

Antifungalni učinak eteričnih ulja na gljivu *Pyrenophora graminea*

Dujković, Angelina

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:460818>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-30**



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 U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Angelina Dujković

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Hortikultura

**Antifungalni učinak eteričnih ulja na gljivu *Pyrenophora
graminea***

Završni rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Angelina Dujković

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Hortikultura

**Antifungalni učinak eteričnih ulja na gljivu *Pyrenophora
graminea***

Završni rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Angelina Dujković

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Hortikultura

**Antifungalni učinak eteričnih ulja na gljivu *Pyrenophora
graminea***

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog rada:

1. prof. dr. sc. Jasenka Čosić, mentor
2. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, član
3. izv. prof. dr. sc. Jelena Ilić, član

Osijek, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda, smjer Hortikultura

Završni rad

Angelina Dujković

Antifungalni učinak eteričnih ulja na gljivu *Pyrenophora graminea*

Sažetak: Cilj ovoga istraživanja je ispitati utjecaj dvanaest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. Eterična ulja su primjenjivana u količinama od 5, 10, 15, 25 i 50 μ l. Pokus je postavljen u tri ponavljanja. Eterična ulja primijenjena u količini 25 i 50 μ l su statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija gljive u odnosu na kontrolu. Mjerenje zone inhibicije provedeno je četvrtog i sedmog dana od inokulacije. Najbolji antifungalni učinak imalo je ulje timijana. Ulje timijana je potpuno inhibiralo porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. Pored ulja timijana, eterična ulja citronele, lavande, čajevca, anisa i cimeta kore su imala jak antifungalni učinak. Eterično ulje eukaliptusa ima najslabiji antifungalni učinak.

Ključne riječi: *Pyrenophora graminea*, eterično ulje, porast micelija, antifungalni učinak

20 stranica, 2 tablice, 16 slika, 18 literaturnih navoda

Završni rad je pohranjen u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Undergraduate university study Agriculture, course Horticulture

BSc Thesis

Angelina Dujković

Antifungal activity of essential oils against fungus *Pyrenophora graminea*

Summary: The aim of this study was to determine the effect of twelve essential oils on the mycelial growth of *Pyrenophora graminea*. Essential oils are applied in amounts of 5, 10, 15, 25 and 50 μ l. The experiment was performed in the three repetitions. The inhibition zone was measured fourth and seventh days after inoculation. Essential oils applied in the amount of 25 and 50 μ l statistically very significantly inhibited the growth of fungal mycelium compared to the control. Thyme oil had the best antifungal effect. Thyme oil completely inhibited the growth of mycelium of the fungus *Pyrenophora graminea*. In addition to thyme oil, the essential oils of citronella, lavender, tea tree, anise and cinnamon bark had a strong antifungal effect. Eucalyptus essential oil had the weakest antifungal activity.

Keywords: *Pyrenophora graminea*, essential oils, mycelial growth, antifungal activity

20 pages, 2 tables, 16 figures, 18 references

BSc Thesis is archived in Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. MATERIJAL I METODE.....	3
2.1. Eterična ulja.....	3
2.2. Postupak.....	4
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	7
3.1. Antifungalni utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive četvrtog dana od inokulacije.....	7
3.2. Antifungalni utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive sedmog dana od inokulacije.....	11
3.3. Rasprava.....	15
4. ZAKLJUČAK.....	18
5. POPIS LITERATURE.....	19

1. UVOD

Prugavost lista ječma uzrokuje gljiva *Pyrenophora graminea* Ito & Kurib. Bolest se širi putem zaraženog sjemena i uzrokuje značajne gubitke prinosa i do 80%. U zaraženom sjemenu, gljiva živi kao micelij i klijanjem sjemena se aktivira i vrši zarazu. Prvi simptomi javljaju se na mladim listovima na kojima dolazi do pojave žutih klorotičnih pruga između lisnih žila (Ćosić i sur., 2008.). Pruge se šire, postaju smeđe i dolazi do kidanja listova duž žila. Kod jačih infekcija, zaraženi klasovi ostaju sitni i imaju šturo zrno, a dio klasova ostaje u rukavcu lista (Alasić, 2009.). O intenzitetu bolesti i šteti koju uzrokuje *Pyrenophora graminea* na usjevima ječma nema značajnih podataka za područje Republike Hrvatske.

Biljke napadaju mnogi uzročnici bolesti i štetnici te dolazi do smanjena kvalitete i količine prinosa. Poljoprivrednici za cilj imaju proizvodnju zdravih biljaka te u borbi protiv uzročnika biljnih bolesti i štetnika koriste različita sredstva za zaštitu bilja. Sredstva za zaštitu bilja, uključujući i fungicide, imaju negativan utjecaj na okoliš i zdravlje ljudi i životinja te je potrebno pronaći dobru učinkovitu zamjenu za kemijska sredstva. S tim ciljem brojni znanstvenici i stručnjaci traže alternativne metode zaštite koje su ekološki prihvatljive.

Biofungicidi su dobra alternativa za kemijske fungicide. Oni predstavljaju, prije svega, preparate na osnovi korisnih mikroorganizama koji kontroliraju razvoj uzročnika biljnih bolesti. Za proizvodnju biofungicida mogla bi se koristiti i eterična ulja. Eterična ulja koja bi se koristila za proizvodnju biofungicida moraju imati jak fungistatični učinak na porast micelija gljive koja uzrokuje bolesti i njezinu sporulaciju.

Eterična ulja se lako ekstrahiraju i lako se razgrađuju u okolišu te su ekološki prihvatljiva (Zygadlo i Grosso, 1995.). Poznato je oko 3000 različitih eteričnih ulja, a od komercijalne važnosti je oko 300 eteričnih ulja (Bakkali i sur., 2008.). Eterična ulja su hidrofobne i hlapljive tekućine koje sadrže aromatske spojeve i uglavnom se dobivaju iz dijelova aromatičnih biljaka (Arsad i sur., 2014.). Najčešće sadrže 20 do 60 komponenti od kojih su dvije ili tri komponente prisutne u visokim koncentracijama, a ostale komponente su prisutne u tragovima (Bakkali i sur., 2008.).

Eterična ulja mnogih biljaka pokazuju širok spektar djelovanja, imaju antifungalno, antibakterijsko i antivirusno djelovanje. Njihov kemijski sastav ovisi o različitim čimbenicima kao što su tip tla i klima, vrsta biljke, vrijeme berbe, zemljopisni položaj,

metoda ekstrakcije i dr. (Dhifi, 2016.). Djeluju na način da oštećuju strukturu stanične membrane gljive što dovodi do smrti stanice, ali i sprječavaju izgradnju stanične membrane te inhibiraju klijanje spora i rast micelija (Harris, 2002.).

Cilj ovoga završnoga rada je utvrditi antifungalno djelovanje dvanaest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea* u *in vitro* uvjetima.

2. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno u Centralnom laboratoriju za fitomedicinu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti Osijek. U pokusu je ispitan utjecaj dvanaest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*.

2.1. Eterična ulja

U pokusu je korišteno dvanaest eteričnih ulja: anis (*Pimpinella anisum* L.), bor (*Pinus sylvestris* L.), cimet kora (*Cinnamomum verum* Bercht & Presl), citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle), čajevac (*Melaleuca alternifolia* Cheel.), čempres (*Cupressus sempervirens* L.), eukaliptus (*Eucalyptus globulus* Labill.), klinčić (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry), lavanda (*Lavandula angustifolia* L.), naranča slatka (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.), ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) i timijan (*Thymus vulgaris* L.). Eterična ulja su primijenjena u količini 5 μ L, 10 μ L, 15 μ L, 25 μ L i 50 μ L (Slika 1).

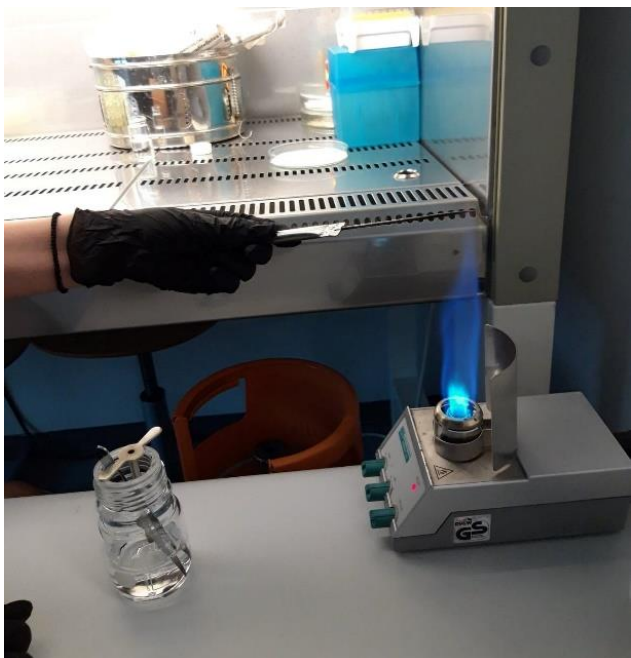


Slika 1. Aplikacija eteričnih ulja pomoću mikropipete

Izvor: Dujković, 2019.

2.2. Postupak

Prije početka pokusa, potrebno je sterilizirati radnu površinu i pribor etilnim alkoholom. Tijekom postupka sterilizacije pribora potrebno je prvo pribor staviti u alkohol, a zatim se pribor zagrijava nad plamenom dok se ne užari te se hladi u destiliranoj vodi (Slika 2 i 3).



Slika 2. Zagrijavanje pribora nad plamenom
Izvor: Dujković, 2019.



Slika 3. Hlađenje pribora u destiliranoj vodi
Izvor: Dujković, 2019.

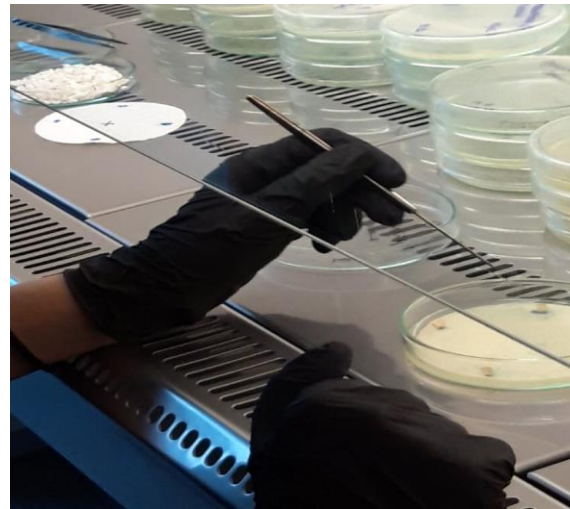
U pokusu su korištene Petrijeve zdjelice promjera 90 mm u koje je razlivena PDA podloga. PDA podloga ili krumpir dekstrozni agar je gotova smjesa za hranjivu podlogu koja se otapa u destiliranoj vodi i zatim sterilizira u autoklavu. Na Petrijeve zdjelici potrebno je napisati naziv fitopatogene gljive, naziv eteričnog ulja, broj ponavljanja, koncentraciju ulja i datum izvedbe pokusa.

Za pokus je bila potrebna čista kultura fitopatogene gljive *Pyrenophora graminea*. Uzimani su kružni isječci podloge s micelijem gljive.

U sredinu Petrijeve zdjelice postavlja se kružni isječak filter papira promjera 5mm. Na četiri mjesta koja su jednako udaljena od filter papira postavljaju se četiri kružna isječka podloge s micelijem gljive pomoću sterilne igle. Četiri diska podloge s micelijem gljive nalaze se uz rub Petrijeve zdjelice i promjera su 5 mm (Slika 4 i 5). Na svaki isječak filter papir pomoću mikropipete dodaje se određena količina eteričnog ulja (5, 10, 15, 25 ili 50 μ L).



Slika 4. Izrezivanje kružnih isječaka podloge s micelijem gljive
Izvor: Dujković, 2019.



Slika 5. Postavljanje kružnih isječaka podloge s micelijem gljive
Izvor: Dujković, 2019.

U kontrolnoj varijanti postavljaju se četiri diska podloge sa micelijom gljive u Petrijevu zdjelicu, a na kružni isječak filter papira pomoću mikropipete dodaje se destilirana voda. Pokus je izveden prema metodi Saikia i sur. (2001.) i postavljen je u tri ponavljanja. Postupak je proveden u komori za rad u sterilnim uvjetima (Slika 6.).



Slika 6. Komora za rad u sterilnim uvjetima
Izvor: Dujković, 2019.

Nakon precjepljivanja sve Petrijeve zdjelice stavljene su u klima komoru na temperaturu 22°C, 70% relativne vlage zraka i svjetlosni režim 12 sati dan / 12 sati tama.

Mjerenje zone inhibicije je provedeno četvrtog i sedmog dana. Pomoću ravnala mjeri se zona inhibicije, odnosno mjeri se prostor od micelija gljive do filter papira. Rezultati mjerenja unose se u tablicu i izraženi su mm.

Statistička analiza podataka obavljena je pomoću programa Statistica for Windows 10.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Antifungalni utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive četvrtog dana od inokulacije

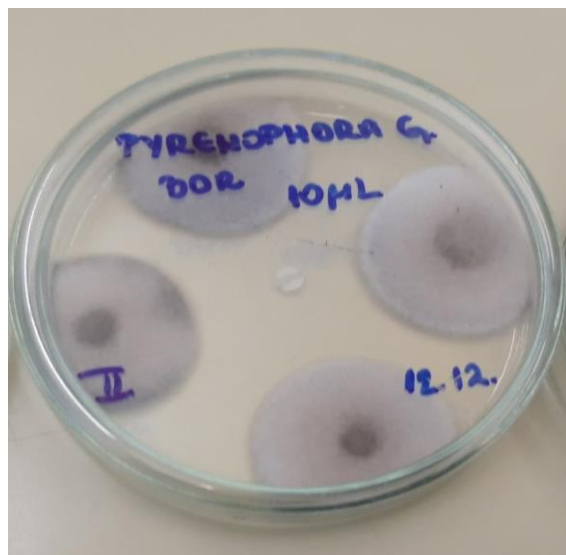
Rezultati istraživanja utjecaja dvanaest eteričnih ulja primijenjenih u količini 10, 15, 25 i 50 μ l na porast micelija *Pyrenophora graminea* četvrti dan nakon inokulacije prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Fungistatični utjecaj eteričnih ulja na porast micelija *Pyrenophora graminea* četvrtog dana od inokulacije

Ulje	10 μ l	15 μ l	25 μ l	50 μ l	LSD	
					0,05	0,01
Citronela	29,17	29,58	30,00	30,00	0,51	0,74
Bor	13,50	13,67	22,50	26,43	1,41	2,05
Ružmarin	16,58	17,25	25,50	24,75	3,59	5,22
Lavanda	24,75	26,92	30,00	29,50	3,69	5,36
Čajevac	24,83	28,50	29,83	30,00	2,63	3,82
Klinčić	24,00	25,33	25,92	27,50	1,68	2,44
Anis	29,42	29,42	29,83	30,00	0,62	0,91
Timijan	28,75	29,67	30,00	29,58	0,80	1,17
Naranča slatka	15,08	16,25	20,75	23,17	2,49	3,62
Čempres	16,25	17,17	24,58	28,25	2,34	3,40
Eukaliptus	14,08	13,92	20,25	22,58	2,30	3,34
Cimet kora	28,33	28,42	27,92	28,25	1,41	2,05
Kontrola	13,33	13,33	13,33	13,33		
LSD 0,05	1,75	2,27	1,58	1,92		
0,01	2,37	3,06	2,13	2,59		

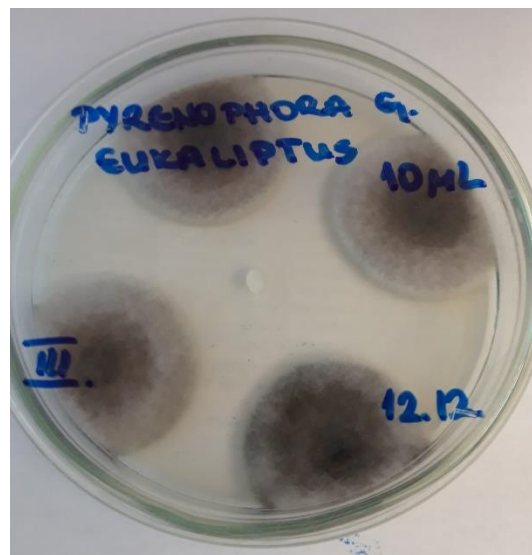
Podaci o utjecaju eteričnih ulja u količini 5 μ l na porast micelija četvrtog dana od inokulacije nisu prikazani u Tablici 1. budući da nije bilo razlika u djelovanju ulja na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*.

Između kontrole i eteričnih ulja bora i eukaliptusa primijenjenih u količini 10 μ l nisu utvrđene statistički značajne razlike dok su sva ostala ulja statistički vrlo značajno inhibirala rast micelija u odnosu na kontrolu (Slika 7 i 8). Eterična ulja citronele, anisa, timijana i kore cimeta statistički su vrlo značajno jače inhibirala rast micelija u odnosu na sve druge ispitivane gljive.



Slika 7. Utjecaj eteričnog ulja bora (10 μ l) na porast micelija četvrtog dana od inokulacije

Izvor: Dujković, 2019.



Slika 8. Utjecaj eteričnog ulja eukaliptusa (10 μ l) na porast micelija četvrtog dana od inokulacije

Izvor: Dujković, 2019.

Između ulja bora i eukaliptusa primijenjenih u količini 15 μ l nema razlike u djelovanju, a ujedno nema statistički značajnih razlika između ova dva ulja i kontrole. Sva ostala ulja primijenjena u količini 15 μ l statistički su vrlo značajno jače inhibirala rast micelija u odnosu na kontrolu.

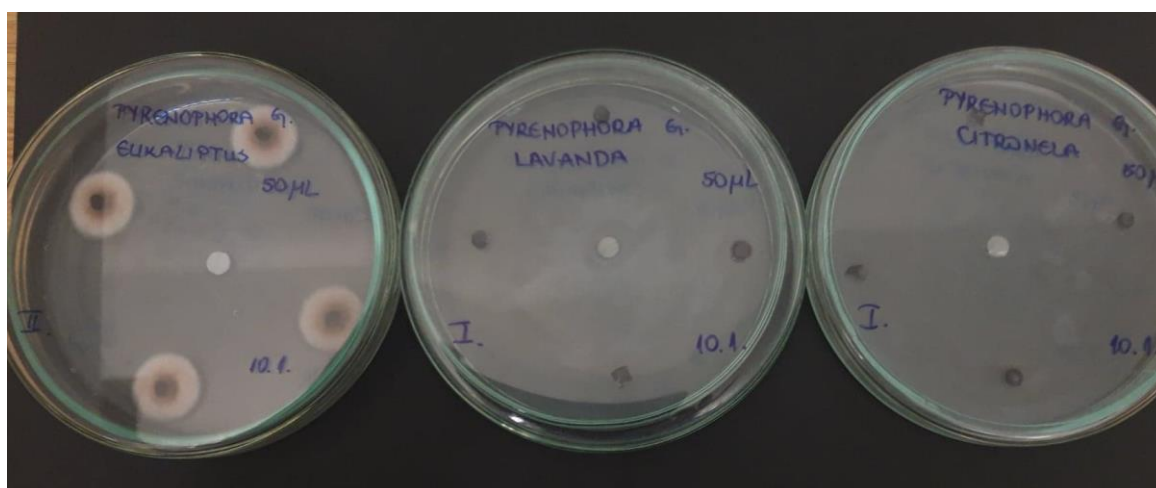
Ulja citronele, lavande, čajevca, anisa i timijana primijenjena u količini 25 μ l su potpuno inhibirala rast micelija u odnosu na kontrolu i ostala primijenjena ulja. Eterična ulja ružmarina, slatke naranče, bora i eukaliptusa primijenjena u količini 25 μ l statistički su vrlo značajno jače inhibirala porast micelija u odnosu na primjenu ulja u količinama 10 i 15 μ l. Na slici 9 prikazan je fungistatični učinak ulja klinčića, timijana i slatke naranče na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*.



Slika 9. Utjecaj eteričnog ulja timijana, klinčića i naranče slatke (25µl) na porast micelija četvrtog dana od inokulacije

Izvor: Dujković, 2020.

Od svih eteričnih ulja primijenjenih u količini 50µl najslabije inhibitorno djelovanje pokazala su eterična ulja eukaliptusa i naranče slatke, dok su citronela, čajevac, anis, lavanda i timijan potpuno inhibirali porast micelija gljive (Slika 10). Ulje naranče slatke u količini 50µl je statistički vrlo značajno jače inhibiralo porast micelija u odnosu na primjenu ulja u količini 10 i 15µl, a statistički značajno jače u odnosu na primjenu ulja u količini 25µl. Kod eteričnog ulja kore cimeta nisu utvrđene statistički značajne razlike bez obzira na primijenjenu količinu.



Slika 10. Utjecaj eteričnog ulja eukaliptusa, lavande i citronele(50µl) na porast micelija četvrtog dana od inokulacije

Izvor: Dujković, 2020.

Četvrtog dana od inokulacije sva eterična ulja primijenjena u količini od 25 i 50 μ l su statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija u odnosu na kontrolu. Najbolji učinak su imala eterična ulja citronele, timijana i anisa koja su statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija *Pyrenophora graminea* u svim primijenjenim količinama. Potpunu inhibiciju rasta gljive pokazalo je ulje citronele kod količine 25 i 50 μ l. Povećanjem količine eteričnog ulja bora povećava se jačina inhibicije rasta micelija gljive.

3.2. Antifungalni utjecaj eteričnih ulja na porast micelija gljive sedmog dana od inokulacije

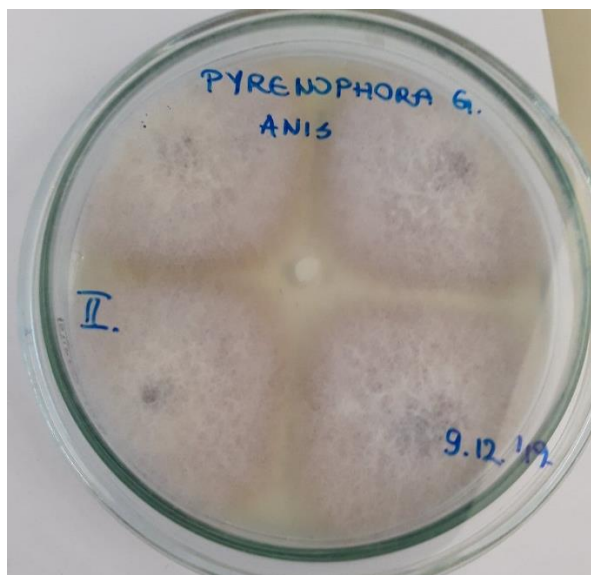
Rezultati istraživanja utjecaja dvanaest eteričnih ulja primijenjenih u količinama 5, 10, 15, 25 i 50 μ l na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea* sedmog dana od inokulacije prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Fungistatični utjecaj eteričnih ulja na porast micelija *Pyrenophora graminea* sedmog dana od inokulacije

Ulje	5 μ l	10 μ l	15 μ l	25 μ l	50 μ l	LSD	
						0,05	0,01
Citronela	10,92	28,17	28,75	30,00	30,00	1,39	1,98
Bor	3,58	3,42	2,92	10,92	16,17	2,71	3,86
Ružmarin	3,58	4,50	5,25	13,67	16,17	2,03	2,89
Lavanda	2,83	9,25	12,92	30,00	29,75	1,83	2,60
Čajevac	3,25	10,33	21,58	29,67	30,00	3,40	4,84
Klinčić	13,00	19,25	22,25	24,25	27,08	2,34	3,33
Anis	8,08	27,33	29,50	29,83	29,92	2,27	3,23
Timijan	30,00	28,75	28,92	30,00	30,00	0,78	1,10
Naranča slatka	3,83	7,25	8,50	12,17	15,50	2,51	3,58
Čempres	4,58	4,83	5,58	14,00	18,83	2,70	3,84
Eukaliptus	2,33	3,09	3,83	8,50	10,42	2,33	3,32
Cimet kora	15,42	22,58	26,00	26,00	27,00	2,09	2,97
Kontrola	1,83	1,83	1,83	1,83	1,83		
LSD 0,05	1,92	2,11	2,26	2,00	2,03		
0,01	2,59	2,85	3,05	2,70	2,75		

Eterična ulja primijenjena u količini 5 μ l pokazala su najslabije antifungalno djelovanje u odnosu na sve primijenjene količine ulja. Ulje timijana primijenjeno u količini 5 μ l je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na sva primijenjena ulja i kontrolu. Ulje timijana je potpuno inhibiralo porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. Ulja citronele, klinčića, anisa, timijana, čempresa i kore cimeta primijenjena u količini 5 μ l

su statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija u odnosu na kontrolu. Eterična ulja bora, ružmarina, lavande, čajevca i eukaliptusa nisu pokazali statistički značajne razlike u djelovanju na porast micelija u odnosu na kontrolu. U količini 5 μ l ulje klinčića je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na ulje anisa (Slika 11 i 12).



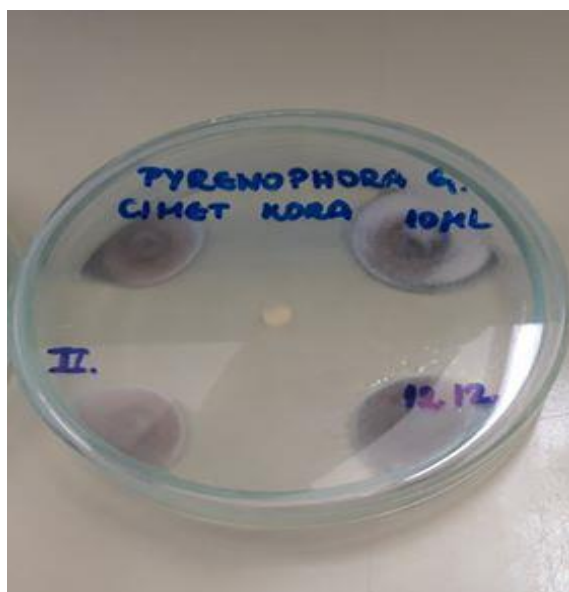
Slika 11. Utjecaj ulja anisa (5 μ l) na porast micelija *Pyrenophora graminea*
Izvor: Dujković, 2019.



Slika 12. Utjecaj ulja klinčića (5 μ l) na porast micelija *Pyrenophora graminea*
Izvor: Dujković, 2019.

Između ulja ružmarina i lavande primijenjenih u količini 5 μ l nema razlike u djelovanju na porast micelija. Ulje timijana primijenjeno u količini od 5 μ l je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija gljive u odnosu na ulje anisa, ali između tih ulja nema razlike u djelovanju u svim ostalim primijenjenim količinama ulja.

Eterično ulje naranče slatke primijenjeno u količini 10 μ l je značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na ulje čempresa, ali je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na kontrolu. Između eteričnih ulja citronele, anisa i timijana primijenjenih u količini 10 μ l nema razlike u djelovanju na porast micelija gljive. Ulje citronele primijenjeno u količini 10 μ l je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na ulje kore cimeta. Eterično ulje ružmarina u količini 10 μ l je pokazalo statistički vrlo značajno slabije fungistatično djelovanje u odnosu na ulje cimeta kore (Slika 13 i 14).



Slika 13. Utjecaj ulja cimeta kore (10µl) na porast micelija *Pyrenophora graminea*

Izvor: Dujković, 2019.



Slika 14. Utjecaj ulja ružmarina (10µl) na porast micelija *Pyrenophora graminea*

Izvor: Dujković, 2019.

Ulje bora primijenjeno u količini 15µl je imalo najslabiji antifungalni učinak u odnosu na sva ostala ulja primijenjena u istoj količini. Između ulja klinčića i čajevca primijenjenih u količini 15µl nema razlike u djelovanju na porast micelija, ali između tih ulja u svim ostalim primijenjenim količinama su utvrđene statistički vrlo značajne razlike. Rezultati antifungalnog utjecaja eteričnih ulja primijenjenih u količini 15µl pokazuju da ulja timijana, anisa i citronele imaju najjači antifungalni učinak u odnosu na druga ulja primijenjena u istoj količini. Između ulja citronele i kore cimeta primijenjenih u količini 15µl postoje statistički značajne razlike u djelovanju na porast micelija gljive.

Svih dvanaest eteričnih ulja primijenjenih u količini 25 i 50µl je statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija gljive *Pyrenophora graminea* u odnosu na kontrolu. Ulja citronele, lavande, čajevca, anisa i timijana u količini 25 i 50µl su potpuno inhibirala porast micelija gljive. Ulje eukaliptusa je najslabije inhibiralo porast micelija gljive u svim primijenjenim količinama. Između ulja bora i eukaliptusa postoje značajne razlike u djelovanju ulja na porast micelij u količini 25µl. Ulje čajevca je potpuno inhibiralo porast micelija u količini 25 (Slika 15) i 50µl, ali između količina 5, 10, 15 i 25µl ulja su statistički vrlo značajne razlike u djelovanju na porast micelija. Eterično ulje anisa u količinama 10, 15, 25 i 50µl statistički vrlo značajno inhibiralo porast micelija u odnosu na isto ulje u količini 5µl odnosno ulje anisa je imalo najslabije antifungalno djelovanje u količini 5µl. Na slici 16 prikazan je antifungalni učinak tri eterična ulja na porast micelija ispitivane gljive.



Slika 15. Utjecaj ulja eukaliptusa, ružmarina i čajevca u količini od 25 μ l na porast micelija *Pyrenophora graminea*

Izvor: Dujković, 2020.



Slika 16. Utjecaj ulja lavande, ružmarina i čempresa u količini od 50 μ l na porast micelija *Pyrenophora graminea*

Izvor: Dujković, 2020.

Kod ulja citronele, lavande čajevca, anisa, timijana, eukaliptusa i kore cimeta ne postoje statistički značajne razlike u porastu micelija između primjene ulja u količinama 25 i 50 μ l. Ulja primijenjena u manjim količinama imaju statistički vrlo značajno ili značajno manju zonu inhibicije u odnosu na primjenu ulja u većim količinama.

3.3.Rasprava

Rezultati istraživanja su pokazali da eterična ulja imaju različit učinak na porast micelija gljive ovisno o primijenjenoj količini i vrsti ulja.

Eterično ulje timijana je pokazalo najbolji antifungalni učinak koje je potpuno inhibiralo porast micelija u svim primijenjenim količinama. Ulje eukaliptusa je pokazalo najslabiji antifungalni učinak u odnosu na druga primijenjena eterična ulja.

Četvrtog dana od inokulacije eterična ulja citronele, anisa i timijana u svim primijenjenim količinama su imala najbolji antifungalni učinak. Također su i ulja lavande i čajevca primijenjena u količini 25 i 50 μ l potpuno inhibirali porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*.

Sedmog dana od inokulacija, sva primijenjena ulja u količini 25 i 50 μ l su statistički vrlo značajno inhibirala porast micelija gljive u odnosu na kontrolu. Ulje timijana je sedmog dana od inokulacije potpuno inhibiralo rast gljive pri primjeni najmanje količine ulja i antifungalno djelovanje ulja timijana je statistički vrlo značajno jače u odnosu na sva ostala primijenjena ulja.

Mnoga istraživanja su pokazala da ulje timijana posjeduje jako antifungalno djelovanje na porast micelija. Ćosić i sur. (2010.) su istraživali antifungalni učinak jedanaest eteričnih ulja na porast dvanaest fitopatogenih gljiva (*Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Diaporthe helianthi*, *Diaporthe caulivora*, *Diaporthe longicolla*, *Phomopsis viticola*, *Cochliobolus sativus*, *Colletotrichum coccodes*, *Thanatephorus cucumeris*). Eterična ulja timijana, lista cimeta, klinčića i anisa su pokazala najbolji antifungalni učinak na porast micelija. Ispitivanjem su utvrdili da je ulje timijana potpuno inhibiralo porast micelija gljive *Diaporthe caulivora*, *Phomopsis viticola*, *Diaporthe helianthi*, *Diaporthe longicolla*, *Colletotrichum coccodes*.

Sedmog dana od inokulacije, ulje anisa primijenjeno u najmanjoj količini je imalo najslabiji fungistatični utjecaj, dok u svim ostalim količinama ima jak fungistatični učinak na gljivu *Pyrenophora graminea*. Također su Ćosić i sur.(2010.) utvrdili dobro antifungalno djelovanje anisa na porast micelija svih dvanaest ispitivanih gljiva.

Palfi (2017.) je utvrdila da eterično ulje timijana ima jak fungistatični utjecaj na gljive *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*. Također ulje timijana ima jak fungistatičan utjecaj i na gljive *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Diplodia* spp.

(El Zemity i Ahmed 2005.), *Phytophthora cactorum* i *Cryponectria parasitica* (Lee i sur. 2008.)

Arras i Usai (2001.) navode da ulje timijana ima najbolji fungistatični učinak od svih dvanaest primijenjenih ulja na gljive *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* i *Alternaria citri*.

Rezultati naših istraživanja ukazuju da ulje eukaliptusa ima najslabiji antifungalni učinak na rast micelija *Pyrenophora graminea*. Ti su rezultati u skladu s rezultatima Palfi (2017.) koja je utvrdila da je ulje eukaliptusa imalo najslabiji antifungalni utjecaj na porast micelija svih ispitivanih gljiva.

S druge strane, Katooli i sur. (2011.) su utvrdili da je eterično ulje eukaliptusa potpuno inhibiralo porast micelija gljiva *Pythium ultimum* i *Rhizocotinia solani*, ali ulje eukaliptusa nije imalo antifungalni učinak na gljive *Penicillium digitatum* i *Aspergillus flavus*.

Rezultati naših istraživanja su u skladu s rezultatima Hossain i sur. (2016.). Oni su utvrdili da eterična ulja eukaliptusa i mandarine imaju najslabiji fungistatični učinak na gljivice *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* i *Penicillium chrysogenum*.

Rezultati istraživanja pokazala su da između ulja naranče slatke i eukaliptusa nemaju statistički značajnih razlika u djelovanju. Prema istraživanjima Singh i sur. (1992.) ulje naranče slatke je potpuno inhibiralo porast micelija gljiva *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizoctonia solani* i *Colletotrichum gloeosporioides*.

Eterično ulje citronele je također pokazalo jak antifungalni učinak na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. Ulje citronele primijenjeno u količini 5 μ l pokazalo je slabije antifungalno djelovanje, što dovodi do zaključka da primjenom veće količine ulja citronela ima jače inhibitorno djelovanje. U istraživanju koje su proveli Chen i sur. (2014.) utvrđeno je da eterično ulje citronele ima jak antifungalni učinak na porast micelija gljive *Alternaria alternata*. G de Billerbeck i sur. (2001.) su utvrdili da je ulje citronele potpuno inhibiralo porast micelija gljive *Aspergillus niger* pri 800mg/L, a pri 400mg/L je uzrokovalo inhibiciju rasta gljive 80% četvrtog dana od inokulacije.

Eterična ulja lavande i čajevca u količinama 25 i 50 μ l su potpuno inhibirala porast micelija. Povećavanjem količine ulja lavande i čajevca raslo je njihovo antifungalno djelovanje na rast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. S druge strane, Ćosić i sur. (2010.) su utvrdili da ulje lavande nije imalo inhibitorni učinak na porast micelija ispitivanih *Fusarium* vrsta.

Terzi i sur. (2007.) ispitivali su antifungalni učinak eteričnog ulja čajevca i njegovih glavnih komponenti na gljive *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Pyrenophora graminea* i *Blumeria graminis*. Oni su utvrdili da pojedine komponente eteričnog ulja čajevca jače inhibiraju porast micelija te tako terpinen-4-ol potpuno inhibira rast micelija gljiva *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* i *Pyrenophora graminea*.

Povećanjem količine eteričnog ulja raste i antifungalni učinak eteričnog ulja. Ulje timijana jedino nije pokazalo statistički značajne razliku u jačini inhibicije između najmanje i najveće primijenjene količine ulje.

Mnoga istraživanja su utvrdila da eterična ulja mogu stimulirati rast pojedinih vrsta gljiva. Prema rezultatima istraživanja ni jedno od ispitivanih eteričnih ulja nije stimuliralo rast *Pyrenophora graminea*.

4. ZAKLJUČAK

Cilj provedenih istraživanja je bio utvrditi antifungalno djelovanje dvanaest eteričnih ulja na porast micelija gljive *Pyrenophora graminea*. Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti da različita eterična ulja različito djeluju na porast micelija gljive. Također djelovanje eteričnih ulja je ovisilo o primijenjenoj količini ulja. U pravilu, povećanjem količine ulja rastao je i antifungalni učinak ulja. Najbolji učinak sva primijenjena ulja pokazala su u najvećim količinama.

Najbolje rezultate je pokazalo ulje timijana. Eterično ulje timijana je u svim primijenjenim količinama potpuno inhibiralo porast micelija gljive *P. graminea*. Pored timijana, značajan utjecaj na inhibiciju porasta micelija su imala ulja citronele, lavande, čajevca, anisa i cimet kore. Eterično ulje eukaliptusa je pokazalo najslabiji antifungalni učinak na porast micelija gljive *P. graminea*.

Daljnja istraživanja utjecaja eteričnih ulja na porast micelija fitopatogenih gljiva mogu dovesti do razvoja biofungicida. Biofungicidi su novo rješenje u suzbijanju biljnih bolesti i moguća zamjena za kemijska sredstva.

5. POPIS LITERATURE

1. Alasić, V. (2009.): Najznačajniji bolesti i štetnici strnih žitarica (pšenice i ječma) u 2008./2009. godini na području Brodsko-posavske županije. Glasnik zaštite bilja 5: 44-51
2. Arras, G., Usai, M. (2001.) :Fungitoxic Activity of 12 Essential Oils against Four Post harvest Citrus Pathogens: Chemical Analysis of Thymus capitatus Oil and its Effect in Subatmospheric Pressure Conditions. Journal of Food Protection, 7(5): 1025-1029.
3. Arshad, Z., Hanif M.A., Qadri, R.W.K., Khan, M.M. (2014.) : Role of Essential Oils in Plant Diseases Protection: A Review. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, 6: 11-17.
4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – a review. Food and Chemical Toxicology, 46(2): 446-475.
5. Chen, Q., Xu, S., Wu, T., Guo, J., Sha, S., Zheng, X., Yu, T. (2014.): Effect of citronella essential oil on the inhibition of postharvest *Alternaria alternata* in cherry tomato. J Sci Food Agr 94(12):2441-2447.
6. Ćosić, J., Ivezić, M., Štefanić, E., Šamota, D., Kalinović, I., Rozman, V., Liška, A., Ranogajec, Lj. (2008.): Najznačajniji štetnici, bolesti i korovi u ratarskoj proizvodnji, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 22-28.
7. Ćosić J., Vrandečić K., Poštić J., Jurković D., Ravlić M. (2010.): In vitro antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda, 16, 25-28.
8. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnifi, W. (2016.): Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. Medicines (Basel), 3(4):25.
9. El Zemity, S.R., Ahmed, S.M. (2005.): Antifungal activity of some essential oils and their major chemical constituents against some phytopathogenic fungi. J. Pest. Cont. & Environ. Sci., 13(1), 61-72.
10. G de Billerbeck, V., G Roques, C., Bessiere, J.M., Fonvieille, J.L., Dargent, R. (2001.): Effects Of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson Essential Oil on the Growth and Morphogenesis of *Aspergillus niger*. Canadian Journal of Microbiology, 47(1): 9-17.
11. Harris R., (2002.): Progress with superficial mycoses using essential oils. International Journal of Aromatherapy 12:83-91

12. Hossain, F., Follett, P., Dang Vu, K., Harich, M., Salmieri, S., Lacroix, M. (2016): Evidence for Synergistic Activity of Plant-Derived Essential Oils Against Fungal Pathogens of Food. *Food microbiology*, 53: 24-30.
13. Katooli, N., Maghsodlo, R., Razavi, S.E. (2011.): Evaluation of eucalyptus essential oil against some plant pathogenic fungi. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 3(2): 41-43.
14. Lee, YS., Kim, J., Shin, SC., Lee, SG., Park, IK. (2008.): Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(1): 23-28.
15. Palfi, M. (2017): Antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice u in vitro uvjetima. Doktorska disertacija, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.
16. Saikia, D., Khanuja, S.P.S., Kahol, A.P., Gurta, A.P., Kumar, S. (2001.): Comparative antifungal activity of essential oils and constituents from three distinct genotypes of *Cymbopogon* spp. *Current Science*, 80: 1264-1266
17. Singh, G., Upadhyay, R.K., Narayanan, C.S., Padamkumari, K.P., Rao, G.P. (1992.): Fungitoxic activity of volatile oils of *Hyptis suaveolens*. *Fitoterapia* (63): 462.
18. Terzi, V., Morcia, C., Faccioli, G., Vale, G., Tacconi, M., Malnati, M. (2007.): In vitro antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 44(6): 613-618.
19. Zygaldo, J.A., Grosso, N.R. (1995.): Comparative study on the antifungal activity of essential oils from aromatic plants growing wild in the central region of Argentina. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(2): 113-118