebi imaju fenolne spojeve su bolja u direktnoj primjeni. U eteričnim uljima se također nalaze i nefenolni hlapljivi spojevi. Primjer nefenolnih hlapljivih spojeva su citral i limonen. Ovi spojevi imaju bolje djelovanje kada je uzročnik bolesti izložen isparavanjima eteričnog ulja. Suhr i Nielsen (2003.) u svom istraživanju navode da je timol iz ulja timijana bolje djelovao na inhibiciju rasta gljivice pri upotrebi metode isparavanja. Za razliku od timola, eugenol iz cimeta i klinčićevca nije imao tako dobro djelovanje iako su oba spoja fenoli.

U svojim istraživanjima Soković i sur. (2009.) navode da su glavne komponente ulja metvice (*Mentha peperita*) mentol (37,4%), mentil acetat (17,4%) i menton (12,7%).

Lis-Balchin (2006.) navodi da su glavne komponente eteričnog ulja timijana timol kojega ima od 45 do 48% te  $\rho$ -cimen (18,5 - 21,5).

Orav i sur. (2008.) i Rodrigues i sur. (2003.) navode da u eteričnom ulju anisa (*Pimpinella anisum*) postoje dvije glavne komponente, a to su anetol (76,9 - 93,7%) i  $\gamma$ -himahalena (0,4 - 8,2%).

Ulje kadulje (*Salvia officinalis*) sastoji se od  $\alpha$ -tujona (39 - 43%),  $\beta$ -tujona (5 - 9%), 1,8- cineola (7,5 - 25%) te kamfora (13 - 22,5%) (Pierozan i sur., 2009., Suhr i Nielsen, 2003.).

Glavne komponente eteričnog ulja običnog bora (*Pinus sylvestris* L.) su  $\alpha$ -pinen (49,2%), sabinen (30,1%),  $\beta$ -pinen (14,9%) i limonen (7,9%), dok iglice sadrže  $\beta$ -pinen (69,5%), kamfen (14,9%),  $\beta$ -pinen (9,1%), sabinen (3,6%) i limonen (2,8%) (Zafra i García-Peregrín, 1976.).

Eterična ulja u kombinaciji nekada imaju veće antifungalno djelovanje nego kada su u samostalnoj primjeni. Međutim neke kombinacije eteričnih ulja nisu toliko učinkovite kao ta ista eterična ulja u samostanoj primjeni. Yang i Clausen (2007.) su upravo to ispitali u svome radu. Došli su do zaključka da ulje timijana ima jače antifungalno djelovanje na razvoj gljiva nego kombinacija ulja timijana i čajevca. Wafa`a A. i sur. (2014.) navode utjecaj raznih eteričnih ulja na razvoj *S. sclerotiorum*. U njihovom radu, najbolje rezultate je pokazalo ulje cimeta.

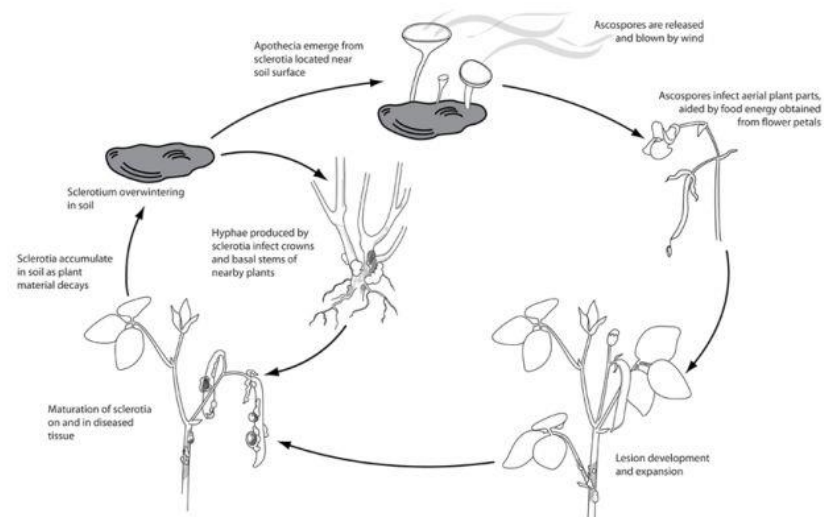
Saharan i Menta (2008.) navode da krug domaćina *S. sclerotium* obuhvaća preko 500 biljnih vrsta. *S. sclerotiorum* je patogen vrlo težak za kontrolu. Jurković i sur. (2010.)

navode da *S. sclerotiorum* parazitira na više od 400 biljnih vrsta na kojima izaziva različite tipove bolesti a to ovisi o biljci domaćinu i organu koji je zaražen. Temperature pogodne za razvoj *S. sclerotiorum* su između 15 i 22°C. Visoka vlažnost zraka također pogoduje razvoju. *S. sclerotiorum* preživljava kao micelij na mrtvom i živom biljnom tkivu ili kao sklerocije u tlu ili na zaraženom biljnom tkivu (Agrios, 1997.). Ćosić i sur. (2012.) navode da za spolno razmnožavanje ova gljiva stvara spolne stanice: anteridij (muška) i askogon (ženska). Svaka ova stanica je haploidna. Prilikom spajanja anteridija i askogona prvo dolazi do plazmogamije (stapanja plazmi stanica bez spajanja jezgara). Rezultat plazmogamije je jedna stanica s dvije haploidne jezgre (dikarionska stanica) iz koje se razvije tzv. askogeni micelij. Na askogenom miceliju nastaju askusi s askosporama (slika 5).

Mordue i Holliday (1998.) u svom ispitivanju navode da sjeme također može biti izvor zaraze. Sjeme može biti zaraženo micelijem ili sklerocijama. Vitalnost sklerocija je vrlo velika. Ako su na povoljnoj dubini u tlu mogu biti vitalne i do tri godine (Hoes i Huang, 1975.). Harvey i sur. (1995.) također navode da u povoljnim uvjetima temperature i vlažnosti većina sklerocija može preživjeti u tlu najmanje tri godine. Sklerocije koje su dublje u tlu su dugovječnije nego sklerocije koje se nalaze pliće u tlu. Dubina od 10 do 30 cm je povoljnija od dubine od 5 cm (Ćosić i sur., 2012.).

*S. sclerotiorum* kao što je i ranije navedeno uzrokuje bolesti na mnogo različitih povrtnih kultura. Sherf i Macnab (1986.) navode da je *S. sclerotiorum* prvi puta detektirana na mrkvi 1860. godine. Uzrokuje truljenje nadzemnih dijelova biljke kao i samog korijena. Mrkva je najosjetljivija tijekom skladištenja i u kasnoj vegetaciji. U ranoj fazi razvoja mrkve može doći do propadanja klijanaca.

Abdullah i sur. (2008.) navode da *S. sclerotiorum* na klijancima rajčice, patlidžana i bundeve uzrokuje pojavu smeđih pjega na stabljikama. Stabljike se razmekšaju i uzrokuju venuće biljaka. Kod rajčice do zaraze stabljike najčešće dolazi u prizemnim pazušcima listova. Na mjestima zaraze vidljive su duguljaste vodene pjege koje se brzo povećavaju i šire. Oboljeli dio tkiva dobije svjetlo sivu do tamnosmeđu boju, razmekša i odumre.



Slika 5. Razvojni ciklus *S. sclerotiorum*

(<https://www.google.hr/search?q=s.+sclerotiorum&espv=2&biw=1366&bih=643&source>)

Radman (1978.) navodi da *S. sclerotiorum* prvenstveno uzrokuje bolesti biljaka koje imaju šuplju stabiljiku ili vriježu kao što su: suncokret, duhan, rajčica, krumpir, paprika, pamuk te vrste iz porodice *Cucurbitaceae*. Napada kupusnjače, naročito cvjetaču. Pored toga vrlo je česta na repi, grahu, lucerni, djetelini, lupini, ricinusu, konoplji, cikoriji i drugima. Javlja se na biljnim vrstama sa lukovicom kao i na patliđanu i uljanoj repici. Gljivica napada sve biljke u stakleničkoj proizvodnji (naročito krastavac) kao i uskladišteno bilje. Poseban naglasak je na propadanju uskladištenog bilja kao što su mrkva, celer, cikla ili repa.

Osim na povrtnim i ratarskim kulturama *S. sclerotiorum* se pojavljuje i na ukrasnom bilju i to najviše na lončanicama pri stakleničkom uzgoju, što ne znači da ne napada ukrasno bilje na otvorenome polju. Neke od biljnih vrsta koje može zaraziti su *Anemone sp.*, *Dahlia sp.*, *Lilium sp.*, *Narcissus sp.*, i mnoge druge rodove i vrste. U staklenicima može uzrokovati propadanje klijanaca u tlu, klijanaca nakon nicanja a kada se biljke razviju parazit napada korijen, vrat korijena i stabiljiku (Jurković i sur., 2010.).

Ispitivanje razvoja *S. sclerotiorum* vrši se na različitim hranjivim podlogama. Cuong i Dohroo (2006.) ispitivali su utjecaj šest različitih podloga na razvoj micelija i produkciju sklerocija *S. sclerotiorum*. Podloge korištene u ovom istraživanju su PDA

podloga, agar od sjemena graška, graha, zobenog brašna, kukuruznog brašna, lista salate. Nakon četiri dana, najveći porast micelija zabilježen je na PDA podlozi (52,47 mm) te podlozi od graška (50,92 mm). Na podlozi od sjemena graha i zobenog brašna porast micelija bio je slabiji (48,33 i 44,05 mm), ali najmanji porast zabilježen je na podlogama od kukuruznog brašna (34,66 mm) i lista salate (30,65 mm). Najveći broj sklerocija i to 30,75 zabilježen je na PDA podlozi, dok je najniži broj sklerocija (1,5) zabilježen na podlozi od lista salate.

Postoje razne mjere za suzbijanje *S.sclerotiorum*. Neke od njih su mehaničke, kemijske, biološke i agrotehničke. Važnost prognoze da spriječi epidemiju je vrlo važna. Svrha je prognoze da spriječi epidemiju i to pravovremenim obavještavanjem o nastanku povoljnih uvjeta za infekciju i razvoj bolesti i s tim u vezi s potrebom početka primjene fungicida. Sve je to za praksu vrlo važno, posebno zbog pravovremene pripreme, nabave sredstava i aparata, rasporeda i plana rada te donošenja odluke da li će se ta mjera provesti na širokom planu (Kišpatić, 1992.). Radman (1978.) navodi također važnost zaštite bilja od ove opasne biljne bolesti. Mjere zaštite za borbu protiv *S. sclerotiorum* su sjetva otpornih sorata, plodored te sjetva zdravog sjemena. Uz ove agrotehničke mjere važne su i kemijske mjere zaštite. Kao kemijska mjera zaštite navode se razni fungicidi. Fungicidi su kemijska mjera zaštite od bijele truleži. Cvjetković i sur. (2014.) navode da u Republici Hrvatskoj ne postoji niti jedno kemijsko sredstvo za suzbijanje *S. sclerotium* na krastavcu, dok su za zaštitu rajčice i mrkve dozvoljena sredstva na osnovi fenheksamida i fludioksinil + ciprodinila, odnosno tebukonazol + trifloksistrobina.

Uz kemijske i agrotehničke mjere bitne su i biološke mjere zaštite od *S. sclerotium*. Istraživanja novog datuma odnose se na biološko suzbijanje gljive. U tu svrhu u svijetu je ispitano 30 vrsta antagonističkih mikroorganizama, superparazita na sklerocijama ili miceliju. To su prije svega gljive iz rodova *Trichoderma*, *Gliclodium*, *Conicthirum* i *Speridesmium*. Treba očekivati da će neki od njih u budućnosti biti iskorišten za proizvodnju biofungicida ( Jurković i sur., 2010.).

### 3. Materijal i metode

Ovaj rad je napravljen u prostorijama Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. Materijal koji je korišten u ovom eksperimentu je klasični laboratorijski materijal. Korišteno je sterilizirano posuđe, metalna pinceta, metalni kružni rezač, plamenik, 96% etilni alkohol. Posuđe korišteno u pokusu su razne zdjelice, menzure i tikvice.

Kao što je ranije navedeno temperature odabrane za izvođenje ovoga pokusa su temperature od 15°C (Slika 6), 22°C i 30°C (Slika 7). Uzorci su se držali u tri različite komore a u svakoj od tih komora je bila točno jedna od ovih temperatura.



Slika 6. Komora za držanje uzoraka na 30°C  
(foto Matija Kubala)





Slika 7. Komora za držanje uzoraka na 15 °C  
(foto Matija Kubala)

Jedan od glavnih ciljeva ovog rada je utvrđivanje utjecaja različitih eteričnih ulja na razvoj gljive. Za ovaj rad su odabrana eterična ulja timijana (slika 8), bijelog bora (slika 9) kadulje (slika 10), mente (slika 11) i anisa (Slika 12).



Slika 8. Eterično ulje timijana  
 (<http://ljekarnik.hr/>)



Slika 9. Eterično ulje bijelog bora  
 (<http://www.terra-organica.hr>)



Slika 10. Eterično ulje kadulje  
(<http://kadulja.com>)

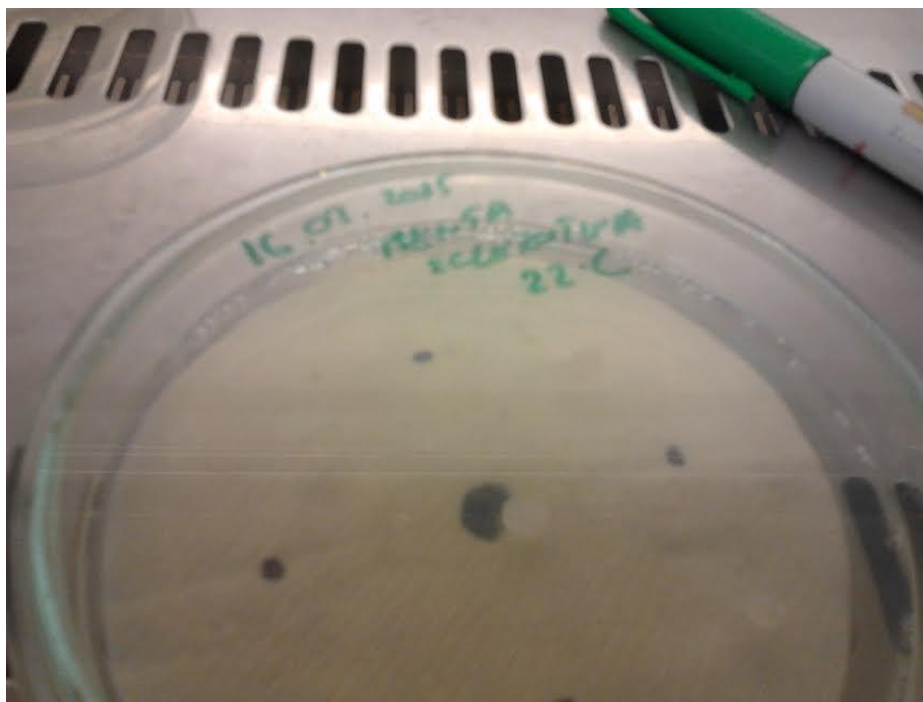


Slika 11. Eterično ulje mente  
(<http://www.terra-organica.hr/>)



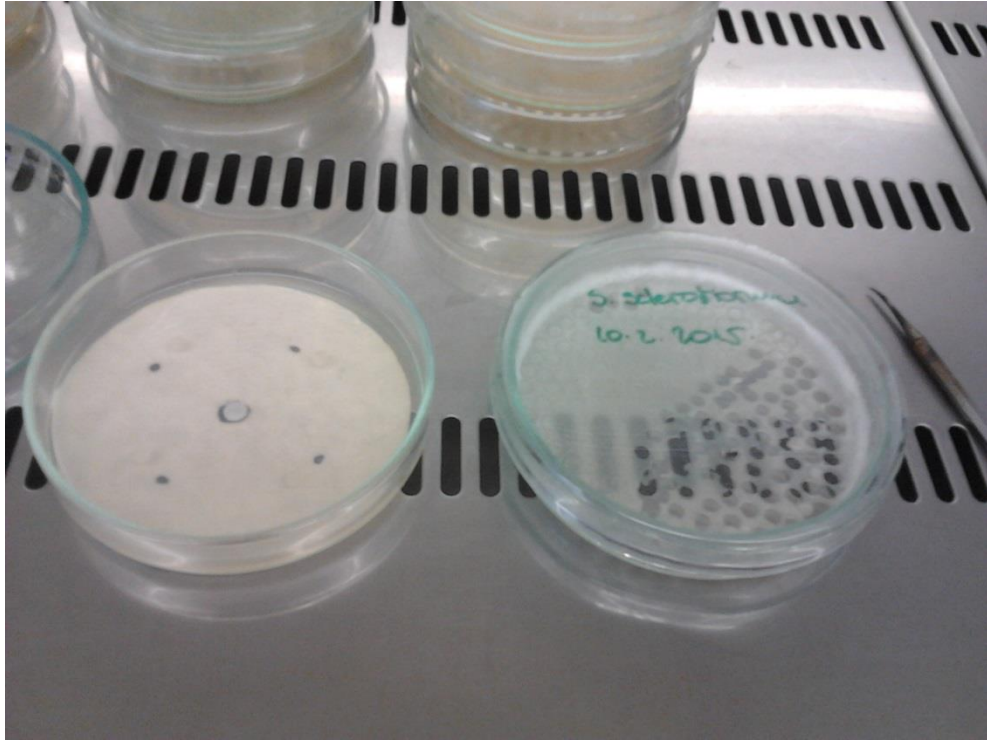
Slika 12. Eterično ulje anisa  
(<http://www.terra-organica.hr>)

Pripremljena hranjiva podloga (PDA) je razlivena u petrijeve zdjelice. Ispod zdjelice je stavljen papir jednakog promjera kao i zdjelica. Na papir su bila ucrtana četiri kruga koja su bila jednako udaljena od središta papira i isto tako jednako udaljena jedan od drugog. U drugoj zdjelici se nalazi čista kultura *S. sclerotiorum*. Kružni metalni rezač se nakon dezinfekcije u alkoholu, stavlja na plamenik da se zagrije. Kada se zagrije rade se mali krugovi uzorka *S. sclerotiorum*. Nakon toga se ti mali krugovi *S. sclerotiorum* stavljaju na hranjivu PDA podlogu. Na sterilni filter papir u središtu zdjelice se stavlja 5  $\mu$ l eteričnog ulja (slika 13). Pokus je postavljen u četiri ponavljanja. Za svako eterično ulje pripremljena je i kontrola. U kontrolne zdjelice se umjesto eteričnih ulja u središte zdjelice na sterilni papir stavlja destilirana voda. Na kraju se dobije po četiri uzorka za svako eterično ulje i za svaku od temperatura i kiselosti podloge. Na svaku zdjelicu se napiše koje je eterično ulje u njoj, naziv gljive koja se proučava, datum izrade uzorka, pH podloge i temperatura (slika 14).



Slika 13. Uzorak *S. sclerotiorum* uslikan 16.02.2105.

(foto Matija Kubala)



Slika 14. Precjepljivanje *S. sclerotiorum* na hranjivu podlogu  
(foto Matija Kubala)

Nakon inkubacije u termostat komorama slijedi mjerenje. Mjerenja su obavljena tijekom dva tjedna. Mjerenje je počelo 20.02.2015. a završeno je 06.03.2015. godine. Mjerenja su rađena ponedjeljkom i petkom kroz ova dva tjedna. Mjerenje je obavljano tako da se mjeri promjer micelija istraživane gljive (slika 15).



Slika 15. Mjerenje porasta micelija jednog od uzoraka  
(foto Matija Kubala)

## 4. Rezultati

Rezultati rada prikazani su u tablicama 1, 2, 3, 4, 5 i 6 po uljima i danima kada su obavljena mjerenja. Svi rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti promjera micelija za četiri ponavljanja za svaki tretman posebno.

### 4.1. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 15°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i pri temperaturi od 15°C prikazan je tablici 1.

Tablica 1. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 15°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 42,7       | 42,7       | 43,0       | 43,0       |
| Timijan       | 12,3       | 25,4       | 41,6       | 41,6       |
| Menta         | 28,2       | 34,9       | 42,2       | 42,2       |
| Bijeli bor    | 43,7       | 43,4       | 43,3       | 43,3       |
| Kadulja       | 37,9       | 40,9       | 40,9       | 40,9       |
| Kontrola      | 41,2       | 41,5       | 41,5       | 41,5       |
| LSD 0,05      | 13,1       | 12,9       | 1,1        | 1,1        |
| LSD 0,01      | 18,0       | 17,6       | 1,6        | 1,6        |



Nakon četiri dana od inokulacije ulje timijana je pokazalo značajno antifungalno djelovanje na porast micelija *S. sclerotiorum* u odnosu na kontrolnu varijantu te je statistički vrlo značajno negativno djelovalo na razvoj micelija. Na kraju pokusa nisu utvrđene statistički značajne razlike u porastu micelija između kontrolne varijante i varijanti s primjenom eteričnih ulja.

#### **4.2. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 22°C**

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i pri temperaturi od 22°C prikazan je tablici 2.

Tablica 2. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 22°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 11,1       | 35,1       | 43,2       | 43,2       |
| Timijan       | 5,5        | 20,5       | 20,9       | 20,9       |
| Menta         | 0          | 24,3       | 42,5       | 42,5       |
| Bijeli bor    | 42,0       | 42,3       | 42,3       | 42,3       |
| Kadulja       | 41,8       | 42,5       | 42,5       | 42,5       |
| Kontrola      | 42,5       | 42,6       | 42,6       | 42,6       |
| LSD 0,05      | 8,3        | 21,4       | 14,0       | 14,7       |
| LSD 0,01      | 11,4       | 29,0       | 20,1       | 20,1       |

Nakon četiri dana od inokulacije ulja timijana, mente i anisa su pokazala značajno antifungalno djelovanje na porast micelija *S. sclerotiorum* u odnosu na kontrolnu varijantu te su statistički vrlo značajno negativno djelovala na razvoj micelija. Do kraja pokusa samo

je ulje timijana imalo statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje na rast istraživane gljive.

### 4.3. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i temperaturi 30°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 6,5 i pri temperaturi od 30°C prikazan je tablici 3.

Tablica 3. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 30°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 0          | 0          | 5,7        | 9,4        |
| Timijan       | 0          | 0          | 0          | 0          |
| Menta         | 1,5        | 6,3        | 16,5       | 19,4       |
| Bijeli bor    | 26,3       | 25,9       | 33,1       | 35,7       |
| Kadulja       | 15,8       | 21,4       | 29,2       | 30,4       |
| Kontrola      | 28,4       | 27,0       | 37,5       | 37,6       |
| LSD 0,05      | 4,0        | 5,9        | 6,6        | 8,8        |
| LSD 0,01      | 5,0        | 8,1        | 9,1        | 12,0       |

Pri kiselosti podloge 6,5 i temperaturi 30°C ulja anisa, timijana i mente su tijekom dva tjedna pokazala statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje na porast micelija u odnosu na kontrolnu varijantu. Pri navedenim uvjetima uzgoja i u prisustvu ulja timijana gljiva tijekom cijelog trajanja pokusa uopće nije rasla.

#### 4.4. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 15°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i pri temperaturi od 15°C prikazan je tablici 4.

Tablica 4. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 7,5; 15°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 36,9       | 41,5       | 41,5       | 41,5       |
| Timijan       | 3,2        | 4,2        | 9,3        | 15,4       |
| Menta         | 25,1       | 38,2       | 39,3       | 39,3       |
| Bijeli bor    | 41,4       | 41,4       | 41,4       | 41,4       |
| Kadulja       | 36,3       | 42,4       | 42,4       | 42,4       |
| Kontrola      | 41,6       | 42,3       | 42,3       | 42,4       |
| LSD 0,05      | 8,1        | 5,1        | 5,9        | 11,9       |
| LSD 0,01      | 11,1       | 6,9        | 8,1        | 16,3       |

Pri pH PDA podloge 7,5 i temperaturi 15°C ulja timijana i mente su četiri dana nakon inokulacije imala statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje. Dva tjedna od inokulacije samo je ulje timijana imalo statistički vrlo značajno negativno djelovanje na porast micelija gljive *S. sclerotiorum*.

#### 4.5. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 22°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i pri temperaturi od 22°C prikazan je tablici 5.

Tablica 5. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 7,5; 22°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 20,8       | 30,5       | 35,8       | 43,1       |
| Timijan       | 0          | 0          | 0          | 0          |
| Menta         | 0          | 19,9       | 34,4       | 42,9       |
| Bijeli bor    | 43,6       | 43,6       | 43,6       | 43,6       |
| Kadulja       | 37,6       | 42,7       | 42,7       | 42,7       |
| Kontrola      | 40,7       | 41,2       | 41,2       | 41,2       |
| LSD 0,05      | 10,2       | 18,8       | 13,6       | 2,0        |
| LSD 0,01      | 14,0       | 25,8       | 18,6       | 2,8        |

Pri temperaturi 22°C i pH podloge 7,5 ulje timijana je tijekom cijelog pokusa imalo fungicidno djelovanje odnosno gljiva uopće nije rasla. U svim mjerenjima uopće nije bilo porasta micelija. Ostala ulja pri navedenim uvjetima nisu imala antifungalno djelovanje na ispitivanu gljivu.

#### 4.6. Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i temperaturi 30°C

Utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i pri temperaturi od 30°C prikazan je tablici 6.

Tablica 6. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 7,5; 30°C)

| Eterična ulja | 20.02.2015 | 23.02.2015 | 27.02.2015 | 02.03.2015 |
|---------------|------------|------------|------------|------------|
| Anis          | 0          | 2,0        | 13,2       | 19,8       |
| Timijan       | 0          | 0          | 0          | 0          |
| Menta         | 0          | 4,6        | 11,9       | 15,6       |
| Bijeli bor    | 23,8       | 26,4       | 31,3       | 32,4       |
| Kadulja       | 0          | 13,6       | 16,5       | 19,1       |
| Kontrola      | 23,1       | 27,3       | 30,9       | 32,5       |
| LSD 0,05      | 1,4        | 8,4        | 11,1       | 12,7       |
| LSD 0,01      | 1,9        | 11,6       | 15,2       | 17,5       |

Pri temperaturi 30°C i pH podloge 7,5 ulje anisa je u prva tri mjerenja imalo statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje na porast micelija, dok je nakon dva tjedna porast micelija bio statistički značajno slabiji u odnosu na kontrolu. Ulje timijana imalo je fungicidan učinak tijekom cijelog pokusa. Ulje mente je pokazalo u prva tri mjerenja statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje dok je ulje kadulje u prva dva mjerenja imalo statistički vrlo značajno antifungalno djelovanje na razvoj micelija.

## 5. Rasprava

Ranije pokazani rezultati su pokazali da temperatura, pH podloge i eterična ulja koja su korištena u ovome radu različito utječu na razvoj *S. sclerotiorum*. Od eteričnih ulja najbolje rezultate je polučio timijan. Utjecaj timijana na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA hranjivoj podlozi čiji je pH 7,5 i pri temperaturi od 30°C i pri temperaturi 22°C je fungistatičan. Lis-Balchin (2006.) navodi da su glavne komponente eteričnog ulja timijana timol kojega ima od 45 do 48% te  $\rho$ -cimen (18,5 - 21,5). Eterična ulja u kombinaciji nekada imaju jače antifungalno djelovanje nego kada su u samostalnoj primjeni. Međutim neke kombinacije eteričnih ulja nisu toliko učinkovite kao ta ista eterična ulja u samostanoj primjeni. Yang i Clausen (2007.) su upravo to ispitivali u svome radu. Došli su do zaključka da ulje timijana ima jače antifungalno djelovanje na razvoj gljiva nego kombinacija ulja timijana i čajevca. Ulje timijana pokazuje dobar utjecaj i na druge biljne patogene. Lee i sur. (2007.) navode da je ulje timijana imalo inhibitorni učinak na porast micelija gljive *R. solani* i *C. gloeosporioides*. Ulja lavande, metvice, bora, ružmarina, kadulje su imala ili slab ili nikakav inhibitorni učinak na rast micelija.

Sama temperatura koja je bila najpogodnija za razvoj gljive je 15°C. Od ranije je poznato da ova gljiva preferira područja s više vlage i relativno nižim temperaturama tako da niti ulje timijana nije imalo dobro djelovanje pri ovoj temperaturi. *S. sclerotiorum* preživljava kao micelij na mrtvom i živom biljnom tkivu ili kao sklerocije u tlu ili na zaraženom biljnom tkivu (Agrios, 1997.). Kao optimalnu temperaturu većina autora navodi raspon od 15 do 25 °C, iako se formiranje sklerocija odvija od 0 do 30 °C (Adams i Tate, 1976.). Temperatura 30°C ne odgovara razvoju gljive *S. sclerotiorum*. Pri temperaturi 22°C jedino je timijan polučio željene rezultate.

Ulje bijelog bora nije pokazalo antifungalno djelovanje bez obzira na uvjete uzgoja. Zafra i García- Peregrín (1976.) navode da su glavne komponente eteričnog ulja običnog bora (*Pinus sylvestris* L.) su  $\alpha$ -pinen (49,2%), sabinen (30,1%),  $\beta$ -pinen (14,9%) i limonen (7,9%), dok iglice sadrže  $\beta$ -pinen (69,5%), kamfen (14,9%),  $\beta$ -pinen (9,1%), sabinen (3,6%) i limonen (2,8%).

Ulje anisa je polučilo najbolje rezultate pri pH 7 i temperaturi 30°C. Orav i sur., (2008.) i Rodrigues i sur. (2003.) navode da u eteričnom ulju anisa (*Pimpinella anisum*) postoje dvije glavne komponente, a to su anetol (76,9 - 93,7%) i  $\gamma$ -himahalena (0,4 - 8,2%).

Eterično ulje kadulje je najbolje rezultate pokazalo pri pH 6,5 i temperaturi 30°C. Pitarokili i sur. (2002.) navode da linaol, komponenta eteričnog ulja kadulje, ima antifungalno djelovanje. Carta i sur. (1996.) navode da je eterično ulje kadulje antifungalno utjecalo na razvoj *B. cinerea*.

Eterično ulje mente najbolje rezultate je pokazalo pri temperaturi od 30 °C. Soković i sur. (2009.) navode da se eterično ulje mente može koristiti kao prirodni fungicid.

Uz ova eterična ulja koja su navedena u ovom radu i mnoga druga imaju antifungalno djelovanje na rast micelija *S. sclerotiorum* kao i drugih gljiva. Prema Wang et al. (2010.) eugenol, glavna komponenta ulja klinčićevca i cimeta, ima jako antifungalno djelovanje na rast micelija *B. cinerea* i *Sclerotinia sclerotiorum*. U svom istraživanju Wafa`a A. i sur. (2014.) navode utjecaj raznih eteričnih ulja na razvoj *S. sclerotiorum*. U njihovom radu najbolje rezultate je pokazalo ulje cimeta. Ulje origana inhibitorno je djelovalo na rast micelija gljive *Botrytis cinerea* te *Pythium ultimum*, međutim mnoga druga eterična ulja kao što su lavnada (*Lavandula spica*), metvica (*Mentha piperita*), bor (*Pinus sylvestris*), ružmarin (*R. officinalis*), kadulja (*Salvia lavendulaifolia*, *Salvia sclarea*) nisu imali nikakav inhibitorni učinak na rast micelija ispitivanih gljiva (Lee i sur., 2007.).

## 6. Zaključak

Na temelju ispitivanja djelovanja eteričnih ulja anisa, timijana, mente, bijelog bora i kadulje na porast micelija gljive *Sclerotinia sclerotiorum* na PDA podlozi pri kiselosti podloge 6,5 i 7,5 te pri temperaturama 15, 22 i 30°C može se zaključiti:

1. Temperature imaju značajan utjecaj na rast micelija gljive.
2. Kiselost podloge ima značajan utjecaj na rast micelija gljive.
3. Ulje timijana je pokazalo najbolje antifungalno djelovanje na porast micelija *S. sclerotium*.
4. Ulje bijelog bora je pokazalo najlošije antifungalno djelovanje na porast micelija *S. sclerotiorum*.
5. Temperatura 15°C je najviše pogodovala porastu micelija dok je temperatura od 30°C najmanje pogodovala porastu micelija.
6. S obzirom na kontrolu najbolja kombinacija za smanjenje porasta micelija gljive je bila kombinacija ulja timijana pri temperaturi 30°C. U ovoj kombinaciji na obje pH podloge je rezultat bio zadovoljavajući.



## 7. Popis literature

1. Abdullah, M. T., Ali, N.Y., Suleman, P. (2008.): Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Production*, 27: 1354-1359.
2. Adams, P.B., Tate, C.J. (1976.): Mycelial germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* on soil. *Plant Disease Report*, 60: 515-518
3. Agrios, G.N. (1997.): *Plant Pathology*. Academic Pres, California,
4. Burt, S. (2004.): Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International journal of Food Microbiology*, 223-253
5. Carta, C.M., Moretti, D.I., Peana, A.T.(1996.): Activity of the oil of *Salvia officinalis* against *Botrytis cinerea*. *Journal of Essential Oil Research*, 8: 399-404.
6. Cuong, N.G., Dohroo, N.P. (2006.): Morphological, cultural and physiological studies on *Sclerotinia sclerotiorum* causing stalk root of cauliflower. *Omonrice*, 14: 71-77
7. Cvjetković, B., Bažok, R., Igrc Barčić, J., Barić, K., Ostojić, Z. (2014.): Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj. *Glasiilo biljne zaštite* 14(1-2): 1-222.
8. Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K., Kaučić, D. (2012.): Survival of buried *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia in undisturbed soil. *Helia*, 35(56):
9. Dorman, H., J., D., Deans S., G. (2000.): Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88:308-316.
10. Harvey, I.C., Foley, L.M., Saville, D.J. (1995.): Survival and germination of shallow-buried sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in pasture in Canterbury. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38: 279-284.
11. Hoes, J.A., Huang, H.C. (1975.): *Sclerotinia sclerotiorum*: viability and separation of sclerotia from soil. *Phytopathology*, 65: 1431–1432.
12. Isman, M., B. (2000.): Plant essential oils for pestand disease management. *Crop Protection*, 19:603-608.
13. Iacobelis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F., Senatore, F. (2005.): Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum L.* and *Carum carvi L.* Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 53(1): 57-61.

14. Jurković, D., Vrandečić, K. (2009.): Bolesti povrća. U: Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u uzgoju povrća, Raspudić, E. (ur.), Osječko-baranjska županija, Osijek.
15. Jurković, D., Čosić, J., Vrandečić, K. (2010.): Bolesti cvijeća i ukrasnog bilja, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
16. Kišpatić, J. (1992.): Opća fitopatologija: Sveučilište, Fakultet poljoprivrednih znanosti
17. Kuštrak, D. (2005): Farmakognozija Fitofarmacija: Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb
18. Lee, S.O., Choi, G.J., Jang, K.S., Lim, H.K., Cho, K.Y., Kim, J.C. (2007.): Antifungal Activity of Five Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi, *Plant Pathol. J.*, 23(2): 97-102.
19. Lis-Balchin, M. (2006.): Aromatherapy Science: A guide for healthcare professionals, Pharmaceutical Press, London, UK, 297-327.
20. Mordue, J.E.M., Holliday, P. (1998.): *Sclerotinia sclerotiorum*, IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. (52) Sheet 513, CABI Bioscience, Bakeham Lane, Egham, Surrey, TW20 9TY, UK.
21. Orav, A., Raal, A., Arak, E. (2008.): Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries, *Natural product research*, 22(3): 227-232.
22. Pandey, R., Kalra A., Tandon, S., Mehrotra, N., Singh, H.N., Kumar, S. (2000.): Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. *J. Phtopathol.*, 148: 501-502.
23. Pierozan, M.K., Pauletti, G.F., Rota, L., dos Santos, A.C.A., Lerin, L.A., Di Luccio, M., Mossi, A.J., Atti-Serafini, L., Cansian, R.L., Vladimir Oliveira, J. (2009.): Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 29(4): 764-770.
24. Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., Harvala, C., (2003): Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soliborne pahogens. *J. Agric. Food Chem.*, 51:3294-3310.
25. Radman, Lj. (1978.): Fitopatologija, bolesti ratarskih kultura. Poljoprivredni fakultet, Sarajevo.
26. Rodrigues, V.M., Rosa, P.T.V., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M.A.A. (2003.): Supercritical Extraction of Essential Oil from Aniseed (*Pimpinella*

- anisum* L.) Using CO<sub>2</sub>: Solubility, Kinetics, and Composition Data. J. Agric. Food Chem., 51(6): 1518-1523.
27. Saharan, G.S., Mehta, N. (2008.): Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Crop Management. Springer Science & Business Media, The Netherlands
  28. Sherf, A.F., Macnab, A.A. (1986.): Vegetable Diseases and Their Control. Vol. II, Wiley, New York.
  29. Soković, M.D., Vukojević, J., Marin, P.D., Brkić, D.D., Vajs, V., van Griensven, L.J.L.D. (2009.): Chemical Composition of Essential Oils of *Thymus* and *Mentha* Species and Their Antifungal Activities. Molecules, 14: 238-249.
  30. Suhr, K.I., Nielsen, P.V. (2003.): Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi, Journal of Applied Microbiology, 94(4): 665-674.
  31. Yang, V.W., Clausen, C.A. (2007.): Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. International Biodeterioration & Biodegradation, 59: 302-306.
  32. Wang, C., Zhang, J., Chen, H., Fan, Y., Shi, Z. (2010.): Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. Tropical Plant Pathology, 35(3): 137-143.
  33. Wafa`a, A., Al-Taisan., Bahkali, A.H., Elgorban, A.M., El-Metwally, A.M. (2014): Effective Influence od essential oils and microelements against *Sclerotinia sclerotiorum*. International Jourlal of Pharmacology, 10(5): 255-259.
  34. Zafra, M., García-Peregrín, E. (1976): Seasonal variations in the composition of *Pinus halepensis* and *Pinus sylvestris* twigs and needles essential oil. J. Agric. Food Chem., 86(1): 1-6.

## 8. Sažetak

*S. sclerotiorum* je patogena gljiva koja parazitira na više od 408 biljnih vrsta. Optimalna temperatura za razvoj je između 15 i 21°C i visoka relativna vlaga zraka. Cilj ovog rada je prikazati utjecaj temperature, pH podloge i eteričnih ulja na razvoj *S. sclerotiorum*. Temperature na kojima su se držali uzorci su 15°C, 22°C i 30°C, pH podloga je bio 6,5 i 7,5, a korištena eterična ulja su bila ulja kadulje, anisa, timijana, mente i bijelog bora. Laboratorijskim istraživanjem utvrđeno je da timijan ima najbolje antifungalno djelovanje na porast micelija i da je temperatura 30°C najmanje povoljna za razvoj ove gljive. Ulje bijelog bora antifungalno djelovanje na *S. sclerotiorum*.

Ključne riječi: porast micelija, fitopatogena gljiva, eterična ulja, temperatura

## 9. Summary

*S. sclerotiorum* is pathogenic fungus which is parasite on more than 408 plant species. The optimum temperature for development is between 15 and 22°C. It also prefers high relative air moisture. The aim of this research was to compare influence of temperature, pH of nutrition media and essential oils on growth of *S. sclerotiorum*. The temperature at which the samples are kept were 15°C , 22°C and 30°C , pH of substrate was 6.5 and 7.5. In this experiment five essential oils (thyme, sage, white pine, anise and mint) were used. Thyme was the best essential oil against disease and white pine is the worst. The worst temperature for *S. sclerotiorum* development is 30°C.

Key words: mycelial growth, plant pathogenic fungi, essential oils, temperature

## **10. Popis tablica**

Tablica 1. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 15°C), str. 19

Tablica 2. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 22°C), str. 20

Tablica 3. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 30°C), str. 21

Tablica 4. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 15°C), str. 22

Tablica 5. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 22°C), str. 23

Tablica 6. Porast micelija (mm) u danima mjerenja na PDA podlozi (pH 6,5; 30°C), str. 24

## 11. Popis slika

- Slika 1. Bijela trulež mrkve (<http://www.apsnet.org>), str. 1
- Slika 2. Bijela trulež na mahunarkama (<http://www.abc.net.au>), str. 2
- Slika 3. Bijela trulež rajčice (<https://ag.umass.edu>), str. 3
- Slika 4. Priprema uzorka u laminaru (foto Matija Kubala), str. 4
- Slika 5. Razvojni ciklus *S. sclerotiorum*  
(<https://www.google.hr/search?q=s.+sclerotiorum&espv=2&biw=1366&bih=643&source>),  
str. 9
- Slika 6. Komora za držanje uzoraka na 30°C (foto Matija Kubala), str. 11
- Slika 7. Komora za držanje uzoraka na 15 °C (foto Matija Kubala), str. 12
- Slika 8. Eterično ulje timijana (<http://ljekarnik.hr/>), str. 13
- Slika 9. Eterično ulje bijelog bora (<http://ljekarnik.hr/>), str. 13
- Slika 10. Eterično ulje kadulje (<http://kadulja.com>), str. 14
- Slika 11. Eterično ulje mente (<http://www.terra-organica.hr/>), str. 14
- Slika 12. Eterično ulje anisa, (<http://www.terra-organica.hr/>), str. 15
- Slika 13. Uzorak *S. sclerotiorum* uslikan 16.02.2105. (foto Matija Kubala), str. 16
- Slika 14. Precjepljivanje *S. sclerotiorum* na hranjivu podlogu (foto Matija Kubala), str. 17
- Slika 15. Mjerenje porasta micelija jednog od uzoraka (foto Matija Kubala), str. 18

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište J.J. Strossmayera

Poljoprivredni fakulteta Osijek

Sveučilišni diplomski studij Povrćarstvo i cvjećarstvo

Diplomski rad

Utjecaj temperature, pH podloge i eteričnih ulja na razvoj *Sclerotinia sclerotiorum*

Matija Kubala

## Sažetak

*S. sclerotiorum* je patogena gljiva koja parazitira na više od 408 biljnih vrsta. Optimalna temperatura za razvoj je između 15 i 21°C i visoka relativna vlaga zraka. Cilj ovog rada je prikazati utjecaj temperature, pH podloge i eteričnih ulja na razvoj *S. sclerotiorum*. Temperature na kojima su se držali uzorci su 15°C, 22°C i 30°C, pH podloga je bio 6,5 i 7,5, a korištena eterična ulja su bila ulja kadulje, anisa, timijana, mente i bijelog bora. Laboratorijskim istraživanjem utvrđeno je da timijan ima najbolje antifungalno djelovanje na porast micelija i da je temperatura 30°C najmanje povoljna za razvoj ove gljive. Ulje bijelog bora antifungalno djelovanje na *S. sclerotiorum*.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku.

Mentor: Prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Broj stranica: 36

Broj grafikona i slika: 15

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 31

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: porast micelija, fitopatogena gljiva, eterična ulja, temperatura

Datum obrane :

Stručno povjerenstvo za obranu:

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

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

3. Prof. dr. sc. Nada Parađiković, član

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



## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Faculty of Agriculture University Graduate Studies, Course Vegetable and Floriculture

Graduate Thesis

Influence of temperature, pH of nutrition media and essential oils on growth of *Sclerotinia sclerotiorum*

Matija Kubala

### Summary

*S. sclerotiorum* is pathogenic fungus which is parasite on more than 408 plant species. The optimum temperature for development is between 15 and 22°C. It also prefers high relative air moisture. The aim of this research was to compare influence of temperature, pH of nutrition media and essential oils on growth of *S. sclerotiorum*. The temperature at which the samples are kept were 15°C , 22°C and 30°C , pH of substrate was 6.5 and 7.5. In this experiment five essential oils (thyme, sage, white pine, anise and mint) were used. Thyme was the best essential oil against disease and white pine is the worst. The worst temperature for *S. sclerotiorum* development is 30°C.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: PhD Jasenka Ćosić,

Full Professor Number of pages: 36

Number of figures: 15

Number of tables: 6

Number of references: 31

Number of attachments:0

Original in: Croatian

Key words:mycelial growth, plant pathogenic fungi, essential oils, temperature

Thesis defended on date:

Reviewers:

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

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