

Utjecaj eteričnih ulja na gljivu *Monilia fructigena*

Kell, Klaudia

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:010973>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-06**



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](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Klaudia Kell

Diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

Utjecaj eteričnih ulja na gljivu *Monilia fructigena*

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Klaudia Kell

Diplomski studij: Bilinogojstvo

Smjer: Zaštita bilja

Utjecaj eteričnih ulja na gljivu *Monilia fructigena*

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
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Sistematika roda MONILINIA.....	3
2.2. Značaj gljive <i>Monilia fructigena</i>	3
2.3. Simptomi kod <i>Monilia fructigena</i>	4
2.4. Značaj i simptomi drugih vrsta iz roda <i>MONILINIA</i>	5
2.5. Geografska rasprostranjenost patogena.....	8
2.6. Morfologija i laboratorijski uzgoj roda <i>MONILINIA</i>	8
2.7. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja.....	10
3. MATERIJAL I METODE RADA.....	12
4. REZULTATI.....	15
5. RASPRAVA.....	28
6. ZAKLJUČAK.....	30
7. POPIS LITERATURE.....	31
8. SAŽETAK.....	34
9. SUMMARY.....	35
10. POPIS TABLICA.....	36
11. POPIS SLIKA.....	37
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA.....	39
BASIC DOCUMENTATION CARD.....	40

1. UVOD

Poznata je činjenica da sredstva za zaštitu bilja i nakon karence ostavljaju dio aktivne tvari u biljkama i biljnim dijelovima, odnosno proizvodima koji će biti konzumirani. Mi, zapravo, sa svakom namirnicom koju konzumiramo, a koja je tijekom biljne proizvodnje ili tijekom skladištenja bila tretirana sredstvima za zaštitu bilja, onoliko količinu pesticida koja nije štetna za naš organizam. Ipak, dugoročno gledano takav kontinuirani unos ostataka pesticida u organizam je zdravstveno loš. Također, primjena kemijskih pesticida nije niti ekološki prihvatljiva. Trebamo sve više istraživati prirodu oko nas i pronaći alternativna rješenja za zaštitu bilja od štetočinja, a to su ekološki i zdravstveno prihvatljiva sredstva u zaštiti.

U nekim zemljama su tijekom raznih istraživanja znanstvenici došli do spoznaja da eterična ulja imaju fungistatični i baktericidni učinak. U stranoj literaturi možemo naći velik broj podataka o utjecaju eteričnih ulja na rast, razvoj i sporulaciju velikog broja fitopatogenih gljiva. Domaća istraživanja su, na žalost, u tom području vrlo rijetka.

Monilia fructigena, uzročnik smeđe truleži plodova, čest je problem u proizvodnji voća. Rasprostranjena je svugdje gdje se odvija proizvodnja jabuke, kruške, dunje ili košunjica voća. Plodovi mogu biti zaraženi od faze zametanja pa sve do berbe, ali do zaraze može doći i kasnije u skladištima. Treba napomenuti da se trulež plodova može širiti i kasnije u transportu pa čak i tijekom prodaje. Trulež ploda se naglo širi osobito poslije dugotrajnih kiša, posebno ako su te kiše došle nakon dužeg perioda lijepog i sunčanog vremena. U proljeće se razvijaju jastučići konidiofora i konidija. Pomoću vjetra, kiše ili insekata konidije dođu do ploda. Osjetljivost plodova na napad smeđe truleži je povećana kod zrelih plodova. Rjeđe su napadnuti mladi plodovi, a ukoliko su zahvaćeni oni nekrotiziraju, istrunu i otpadnu. Do zaraze najčešće dolazi putem različitih oštećenja ili rana. Na mjestu zaraze pojavljuju se žuto-bijele, a kasnije svijetlosmeđe koncentrične pjege, koje se brzo povećavaju. Pjege mogu zahvatiti veći dio ili cijeli plod. Tkivo mesa ispod pjege trune i potpuno propada. Neki plodovi koji su napadnuti mogu biti u potpunosti ispunjeni micelijem gljive, kasnije ti plodovi gube vodu, smežuraju se i naboraju. Takvi plodovi ostaju pričvršćeni za grane ili padnu na zemlju, a nazivaju se „mumije“. Mjere borbe protiv bolesti se sastoji

prvenstveno od indirektnog suzbijanja štetočina. To su najprije borbe protiv insekata ili protiv drugih uzročnika bolesti koje oštećuju plodove. Potrebno je prikupiti zaražene dijelove biljke i mumificirane plodove i svakako ih uništiti. Zaražene grane trebamo odrezati 20 cm ispod zaraženog dijela jer gljiva može prodirati dublje u drvo. Potrebno je redovito održavati krošnje rezidbom svake godine. Kako bismo spriječili širenje bolesti potrebno je da skladište bude čisto. Zaštitu možemo početi već pri podizanju voćnjaka. Treba birati propusne terene i gdje je olakšano provjetranje. Redove treba postavljati u pravcu dominantnih vjetrova radi bolje aeracije. Što se tiče kemijske na tržištu je registriran značajan broj aktivnih tvari učinkovitih protiv te bolesti. Na osjetljivim sortama bez zaštite može uzrokovati vrlo velike štete. Gubici u voćnjaku zbog bolesti mogu se kretati od 50-75 %, a u transportu od 5-25 %.

Cilj ovog diplomskog rada je bilo izolirati gljivu *Monilia fructigena* iz zaraženih plodova različitih biljnih vrsta te zatim utvrditi utjecaj šest eteričnih ulja na porast različitih izolata.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Sistematika roda *MONILINIA*

Rod *Monilinia* pripada pododjelu *Ascomycota*, razredu *Discomycetes* i porodici *Sclerotiniaceae*. Karakteristično je da imaju plodište zdjeličastog oblika koje se zove apotecij. Gljive iz ovog roda ne stvaraju prave sklerocije nego tzv. „lažne sklerocije“ odnosno mumije. Mumija se sastoji od hifa gljive i ostataka ploda, a oni služe za prezimljavanje. Nakon toga se na mumijama formiraju konidije ili se razvijaju apoteciji. Naziv roda *Monilinia* je prvi puta koristio Honey (1928.). Spolni stadij je *Monilinia fructigena*, gdje nastaje apotecij s askusima i askosporama, ali to se u prirodi ne dešava često, već se gljiva održava u nespolnom, odnosno, kondijskom stadiju. Nespolni stadij je vrlo čest i naziva se *Monilia fructigena*.

2.2. Značaj gljive *Monilia fructigena*

Monilia fructigena je jako značajan patogen koji uzrokuje smeđu trulež plodova prvenstveno na jabukama, kruškama, dunjama a ponekad i kod koštuničastog voća (Barta, 1991). Prema Bartu (1991.) *Monilia fructigena* može uzrokovati bolest na jabukama (*Malus × domestica* Borkh.), kruškama (*Pyrus communis* L.), dunjama (*Cydonia oblonga* Mill.), višnjama (*Prunus cerasus* L. = *Cerasus vulgaris*), trešnjama (*Prunus avium* L. = *Cerasus avium*), marelicama (*Prunus armeniaca* L. = *Armeniaca vulgaris*), breskvama (*Prunus persica* (L.) Batsch = *Persica vulgaris*), šljivama (*Prunus domestica* L.), mušulama, (*Mespilus germanica* L.) i na vinovoj lozi (*Vitis vinifera* L.). Bolest na vinovoj lozi opisuje i Glits (1990.). Moguća je pojava bolesti i na lješnjaku (*Corylus avellana* L.) (Slika 2.) (Buchwald, 1943., Csorba i Berend, 1965.).



Slika 1. *Monilia fructigena* na lješnjaku (*Corylus avellana* L.)

(Izvor: Internet <http://www.lfl.bayern.de/ips/obstbau/049712/index.php>)

Wormald (1954.) navodi da *Monilia fructigena* kod ukrasnog bilja može uzrokovati trulež plodova i to kod *Pyrus* i *Prunus* vrsta te kod *Mallus baccata* L., a van Leeuwen i sur. (2000.) navode da kod koštuničastog voća gljiva može izazvati izostanak plodova u vegetaciji. Gljiva smanjuje kvalitetu plodova ili dolazi do potpunog uništavanja plodova. U idealnim uvjetima za razvoj bolesti štete u proizvodnji mogu biti i do 70% (Szepessy, 1977.). Gljiva u skladištima može uzrokovati vrlo značajne štete (Kállay i Rosnyai, 2005.).

2.3. Simptomi kod *Monilia fructigena*

Monilia fructigena prvenstveno uzrokuje trulež plodova. Na temelju istraživanja bolest može izazvati i sušenje mladica s cvjetovima. Ta pojava vrlo je rijetka, jer konidije nastaju uglavnom u drugoj polovici vegetacije (Willetts i Bullock, 1993.). Na zaraženim plodovima, u početku, formiraju se male, okrugle smeđe mrlje. Mrlje se s vremenom povećavaju i na njima se formiraju žućkasti jastučići s koncentričnim krugovima (Slika 3.), to su strome s konidijama.

Raspored jastučića kasnije se može izgubiti te su tada nepravilno razbacani. Vlažno vrijeme povoljno utječe na razvoj i na širenje bolesti i tada bolest može zahvatiti cijelu površinu ploda (Xu i Robinson, 2000.). Do zaraze dolazi putem rana. Trulež može početi na jednom ali i na više mjesta na plodu (Agrios, 1997.). Ako se plodovi dodiruju trulež prelazi s jednog na drugi. U ovom slučaju na plodovima ne mora biti rana. Zaraženi ili truli plodovi zasuše i ostanu na stablu ili padnu na tlo. Ti su plodovi potpuno protkani micelijem gljive. Zanimljiva forma se može dogoditi u skladištima, kada zaraženi plodovi pocrne (pojava „crne jabuke“). U skladištima bez svijetla ne dolazi do stvaranja konidija pa na površini plodova nastaje tzv. „sterilna“ *Monilia*. Jako rijetko može doći do stvaranja micelija ili strome na površini, ali ni u ovom slučaju ne dolazi do stvaranja konidija (Byrde i Willetts, 1977.). Bolest može uzrokovati i rak rane na granama (Barta, 1991.). Zaražena kora i tkiva ispod kore dobiju tamnosmeđu boju, a kasnije dođe i do nekroze. Gljiva može prezimjeti u zaraženim polusuhim granama na kojima u proljeće nastaju ležišta konidija.



Slika 2. Koncentrični krugovi od *Monilia fructigena* na kruški

(Izvor: Internet <http://ephytia.inra.fr/>)



Slika 3. Plod koji je potpuno ispunjen micelijom gljiva (foto: Kell, 2014.)

2.4. Značaj i simptomi drugih vrsta iz roda *MONILINIA*

Pored *Monilia fructigena* unutar roda *Monilinia* postoji i druge važne fitopatogene gljive kao *Monilia laxa* i *Monilia fructicola*. Već Grog i Révy (1929.) spominju rod *Monilinia* kao najopasnije uzročnike bolesti u proizvodnji voća. Patogeni imaju jako sličnu biologiju. *Monilia laxa* najprije uzrokuje sušenje mladice i sušenje cvjetova. Može uzrokovati i potpuni izostanak vegetacije. Byrde i Willetts (1977.) smatraju da je *Monilia fructicola* najopasniji od svih uzročnika smeđe truleži plodova. Osim toga, gljiva može izazvati rakaste rane, sušenje cvjetova i mladica. U Japanu se

javlja i *Monilinia mali*. Na početku se pretpostavljalo da je gljiva bezopasna, a prvi puta je nađena na ukrasnom drvetu jabuke *Malus sieboldii*. Nakon toga je ista gljiva uzrokovala katastrofalne štete u voćnjacima jabuke (Barta, 1991.). *Monilinia laxa* f. sp. *mali* se javlja i u Europi (Byrde i Willetts, 1977.). Postoji i *Monilia polystroma*, koja je opisana samo u Japanu (van Leeuwen i sur., 2002.).

Barta (1991.) navodi da *M. laxa* najviše napada koštunjičasto voće (Slika 4.) dok se na jabukama i dunjama javlja rjeđe. *M. laxa* može zaraziti i bademe (*Prunus dulcis* L.). Pennycook (1989.) opisuje gljivu i na vinovoj lozi. Wormald (1954.) opisuje *M. laxa* na ukrasnom bilju *Prunus* vrsta kao npr. kod *Prunus triloba* Lindl. Barta (1991) opisuje istu bolest na cvjetovima japanske dunje (*Chaenomeles japonica*). *M. fructicola* napada koštunjičavo voće, ali i jabuke, kruške i dunje. Wormald (1954.) ju opisuje na ukrasnim *Pyrus* i *Prunus* vrstama, na japanskim dunjama te čak i na ružama (*Rosa* sp.). *Monilinia laxa* f. sp. *mali* uzrokuje sušenje cvjetova u proizvodnji jabuka. *M. mali* je osim na jabukama izolirana i s nekim divljih vrsta kao je *Malus sieboldii* Rehd. (Barta 1991).

U Hrvatskoj se najčešće javljaju *M. fructigena* i *M. laxa*. Posljedica napada *M. laxa* je masovno propadanje cvjetova i sušenje grančica, a nakon nekoliko godina uzastopnog napada uzročnika bolesti može doći do propadanja grana, dijelova krošnje pa i cijelog stabla. Osim toga, gljiva može uzrokovati i trulež ploda kao i *M. fructigena*. Znakovi bolesti najuočljiviji su u razdoblju cvatnje i neposredno nakon cvatnje, dok kod *M. fructigena* simptome najčešće primjećujemo već kod zrelih plodova. Napadnuti cvjetovi posmeđe i naglo se osuše, a zatim dolazi i do sušenja grana. Takve grančice, s osušenim cvjetovima, izgledaju kao da su spaljene vatrom. Prezimljava kao i *M. fructigena* u rak ranama ili zaraženim mumificiranim plodovima. Iz zaraženog cvijeta gljiva prodire u grančicu u kojoj izlučuje toksine te dolazi do sušenja grane, a sam uzročnik prodire dublje u drvo stvarajući rak rane.



Slika 4. *Monilia laxa* na višnjama

(Izvor: Internet <http://www.savjetodavna.hr/>)

Morfologija patogena je vrlo slična, no ipak različite vrste znaju uzrokovati ponekad slične a ponekad drugačije simptome. U Tablici 1. prikazani su simptomi *M. fructigena*, *M. laxa* i *M. fructicola* na najčešćim domaćinima.

Tablica 1. Usporedba simptoma *M. fructigena*, *M. laxa*, i *M. fructicola* na najčešćim domaćinima

	<i>M. fructigena</i>	<i>M. laxa</i>	<i>M. fructicola</i>
Jabuka	trulež ploda, „crna jabuka“, rak rane	trulež ploda (rijetko), rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	trulež ploda, „crna jabuka“, rak rane
Dunja	trulež ploda	trulež ploda (rijetko)	trulež ploda
Marelica	trulež ploda	trulež ploda, rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	trulež ploda, rak rane
Kruška	trulež ploda	trulež ploda (rijetko), sušenje cvjetova	trulež ploda
Badem	-	rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	rak rane, sušenje mladica s cvjetovima
Trešnja i višnja	trulež ploda	trulež ploda, rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	trulež ploda, sušenje mladica s cvjetovima
Lijeska	trulež ploda, opadanje plodova	-	-
Breskva i nektarin	trulež ploda	trulež ploda, rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	trulež ploda, rak rane, sušenje mladica s cvjetovima
Šljiva	trulež ploda	trulež ploda, rak rane, sušenje mladica s cvjetovima	trulež ploda, rak rane, sušenje cvjetova

2.5. Geografska rasprostranjenost patogena

Slobodno možemo reći da rod *Monilinia* možemo pronaći svugdje u svijetu gdje se uzgajaju biljne vrste koje one napadaju. *M. fructigena* je već bila dosta proširena u Europi u 1800. godinama. Konidijski stadij je bio poznat ranije, a spolni stadij je opisan tek 1936. godine. Spolni stadij *M. laxa* je prvi put opisan pod nazivom „*Sclerotinia laxa*“ i to 1905. godine dok je nespolni stadij ove gljive poznat od 1866. godine. Do danas su ove vrste rasprostranjene i kod nas u Hrvatskoj, a rasprostranjene su i u Europi, Americi, Australiji, Novom Zelandu, pa čak i u Aziji i Africi. *M. fructicola* je Bartu (1991.) najrasprostranjenija u Americi, Australiji, Novom Zelandu, Japanu i Egiptu. Prema podacima CABI/EPPO (2008.) gljivu možemo pronaći na područjima Kariba, Koreje, Tajvana, Indije, Oceanije te u Južnoj Africi. U Europi *M. fructicola* ima status karantenskog štetnog organizma te se nalazi na A2 listu. To znači da je njena prisutnost u Europi poznata, ali da nije raširena. Službeno se kontrolira i po potrebi suzbija. U

Španjolskoj su već više puta utvrdili prisustvo patogena. Petróczy i Palkovics (2005.) su opisali *M. fructicola* u Mađarskoj, a bolest je u zemlju stigla zaraženim breskvama iz Italije i Španjolske. Godinu kasnije je Kiss (2006.) potvrdio bolest na mađarskim plantažama. *Monilia mali* se nalazi u Japanu i u nekim sjevernim dijelovima Azije (Barta, 1991.). *Monilinia laxa* f. sp. *mali* prisutna je u nekim zemljama Europe (Byrde i Willetts, 1977.). Bolest koju uzrokuje *Monilia polystroma* opisana je u Japanu (van Leeuwen i sur., 2002.). Isti patogen još nisu opisali u drugim zemljama i ne nalazi se na karantenskoj listi.

2.6. Morfologija i laboratorijski uzgoj roda *MONILINIA*

Boja i oblik egzogene strome patogena je različit što ovisi o vrsti patogena (Wormald, 1954.). Konidije roda *Monilinia* nazivaju se još i makrokonidije. Makrokonidije imaju različite oblike i veličine, sve ovisi o vrsti patogena. Mogu imati eliptični i limunski oblik. Patogeni nekada stvaraju i mikrokonidije (Ubrizsy, 1956.). Ne razlikuju se samo funkcijom od makrokonidija nego imaju i drugačiji oblik. Wormald (1954.) opisuje da su makrokonidije kruškolikog oblika i 2,0–4,5 µm veličine. Byrde i Willetts (1977.) pretpostavljaju da mikrokonidije služe za skladištenje hranjive tvari. Kod uzgoja gljive u laboratorijskim uvjetima najčešće testiramo brzinu razvoja patogena te njegov oblik, boju, rub kolonije, fragmentaciju, zone, sporulaciju i pigmentaciju (Barta, 1991.). Kod kontroliranog uzgoja gljiva roda *Monilinia* možemo imati malih problema kod determinacije vrste jer izolati mogu imati značajne razlike i unutar vrsta. Probleme kod uspoređivanja i determinacije vrsta možemo imati između *Monilia laxa* i *Monilia fructigena*. Izolati *Monilia fructicola* mogu imati vrlo sličnu rozetu, što je inače karakteristično za *M. laxa*. Kod uzgoja i izolacije *M. laxa* i *M. fructicola* također možemo imati problema s determinacijom vrsta. U takvim slučajevima trebamo izolate zajedno staviti i uzgojiti u Petrijevoj zdjelici gdje na mjestu kontakta kulture *M. laxa* i *M. fructicola* postaje tamna, dobro vidljiva linija. Ta se linija kod uzgoja iste vrste neće pojaviti.

Van Leeuwen i sur. (2008.) navode da se *Monilia fructigena* na PDA podlozi na 22 °C razvija umjerenom brzinom.

2.7. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja

Eterična ulja ili esencijalna ulja (lat. *aetheroleum*) su hlapljive tvari koje se dobivaju iz biljnog materijala. Dobivamo ih procesom destilacije vodenom parom ili ekstrakcijom. Eterična ulja su smjese lako hlapljivih, biološki aktivnih kemijskih spojeva dobivenih iz različitih dijelova biljaka. Dijelovi mogu biti korijen, stabljika, list, cvijet ili plod. Eterična ulja su vrlo prepoznatljiva po jakom mirisu. Poznato je da se eterična ulja koriste u proizvodnji kozmetike i u farmaceutskoj industriji za proizvodnju različitih pripravaka. Manje je poznato da eterična ulja možemo koristiti, ne samo protiv bolesti kod ljudi, nego su sve više tražene i u zaštiti bilja.

U današnje vrijeme sve više i više tražimo i koristimo ekološki prihvatljive alternative u zaštiti bilja. Potencijal korištenja eteričnih ulja u borbi protiv patogena opisuje Jobling (2000.).

Shimoni i sur. (1993.) testirali su ekstrakte od *Majorana syriaca*, *Satureja thymbra*, *Salvia triloba* na uzročnike bolesti *Botrytis cinerea* i *Fusarium oxysporum*. Dokazali su da eterična ulja imaju jak negativan utjecaj na rast micelija.

Eterično ulje *Mentha suaveolens* ima izražena antimikrobna svojstva (Oumzil i sur., 2002.).

Paranagama i sur. (2003) su utvrdili da ekstrakt *Cymbopogon citratus* (limunska trava) ima antifungalni učinak na neke uzročnike biljnih bolesti. Okemo i sur. (2003.) navode da eterično ulje *Maesa lanceolata* var. *goulungenis* sprječava rast *Phytophthora cryptogea*, *Aspergillus niger*, *Phoma* sp., *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani*. Edris i Farrag (2003.) opisuju fungistatična svojstva *Mentha piperita* (paprena metvica) i *Ocimum basilicum* (bosiljak) protiv *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizopus stolonifer* te protiv vrsta iz roda *Mucor*. Eterično ulje *Artemisia nilagirica* inhibitorno djeluje na rast micelija *Phytophthora capsici* (Shafi i sur. 2004.). Valarini i sur. (1994.) su ispitivali ekstrakt lista *Cymbopogon citratus* te navode da potpuno sprječava rast micelija *Sclerotinia sclerotiorum*. Istraživanje su obavili u *in vitro* i *in vivo* uvjetima. Shafi i sur. (2004.) su dokazali da ulje *Artemisia nilagirica* inhibitorno djeluje na rast *Phytophthora capsici*.

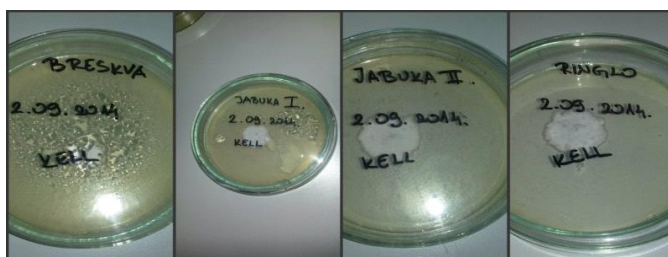
O utjecaju eteričnih ulja na rod *Monilinia* ima vrlo malo podataka. Shadab i sur. (1992.) su testirali utjecaj eteričnog ulja *Melissa officinalis* na *M. fructigena*. Porast gljive bio je potpuno inhibiran pri aplikaciji ulja u koncentraciji 500 ppm.

El-Sayed i Eman (2008.) na breskvama su testirali učinak ulja dobivenih iz *Mentha piperita* i *Ocimum basilicum* na *M. fructicola*. Zaključili su da ispitivana eterična ulja značajno inhibiraju rast *M. fructicola*.

3. MATERIJAL I METODE RADA

Cilj istraživanja je bilo izolacija gljive *Monilia fructigena* s različitih vrsta voća te ispitivanje utjecaja šest eteričnih ulja na razvoj izolata gljive. Istraživanje je obavljeno u Laboratoriju za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku.

Prvo je obavljeno sakupljanje zaraženih plodova s različitih mjesta. Zaraženi plodovi su bili jabuka (*Malus domestica* Borkh.), breskva (*Prunus persica* L.), šljiva (*Prunus domestica* L.), ringlo šljiva (*Prunus cocomillia* L.) te dunja (*Cydonia oblonga* Mill.). Za izolat sa svakog ploda sam pripremila četiri Petrijeve zdjelice s PDA podlogom. Jabuku (*Malus domestica* Borkh.) sam podijelila na jabuku I. i jabuku II. jer kod ove kulture sam pronašla veći broj zaraženih plodova. Tako sam na kraju imala šest izolata i za svaki izolat četiri Petrijeve zdjelice. Sterilnom laboratorijskom iglom sam uzela komadić strome i stavila ga na sredinu PDA podloge. Na slici 5 prikazane su Petrijeve zdjelice s čistom kulturom gljive. Gljivu smo držali tjedan dana u termostatu na 21°C.



Slika 5. Čista kultura gljive *Monilia fructigena* (foto: Kell, 2014.)

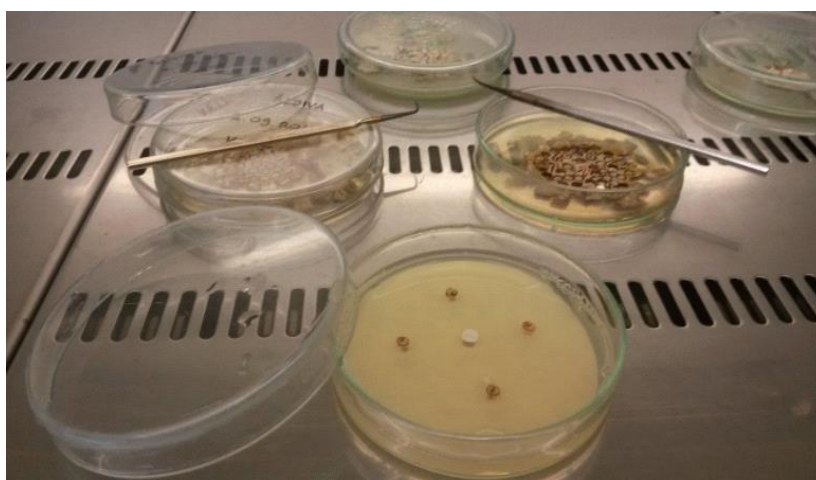
Kasnije sam u pokusu pratila utjecaj eteričnih ulja na razvoj gljive *Monilia fructigena*. Prvi dio pokusa sam radila u laminariju (komora za rad u čistom). Bile su mi potrebne Petrijeve zdjelice u kojima se nalazila pripremljena PDA podloga, filter papir, šest vrsta eteričnih ulja, destilirana voda, etilni alkohol, plamenik, pinceta, igla, čaša s alkoholom, mikropipeta, vata te čista kultura gljive *Monilia fructigena*. U pokusu sam koristila sljedeća eterična ulja: kadulja (*Salvia officinalis*), kim (*Carum carvi*), bijeli bor (*Pinus sylvestris*), list cimeta (*Cinnamomum verum*), klinčićevec (*Eugenia caryophyllus*), i gorka naranča (*Citrus aurantium ssp. amara*) (Slika 6.).

Prvo sam dezinficirala radnu površinu etilnim alkoholom. Nakon dezinfekcije uzela sam Petrijevu zdjelicu s PDA podlogom te sam na svaku zdjelicu nacrtala 5 točaka po određenom šablonu. U sredini se nalazila točka za filter papir, a četiri točke

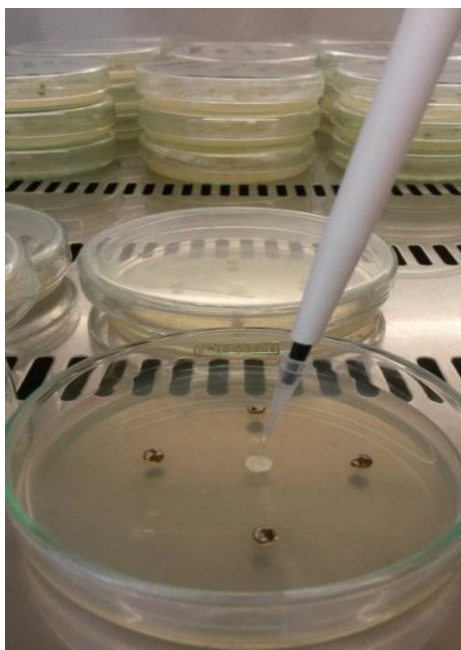
su uz rub bile su za nacjepljivanje gljive. Zatim sam uzela čiste kulture gljive *Monilia fructigena* koje sam izolirala iz breskve, šljive, ringlo šljive, dunje, jabuke I i jabuke II. Pokus je za svaku varijantu (6 eteričnih ulja i kontrola s destiliranom vodom) postavljen u tri ponavljanja. U svaku Petrijevu zdjelicu sam na sredinu stavila okrugli komadić filter papira promjera 5 mm. Sterilnom iglom sam kružne isječke gljive stavljala na prethodno označena četiri mjesta na PDA podlogu (slika 7). Kada sam to obavila uzela sam mikropipetom 5 μ l eteričnog ulja i pustila lagano na filter papir (slika 8.). Postupak je bio isti za sva ulja i kontrolu. Nakon toga Petrijeve zdjelice su stavljene u termostatsku komoru na inkubaciju na 21°C.



Slika 6. Eterična ulja (foto: Kell, 2014.)



Slika 7. Nacjepljivanje gljive *Monilia fructigena* (foto: Kell, 2014.)



Slika 8. Aplikacija eteričnih ulja na filter papir (foto: Kell, 2014.)

Drugi dio pokusa je bio praćenje razvoja gljive i mjerenje zone inhibicije. Razvoj gljive sam pratila tijekom 15 dana. Vremenski razmak između naciepljivanja i prvog mjerenja je bio 4 dana, između prvog i drugog isto 4 dana, između drugog i trećeg također 4 dana dok između trećeg i četvrtog 3 dana. Mjerenje zone inhibicije sam obavljala tako što sam pomoću ravnala izmjerila prostor od filter papira do ruba micelija gljive.

4. REZULTATI

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat s breskve) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 2.

Četvrtog dana od inokulacije najveći porast micelija utvrđen je u kontrolnoj varijanti (zona inhibicije 15,42 mm), dok je u svim varijantama pokusa s eteričnim uljima zona inhibicije bila iznad 16 mm. Najmanja zona u pokusnim varijantama iznosila je 16,08 mm (gorka naranča), no i u toj varijanti pokusa zona inhibicije je bila statistički značajno veća u odnosu na kontrolu.

Osmog dana od naciepljivanja zona inhibicije u svim varijantama pokusa osim u varijanti s uljem gorke naranče bila je statistički značajno veća u odnosu na netretiranu kontrolu i kretala se između 14,33 i 16,67 mm. Također, zona inhibicije kod primjene ulja kadulje, kima, bijelog bora, cimeta i klinčićevca bila je statistički značajno veća u odnosu na zonu inhibicije u varijanti s uljem gorke naranče.

Dvanaestog dana od inokulacije zona inhibicije kod primjene ulja kadulje, kima, bijelog bora i klinčićevca bila je statistički značajno veća u odnosu na kontrolu, a kod primjene ulja lista cimeta statistički značajno veća. Statistički značajnih razlika između kontrolne varijante i varijante s uljem gorke naranče nije bilo.

Kod zadnjeg mjerenja, 15. dan od naciepljivanja, utvrđeno je da statistički značajnih razlika u veličini zone inhibicije nema između kontrole, lista cimeta (Slika 9.) i gorke naranče. Statistički vrlo značajno veća zona inhibicije u odnosu na kontrolu utvrđena je u varijantama pokusa s uljem kadulje, kima i bijelog bora. Najjači fungistatični učinak imalo je ulje kima, budući da je zona inhibicije kod primjene tog ulja bila statistički vrlo značajno veća u odnosu na veličinu zone inhibicije u svim ostalim pokusnim varijantama.

Tablica 2. Zona inhibicije mm (izolat s breskve) na temperaturi 21°C

BRESKVA				
Eterična ulja	4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja $\bar{x}$	16,5	15	13,42	12,03
Kim $\bar{x}$	16,67	16,67	16,42	15,83
Bijeli bor $\bar{x}$	16,5	14,5	11,42	10,42
Cimet list $\bar{x}$	16,5	14,33	8,42	4,83
Klinčićevac $\bar{x}$	16,67	15,08	10,17	6,5
Gorka naranča $\bar{x}$	16,08	8,33	5	3,83
Kontrola $\bar{x}$	15,42	7,5	4,83	3,17
LSD 0,05	0,6	1,95	3,09	2,34
LSD 0,01	0,84	2,7	4,29	3,25



Slika 9. Utjecaj ulja cimetovog lista na porast gljive (izolat s breskve) 15. dan (foto: Kell, 2014.)

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat s ringlo šljive) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 3.

Četvrtog dana od inokulacije najveći porast micelija utvrđen je u varijanti pokusa s uljem gorke naranče (zona inhibicije 14,5 mm), zatim u varijanti s uljem kadulje (15,42 mm) i kontroli (15,67 mm). Kod ovog izolata gljive *M. fructigena* četiri

dana od naciepljivanja nisu utvrđene statistički značajne razlike u veličini zone inhibicije između pokusnih varijanti i kontrole. Osmog dana od naciepljivanja zona inhibicije jedino je u varijanti pokusa s uljem kima zona inhibicije bila statistički vrlo značajno veća u odnosu na kontrolu. Rezultati su bili isti i nakon 12 odnosno 15 dana od naciepljivanja.

Tablica 3. Zona inhibicije mm (izolat s ringlo šljive) na temperaturi 21°C

RINGLO					
Eterična ulja		4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja	$\bar{x}$	15,42	11,67	7,25	5,08
Kim	$\bar{x}$	17	17	17	17
Bijeli bor	$\bar{x}$	16,17	11,92	8,08	6,58
Cimet list	$\bar{x}$	16,42	13,5	10,08	8,83
Klinčićevec	$\bar{x}$	16,5	12,75	7,67	5,83
Gorka naranča	$\bar{x}$	14,5	11,33	7,08	5,5
Kontrola	$\bar{x}$	15,67	13,25	9,58	7,08
LSD 0,05		1,07	2,64	3,55	3,49
LSD 0,01		1,49	3,66	4,93	4,85

Na slikama 10 i 11 prikazan je utjecaj ulja kadulje i kima na porast *M. fructigena* (izolat s ringlo šljive) nakon 15 dana od naciepljivanja.



Slika 10. Utjecaj ulja kadulje na porast gljive (izolat s ringlo šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 11. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s ringlo šljive) 15. dan (foto, Kell, 2014.)

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat s jabuke I) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 4.

Svih dana mjerenja najmanja zona inhibicije utvrđena je u varijanti pokusa s uljem gorke naranče. Obzirom da petnaestog dana od naciepljivanja nisu utvrđene statistički značajne razlike između kontrole i varijanti pokusa s primjenom ulja možemo zaključiti da ispitivana ulja nisu imala fungistatični utjecaj na razvoj ovog izolata.

Tablica 4. Zona inhibicije mm (izolat s jabuke I) na temperaturi 21°C

JABUKA I.					
Eterična ulja		4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja	$\bar{x}$	16,5	16,08	14,75	13,25
Kim	$\bar{x}$	16,66	16,66	15,83	14,33
Bijeli bor	$\bar{x}$	16,25	14,5	10,58	7,67
Cimet list	$\bar{x}$	16,67	16,17	11,42	5,75
Klinčićevec	$\bar{x}$	17	14,33	9,25	5,83
Gorka naranča	$\bar{x}$	15,5	9,83	8	6,67
Kontrola	$\bar{x}$	15,67	12,92	10,83	10,08
LSD 0,05		0,98	2,65	4,83	4,71
LSD 0,01		1,36	3,67	6,7	6,54

Utjecaj ulja klinčičevaca na porast izolata s jabuke i prikazan je na slici 12, utjecaj ulja lista cimeta na slici 13, a utjecaj ulja kima na slici 14.



Slika 12. Utjecaj klinčičevaca na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 13. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 14. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.)

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat s jabuke II) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 5.

Tijekom svih dana provođenja pokusa najmanja zona inhibicije utvrđena je u kontrolnoj varijanti. Petnaestog dana od inokulacije jedino je zona inhibicije u varijanti pokusa s eteričnim uljem kima bila statistički vrlo značajno veća u odnosu na kontrolu. Zona inhibicije u toj varijanti pokusa je, također, bila statistički vrlo značajno veća u odnosu na zonu inhibicije kod primjene svih drugih ulja.

Tablica 5. Zona inhibicije mm (izolat s jabuke II) na temperaturi 21°C

JABUKAI I.					
Eterična ulja		4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja	$\bar{x}$	16,25	15,42	11	7,58
Kim	$\bar{x}$	16,41	16,41	16,41	16,25
Bijeli bor	$\bar{x}$	16	12,66	6,92	5,83
Cimet list	$\bar{x}$	16,25	15	9,33	4,67
Klinčićevec	$\bar{x}$	15,33	10,42	7	5,58
Gorka naranča	$\bar{x}$	16,08	12,92	7,5	5,33
Kontrola	$\bar{x}$	15,17	10,25	6,83	5,25
LSD 0,05		0,71	2,25	4,24	3,04
LSD 0,01		0,98	3,13	5,89	4,21

Na slici 15 prikazan je porast gljive u varijanti pokusa s uljem lista cimeta, a na slici 16 porast gljive u varijanti pokusa s eteričnim uljem klinčićeveca.



Slika 15. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s jabuke II) 15. dan(foto: Kell, 2014.)



Slika 16. Utjecaj ulja kličicevca na porast gljive (izolat s jabuke II) 15. dan (foto: Kell, 2014.)

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat sa šljive) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 6.

Statistički vrlo značajno bolji porast micelija, odnosno statistički vrlo značajno manja zona inhibicije u odnosu na kontrolu utvrđena je svih dana mjerenja u varijanti pokusa s eteričnim uljem gorke naranče. Na temelju navedenog možemo reći da je ulje gorke naranče imalo stimulativan utjecaj na rast izolata sa šljive. Petnaestog dana od naciepljivanja statistički vrlo značajno manja zona inhibicije u odnosu na kontrolu utvrđena je i u varijantama pokusa s uljem kadulje i lista cimeta te statistički značajno manja zona inhibicije u odnosu na kontrolu u varijanti pokusa s uljem bijelog bora. Dakle, i ova ulja imaju stimulirajući utjecaj na rast izolata sa šljive.

Statistički vrlo značajno slabiji porast micelija u odnosu na kontrolu i sve ostale pokusne varijante utvrđen je za eterično ulje kima.

Tablica 6. Zona inhibicije mm (izolat sa šljive) na temperaturi 21°C

ŠLJIVA					
Eterična ulja		4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja	$\bar{x}$	13	3,5	2,58	2,41
Kim	$\bar{x}$	16,67	16,67	16,67	16,67
Bijeli bor	$\bar{x}$	14,67	8,33	5,25	4,42
Cimet list	$\bar{x}$	15,5	11,08	2,67	2,17
Klinčićevec	$\bar{x}$	16,33	13,33	8,41	7,08
Gorka naranča	$\bar{x}$	11,42	3,42	2,17	1,75
Kontrola	$\bar{x}$	15	10,17	7,58	6,75
LSD 0,05		2,36	4,31	2,44	2,04
LSD 0,01		3,28	5,98	3,39	2,83

Na slici 17 prikazan je utjecaj eteričnog ulja lista cimeta na porast *M. fructigena* (izolat sa šljive), a na slici 18 utjecaj eteričnog ulja kima.



Slika 17. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat sa šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 18. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat sa šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.)

Utjecaj eteričnih ulja na porast gljive *Monilia fructigena* (izolat s dunje) na temperaturi 21°C prikazan je u Tablici 7.

Tablica 7. Zona inhibicije mm (izolat s dunje) na temperaturi 21°C

DUNJA					
Eterična ulja		4. DAN	8. DAN	12. DAN	15. DAN
Kadulja	$\bar{x}$	16,58	12,58	9,67	6,25
Kim	$\bar{x}$	16,33	15,67	14,83	13,25
Bijeli bor	$\bar{x}$	16,33	13	8,25	5,5
Cimet list	$\bar{x}$	16,83	14,67	7,58	4
Klinčićevac	$\bar{x}$	16,17	13,17	7,17	5,33
Gorka naranča	$\bar{x}$	15,83	6,33	4,17	3,75
Kontrola	$\bar{x}$	14,17	7,25	4,25	4
LSD 0,05		0,53	2,79	4,03	1,99
LSD 0,01		0,74	3,88	5,59	2,77

Početni porast izolata (4. dan od inokulacije) bio je u kontroli statistički vrlo značajno brži u odnosu na sve varijante pokusa s eteričnim uljima. Petnaestog dana od naciepljivanja statistički vrlo značajno veću zonu inhibicije u odnosu na kontrolu i sve pokusne varijante utvrdili smo u varijanti pokusa s uljem kima.

Porast micelija izolata *M. fructigena* s dunje osam dan od nacjepljivanja u varijanti s eteričnim uljem gorke naranče prikazan je na slici 19.



Slika 19. Utjecaj ulja gorke naranče na porast gljive (izolat s dunje) 8. dan (foto: Kell, 2014)

Porast micelija istog izolata *M. fructigena* 15. dan od nacjepljivanja u varijanti s eteričnim uljem gorke naranče prikazan je na slici 20, a na slikama 21, 22 i 23 u varijantama pokusa s eteričnim uljem lista cimeta, kima odnosno bijelog bora.



Slika 20. Utjecaj ulja gorke naranče na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 21. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 22. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.)



Slika 23. Utjecaj ulja bijelog bora na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.)

5. RASPRAVA

Eterična ulja su aromatske tekućine dobivene iz različitih biljnih dijelova. Danas je poznato više od 1300 biljnih vrsta iz kojih se procesima ekstrakcije mogu dobiti eterična ulja (Wilkins i Bord, 1989.). U njihovom sastavu se često nalazi stotinjak kemijskih spojeva od kojih najčešće tri do četiri komponente čine više od 90% ulja, a sve ostale komponente zastupljene su vrlo malo.

Utjecaj ulja na rast i razvoj gljiva vrlo je različit, a njihova biološka aktivnost ovisi o njihovom sastavu (vrsta ulja, lokacija s koje su biljke za ekstrakciju sakupljene, godini i fazi razvoja u kojima su biljke sakupljane) te o vrsti i izolatu gljive, načinu primjene i količini/koncentraciji ulja. Tijekom našim istraživanja utvrdili smo da je ulje kima imalo jak fungistatični učinak na sve istraživanje izolate *M. fructigena*. Istraživanja Lee i sur. (2007.) pokazala su da ovo ulje ima značajan fungistatični utjecaj i na rast *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum* i *Rhizoctonia solani*. Ćosić i sur. (2010.) navode da je eterično ulje kima imalo značajan fungistatični utjecaj na *Phomopsis viticola*, *Diaporthe helianthi* i *Helminthosporium sativum*, dok je učinak na *Tanatephorus cucumeris*, *Fusarium avenaceum* i *Fusarium graminearum* bio slab.

S druge strane na primjer, eterično ulje lista cimeta nije imalo fungistatični utjecaj na izolat s dunje dok je na porast micelija izolata sa šljive imalo stimulirajući utjecaj. Eterično ulje kadulje statistički je vrlo značajno inhibiralo rast micelija izolata s breskve, na izolat s ringlo šljive nije imao fungistatični utjecaj dok je na rast izolata sa šljive imalo stimulirajući učinak.

Novak (2012.) je istraživala utjecaj eteričnih ulja kadulje, ružmarina, klinčićevca, cimeta, anisa i timijana na klijavost konidija *Passalora fulva*, uzročnika baršunaste plijesni rajčice. Autorica navodi da najjači negativni utjecaj na klijavost konidija ima ulje klinčićevca, a najslabiji ulje lista cimeta. Vrijednost EC_{50} se kretala između $1,24 \mu\text{g ml}^{-1}$ (klinčićevac) i $2,552 \mu\text{g ml}^{-1}$ (kadulja).

Sumalan i sur. (2013.) navode da je aplikacijom eteričnih ulja timijana, mente, melise i kadulje na zrno pšenice smanjena količina mikotoksina koje produciraju *Fusarium* vrste u zrnu.

Naša istraživanja, kao i većina istraživanja koja se odnose na proučavanje antifungalnog djelovanja eteričnih ulja, provedena su u *in vitro* uvjetima. Daljnja istraživanja svakako bi trebalo provoditi u *in vivo* uvjetima budući da rezultati s istim uljima, biljnim vrstama i patogenima mogu biti vrlo različita (Hyltdgaard i sur., 2012.).

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog laboratorijskog istraživanja o fungistatičnom utjecaju eteričnih ulja na porast različitih izolata *Monilia fructigena* može se zaključiti:

- Različita eterična ulja imaju različit utjecaj na porast istog izolata *M. fructigena*
- Isto eterično ulje može imati različit utjecaj na porast izolata *M. fructigena*
- Eterično ulje kima je imalo statistički vrlo značajno jači negativni utjecaj na porast micelija svih ispitivanih izolata gljive
- Ulja gorke naranče, cimeta i kadulje stimulirala su porast micelija *M. fructigena* sa šljive.

7. POPIS LITERATURE

1. Batra, L. R. (1991.): World species of *Monilinia* (Fungi): Their ecology, biosystematics and control. Mycologia Memoir, Berlin.
2. Byrde, R. J. W., Willetts, H. J. (1977.): The brown rot fungi of fruit. Their biology and control. Oxford .
3. Ćosić J., Juković D., Vrandečić K. (2006.): Praktikum iz fitopatologije, Sveučilište Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek.
4. Ćosić, J., Vrandečić, K., Poštić, J., Ravlić, M. (2010.): *In vitro* antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda 16(2), 25-28.
5. Edris A. E., Farrag E. S. (2003.): Antifungal activity of pepper mint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. Nahrung 47.
6. El-Sayed, H. E. Z., Eman, S. H. F. (2008.): Fumigation of peach fruits with essential oils to control postharvest decay. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4 (5): 512–519.
7. Glits, M. (2000.): Alma. 167–189 p. In: Glits M. és Folk Gy.: Kertészeti Növénykórtan. Budapest: Mezőgazda Kiadó
8. Gróf, B., Révy, D. (1929.): Növénykórtan. Budapest: “Pátria” Irodalmi Vállalat és Nyomdai Részvénytársaság. 61–64.
9. Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L. (2012.): Essential oils in food preservation: mode of action, synergies and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology 3(12), 1-24.
10. Jobling, J. (2000): Essential oils: A new idea for post harvest disease control. *Good Fruits and Vegetables Magazine* 11.
11. Kállay, T., Rozsnyai, Zs. (2005.): Az alma tárolási betegségei. Budapest: Érdi Gyümölcs– és Dísznövénytermesztési Kutató–Fejlesztő Kht.
12. Kiss, A. (2007): Új *Monilia* faj veszélyezteti a gyümölcsösöket. Agrofórum 18.
13. Lee, Y.S., Kim, J., Shin, S.C., Lee, S.G.; Park, I.K. (2008.): Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. Flavour Frag. J. 23, 23-28.

14. Novak, A. (2012.): Karakterizacija patotipova gljivice *Passalora fulva* (Cooke) U. Braun & Crous uzročnika barsunaste plijeni lista rajcice u Hrvatskoj. Doktorski rad, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
15. Oumzil, H., Ghoulam, i S., Rhajaoui, M., Ilidrissi, A., Fkih–Tetouani, S., Faïd, M., Benjouad A. (2002.): Antibacterial and antifungal activity of essential oil of *Mentha suaveolens*. *Phytotherapy Research* 16
16. Petróczy, M., Palkovics, L. (2006.): First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* on imported peach in Hungary. *Plant Disease*, 90.
17. Petróczy, M., Palkovics, L. (2005.): A *Monilinia fructicola* karantén kórokozó hazai megjelenése és azonosítása import őszibarackon. *Növényvédelem* 41
18. Petróczy, M., Glits, M., Palkovics, L. (2005.): *Monilina* fajok díszcserjéken. *Növényvédelem* 41.
19. Shadab, Q., Hanfif, M., Chaudhary, F. M. (1992.): Antifungal activity by lemongrass essential oil. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 35:246-249.
20. Shafi, P. M., Nambiar, M. K. G., Clery, R. A., Sarma, Y. R., Veena, S. S. (2004.): Composition and antifungal activity of the oil of *Artemisia nilagirica*. *Journal of Essential Oil Research* 16(4):377-379.
21. Shimoni, M., Putievsky, E., Ravid, U., Reuveni, R. (1993.): Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. *Journal of Chemical Ecology* 19(6): 1129-1133.
22. Sumalan, R.M., Alexa, E., Poiana, M.A. (2013.): Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chem. Cent. J.* 7(1), 32.
23. Szepessy, I. (1977.): *Növénybetegségek*. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 368–400
24. Willetts, H. J., Bullock, S. (1993.): Cytology, histology and histochemistry of fruit infection by *Monilinia* species. U Biggs AR (ur.) *Handbook of cytology. Histology and histochemistry of fruit tree diseases*. CRC Press, Boca Raton, 113–136.
25. Wilkins, K.M., Board, R.G. (1989.): Natural antimicrobial systems. U Gould, G.W. (ur.) *Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures*. Elsevier, Lodon,.

26. Xu, X. M., Robinson, J. D. (2000.): Epidemiology of brown rot (*Monilinia fructigena*) on apple: infection of fruits by conidia. Plant Pathology 49(2):201-206.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja u ovom radu je bio izolirati gljivu *Monilia fructigena* iz zaraženih plodova jabuke (*Malus domestica*), breskve (*Prunus persica*), šljive (*Prunus domestica*), ringlo šljiva (*Prunus cocomillia*) i dunje (*Cydonia oblonga*) te ispitati utjecaj eteričnih ulja kadulje (*Salvia officinalis*), kima (*Carum carvi*), bijelog bora (*Pinus sylvestris*), lista cimeta (*Cinnamomum verum*), klinčićeveca (*Eugenia caryophyllus*) i gorke naranče (*Citrus aurantium ssp. amara*) na njihov porast.

Eterično ulje kima jedino je imalo statistički vrlo značajno jači negativni utjecaj na porast micelija svih ispitivanih izolata gljive. Ostala ulja su imala negativan učinak na porast samo nekih izolata. Ulja gorke naranče, cimeta i kadulje stimulirala su porast micelija *M. fructigena* sa šljive.

Ključne riječi: *Monilia fructigena*, eterična ulja, porast micelija

9. SUMMARY

The goal of this research was to isolate the *Monilia fructigena* fungus from the infected apples (*Malus domestica*), peaches (*Prunus persica*), plums (*Prunus domestica*), Italian plums (*Prunus cocomillia*), and quince (*Cydonia oblonga*) and to investigate the effect of essential oils of sage (*Salvia officinalis*), carraway (*Carum carvi*), Scots pine (*Pinus sylvestris*), cinnamon leaves (*Cinnamomum verum*), cloves (*Eugenia caryophyllus*) and bitter orange (*Citrus aurantium ssp.amara*) on mycelium growth.

Carraway essential oil was the only one that had showed a statistically significant negative effect on the mycelium growth of all tested *M. fructigena* isolates. Other essential oils showed adverse negative effect on the growth of certain isolates. Essential oils of the bitter orange, cinnamon and sage had stimulated the mycelium growth of the *M. fructigena* isolate from plum.

Key words: *Monilia fructigena*, essential oils, mycelium growth

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Usporedba simptoma *M. fructigena*, *M. laxa*, i *M. fructicola* na najčešćim domaćinima, str. 8.

Tablica 2. Zona inhibicije mm (izolat s breskve) na temperaturi 21°C. str. 16.

Tablica 3. Zona inhibicije mm (izolat s ringlo šljive) na temperaturi 21°C, str. 17.

Tablica 4. Zona inhibicije mm (izolat s jabuke I) na temperaturi 21°C, str. 18.

Tablica 5. Zona inhibicije mm (izolat s jabuke II) na temperaturi 21°C, str. 21.

Tablica 6. Zona inhibicije mm (izolat sa šljive) na temperaturi 21°C, str. 23.

Tablica 7. Zona inhibicije mm (izolat s dunje) na temperaturi 21°C, str.24.

11. POPIS SLIKA

Slika 1. *Monilia fructigena* na lješnjaku (*Corylus avellana* L.) (Izvor: Internet <http://www.lfl.bayern.de/ips/obstbau/049712/index.php>), str. 3.

Slika 2. Koncentrični krugovi od *Monilia fructigena* na kruški (Izvor: Internet <http://ephytia.inra.fr/>), str. 5.

Slika 3. Plod koji je potpuno ispunjen micelijom gljiva (foto: Kell, 2014.), str. 5.

Slika 4. *Monilia laxa* na višnjama (Izvor: Internet <http://www.savjetodavna.hr/>), str. 7.

Slika 5. Čista kultura gljive *Monilia fructigena* (foto: Kell, 2014.), str. 12.

Slika 6. Eterična ulja (foto: Kell, 2014.), str. 13.

Slika 7. Nacijepljivanje gljive *Monilia fructigena* (foto: Kell, 2014.), str. 13.

Slika 8. Aplikacija eteričnih ulja na filter papir (foto: Kell, 2014.), str. 14.

Slika 9. Utjecaj ulja cimetrovog lista na porast gljive (izolat s breskve) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 16.

Slika 10. Utjecaj ulja kadulje na porast gljive (izolat s ringlo šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 17.

Slika 11. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s ringlo šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 18.

Slika 12. Utjecaj klinčićevaca na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 19.

Slika 13. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 19.

Slika 14. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s jabuke I) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 20.

Slika 15. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s jabuke II) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 21.

Slika 16. Utjecaj ulja kličićevca na porast gljive (izolat s jabuke II) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 22.

Slika 17. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat sa šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 23.

Slika 18. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat sa šljive) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 24.

Slika 19. Utjecaj ulja gorke naranče na porast gljive (izolat s dunje) 8. dan (foto: Kell, 2014), str. 25.

Slika 20. Utjecaj ulja gorke naranče na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 25.

Slika 21. Utjecaj ulja lista cimeta na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 26.

Slika 22. Utjecaj ulja kima na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 26.

Slika 23. Utjecaj ulja bijelog bora na porast gljive (izolat s dunje) 15. dan (foto: Kell, 2014.), str. 27.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij, smjer Zaštita bilja

Diplomski rad

UTJECAJ ETERIČNIH ULJA NA GLJIVU *MONILIA FRUCTIGENA*

Klaudia Kell

Sažetak:

Cilj istraživanja u ovom radu je bio izolirati gljivu *Monilia fructigena* iz zaraženih plodova jabuke (*Malus domestica*), breskve (*Prunus persica*), šljive (*Prunus domestica*), ringlo šljiva (*Prunus cocomillia*) i dunje (*Cydonia oblonga*) te ispitati utjecaj eteričnih ulja kadulje (*Salvia officinalis*), kima (*Carum carvi*), bijelog bora (*Pinus sylvestris*), lista cimeta (*Cinnamomum verum*), klinčićeveca (*Eugenia caryophyllus*) i gorke naranče (*Citrus aurantium ssp. amara*) na njihov porast.

Eterično ulje kima jedino je imalo statistički vrlo značajno jači negativni utjecaj na porast micelija svih ispitivanih izolata gljive. Ostala ulja su imala negativan učinak na porast samo nekih izolata. Ulja gorke naranče, cimeta i kadulje stimulirala su porast micelija *M. fructigena* sa šljive.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Čosić

Broj stranica: 39

Broj grafikona i slika: 23

Broj tablica: 8

Broj literaturnih navoda: 26

Broj priloga:

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: *Monilia fructigena*, eterična ulja, porast micelija

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Jasenka Čosić, 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

Graduate thesis

Faculty of Agriculture

University Graduate Studies, Plant production, course Plant Protection

EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON PATHOGEN *MONILIA FRUCTIGENA*

Klaudia Kell

Abstract:

The goal of this research was to isolate the *Monilia fructigena* fungus from the infected apples (*Malus domestica*), peaches (*Prunus persica*), plums (*Prunus domestica*), Italian plums (*Prunus cocomillia*), and quince (*Cydonia oblonga*) and to investigate the effect of essential oils of sage (*Salvia officinalis*), caraway (*Carum carvi*), Scots pine (*Pinus sylvestris*), cinnamon leaves (*Cinnamomum verum*), cloves (*Eugenia caryophyllus*) and bitter orange (*Citrus aurantium ssp.amara*) on mycelium growth.

Caraway essential oil was the only one that had showed a statistically significant negative effect on the mycelium growth of all tested *M. fructigena* isolates. Other essential oils showed adverse negative effect on the growth of certain isolates. Essential oils of the bitter orange, cinnamon and sage had stimulated the mycelium growth of the *M. fructigena* isolate from plum.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Jasenka Ćosić

Number of pages: 39

Number of figures: 23

Number of tables: 8

Number of references: 26

Number of appendices:

Original in: Croatian

Key words: *Monilia fructigena*, essential oils, mycelium growth

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. PhD Karolina Vrandečić, associate professor - president
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.