

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

INSTITUT RUĐER BOŠKOVIĆ, ZAGREB

Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij  
Zaštita prirode i okoliša

Mr. sc. Marina Palfi

**ANTIFUNGALNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA I NJIHOVIH KOMPONENTI  
NA FITOPATOGENE GLJIVICE U *IN VITRO* UVJETIMA**

Doktorska disertacija

OSIJEK, 2017.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

---

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Institut Ruđer Bošković, Zagreb**

**Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij**

**Zaštita prirode i okoliša**

**Doktorska disertacija**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**

**Znanstveno polje: Agronomija**

### **ANTIFUNGALNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA I NJIHOVIH KOMPONENTI NA FITOPATOGENE GLJIVICE U IN VITRO UVJETIMA**

Mr.sc. Marina Palfi

**Doktorska disertacija je izrađena u:** Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu

**Mentor:** prof. dr. sc. Jasenka Čosić, redovita profesorica u trajnom zvanju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

**Komentor:** doc. dr. sc. Paško Konjevoda, znanstveni savjetnik Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu i docent u naslovnom zvanju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

#### **Kratki sažetak doktorske disertacije:**

Provedeno je *in vitro* ispitivanje antifungalnog djelovanja različitih volumena eteričnih ulja i njihovih najvažnijih komponenti na porast tri ekonomski značajne fitopatogene gljivice (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*) izolirane iz svježeg biljnog materijala rajčice i uspoređeno s djelovanjem fungicida. Rezultati su pokazali da su pojedina eterična ulja i njihove komponente primjenjeni u određenom volumenu imala isti ili čak bolji učinak na inhibiciju rasta micelija fitopatogenih gljivica u odnosu na fungicid. Mjerenjem promjera micelija fitopatogenih gljivica tijekom inkubacije zabilježeno je smanjenje rasta micelija ovisno o primjenjenom volumenu u odnosu na netretiranu kontrolu. Najslabije djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti utvrđeno je kod najmanjih volumena, a najbolje u najvećem primjenjenom volumenu 70 µL / 10 mL PDA.

Temeljem rezultata provedenih istraživanja može se zaključiti da eterična ulja i njihove komponente djeluju različito ovisno o vrsti fitopatogene gljivice. Najbolje antifungalno djelovanje na sve ispitivane fitopatogene gljivice imalo je eterično ulje timijana kod kojih su izračunate najmanje vrijednosti IC<sub>50</sub>. Najslabije djelovanje imala su eterična ulja eukaliptusa i limuna s najvećim vrijednostima IC<sub>50</sub>. Eterična ulja imaju bolje djelovanje na fitopatogene gljivice od njihovih komponenti.

Na temelju rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da pojedina eterična ulja i njihove komponente mogu biti dobra alternativa sintetskim fungicidima u borbi protiv patogena povrća. Potrebno je provesti daljnja *in vivo* istraživanja koja bi u konačnici mogla dovesti do razvoja učinkovitih formulacija ekološki prihvatljivih sredstava za suzbijanje fitopatogenih gljivica i tako smanjiti uporabu standardnih fungicida.

**Broj stranica:** 123

**Broj slika:** 48

**Broj tablica:** 14

**Broj literaturnih navoda:** 166

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** eterična ulja, fitopatogene gljivice, rast micelija, komponente, vrijednosti IC<sub>50</sub>

**Datum obrane:** 22.11.2017.

#### **Povjerenstvo za obranu:**

1. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, redovita profesorica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednica

2. prof. dr. sc. Vlatka Rozman, redovita profesorica u trajnom zvanju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član

3. doc. dr. sc. Paško Konjevoda, znanstveni savjetnik Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu i docent u naslovnom zvanju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, član

4. doc. dr. sc. Sandra Ečimović, docentica Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Odjela za biologiju, zamjena člana

**Rad je pohranjen u:** Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Ruder Bošković Institute, Zagreb  
Postgraduate Interdisciplinary University Doctoral Study of  
Environmental Protection and Nature Conservation**

**PhD thesis**

**Scientific Area: Biotechnical Sciences  
Scientific Field: Agronomy**

### **IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AND THEIR COMPONENTS ON PHYTOPATHOGENIC FUNGI**

Mr.sc. Marina Palfi

**Thesis performed at** Faculty of Agriculture in Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer Osijek and Ruđer Bošković Institute

**Supervisor:** prof. dr. sc. Jasenka Čosić, PhD  
**Co-mentor:** doc. dr. sc. Paško Konjevoda, PhD

**Summary** Testing of *in vitro* antifungal activity of different volumes of essential oils and their dominant components on the growth of three economically important phytopathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum coccodes*) isolated from fresh tomato plant material was performed and compared with the action of fungicide. Results showed that some of the essential oils and their components applied at a given volume had the same or even better effect on inhibiting the growth of mycelium of phytopathogenic fungi than fungicide. By measuring the diameter of mycelium of phytopathogenic fungi during incubation it was determined that micellar growth was decreased depending on the volume applied in comparison to the control. The lowest activity of essential oils and their components were found at the smallest volumes, and best in the highest applied volume of 70 µL / 10 mL PDA. Based on our results it can be concluded that the activity of the essential oils and their components differ depending on the type of phytopathogenic fungi. Essential oil of thyme had the best antifungal activity on all tested phytopathogenic fungi for which the lowest IC<sub>50</sub> values were calculated. The weakest effects were measured for the essential oils of eucalyptus and lemon with the highest value of IC<sub>50</sub>. Essential oils have a better effect on phytopathogenic fungi than their components.

Based on the results of this research it can be conclude that particular essential oils and their components can be a good alternative to synthetic fungicides in the fight against pathogenic vegetables. Furthermore, *in vivo* studies should be conducted which ultimately could lead to the development of effective formulations of environmentally acceptable means for suppressing phytopathogenic fungi and thus reducing the use of standard fungicides.

**Number of pages:** 123

**Number of figures:** 48

**Number of tables:** 14

**Number of references:** 166

**Original in:** Croatian

**Key words:** essential oils, phytopathogenic fungi, mycelial growth, component, IC<sub>50</sub> values

**Date of the thesis defense:** November 22, 2017

**Reviewers:**

1. prof.dr.sc. Karolina Vrandečić, PhD, Faculty of Agriculture in Osijek
2. prof.dr.sc. Vlatka Rozman, PhD, Faculty of Agriculture in Osijek
3. doc.dr.sc. Paško Konjevoda, PhD, Ruder Bošković Institute, Zagreb and Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
4. doc. dr. sc. Sandra Ečimović, PhD, Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek (substitute)

**Thesis deposited in:** National and University Library in Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; City and University Library of Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

IV. Tema rada naslova „ANTIFUNGALNO DJELOVANJE ETERIČNIH ULJA I NJIHOVIH KOMPONENTI NA FITOPATOGENE GLJIVICE U *IN VITRO* UVJETIMA“ prihvaćena je na sjednici Sveučilišnog vijeća za sveučilišne poslijediplomske studije dana 2. veljače 2017. godine.

*Velika hvala mentorici rada prof.dr.sc. Jasenki Ćosić na nesebičnoj pomoći i mnogobrojnim korisnim savjetima pri izradi disertacije.*

*Najljepša hvala i komentoru rada doc.dr.sc. Pašku Konjevodi na stručnim savjetima prilikom statističke obrade podataka.*

*Zahvaljujem firmi Kemig d.o.o., Donja Zelina na doniranim komponentama eteričnih ulja proizvođača Düsseldorf, Njemačka i susretljivosti prilikom dostave potrebnih informacija.*

*Hvala djelatnicima Podravke d.d. na izvrsnoj suradnji.*

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Pregled dosadašnjih istraživanja .....	3
3. Materijal i metode rada .....	25
3.1. Eterična ulja .....	25
3.1.1. Primijenjeni volumeni eteričnih ulja .....	26
3.2. Komponente eteričnih ulja.....	27
3.2.1. Primijenjeni volumeni komponenti eteričnih ulja .....	27
3.3. Fungicidi .....	28
3.3.1. Koncentracije fungicida.....	28
3.4. Fitopatogene gljivice .....	28
3.4.1. Izolacija fitopatogenih gljivica iz biljnog materijala .....	28
3.5. Pomoćne komponente.....	30
3.6. Postupak.....	30
3.7. Statistička obrada podataka .....	33
4. Rezultati .....	34
4.1. Odnos primijenjenih doza fungicida u usporedbi s kontrolom .....	34
4.2. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	36
4.2.1. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> .....	36
4.2.2. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija <i>Botrytis cinerea</i> .....	37
4.2.3. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	38
4.3. Procijenjene vrijednosti parametra IC <sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	40
4.3.1. Procijenjene vrijednosti parametra IC <sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija <i>Fusarium oxysporum</i> .....	40
4.3.2. Procijenjene vrijednosti parametra IC <sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija <i>Botrytis cinerea</i> .....	43

4.3.3. Procijenjene vrijednosti parametra IC <sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	46
4.3.4. Usporedba procijenjenih vrijednosti parametra IC <sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti prema učinku na <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	50
4.3.5. Usporedba IC <sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	53
4.3.5.1. Usporedba IC <sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za <i>Fusarium oxysporum</i> .....	53
4.3.5.2. Usporedba IC <sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za <i>Botrytis cinerea</i> .....	60
4.3.5.3. Usporedba IC <sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	65
5. Rasprava .....	78
5.1. Odnos primijenjenih doza fungicida s kontrolom .....	78
5.2. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti s promjerom rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	80
5.3. Procijenjene vrijednosti IC <sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	84
5.4. Usporedba procijenjenih vrijednosti IC <sub>50</sub> između eteričnih ulja i njihovih komponenti za <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	87
5.5. Usporedba IC <sub>50</sub> između eteričnih ulja i njihovih komponenti pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa za <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	88
6. Zaključci.....	92
7. Literatura .....	93
8. Prilozi .....	108
9. Životopis.....	123

## **1.Uvod**

Zbog sve veće osviještenosti potrošača i proizvođača hrane za ljudsko zdravlje i zaštitu okoliša, postavlja se zahtjev za razvoj manje opasnih, ekoloških prihvatljivih metoda zaštite poljoprivrednih kultura i njihovih proizvoda. Smanjenje uporabe standardnih kemijskih sredstava postaje prioritet u biljnoj zaštiti pa uporaba ekološki prihvatljivih metoda zaštite bilja, kao što su biološki preparati i primjena preventivnih mjera, sve više dobivaju na važnosti (Parađiković i sur. 2007). Pesticidi su potencijalni zagadivači prirodne sredine pa je za proizvodnju zdravstveno, nutritivno i tehnološki sigurnih proizvoda neophodno je uvođenje novih tehnologija zaštite biljaka. Prekomjerna uporaba fungicida može dovesti do razvoja otpornih populacija patogena (da Cruz Cabral i sur. 2013) i zagađenja okoliša te je to povećalo pritisak javnosti da se smanji uporaba sintetičkih fungicida (Bhagwat i Datar, 2014). Korištenje fungicida u dužem vremenskom periodu može također akumulirati rezidue u hrani iznad dopuštene količine (Ogah i sur. 2011). Ove nuspojave promovirale su potragu za novim i alternativnim agrokemikalijama (Combrink i sur. 2011).

Eterična ulja su sekundarni metaboliti važni za biljnu obranu jer često posjeduju antimikrobna svojstva (Hyldgaard i sur. 2012). Vrlo su poželjan izvor alternativnih metoda u zaštiti bilja jer imaju antifungalna, antibakterijska, antivirusna i insekticidna svojstva (Bassolé i Juliani, 2012). Ekstrakti različitih eteričnih ulja i njihovih glavnih komponenti dobivenih iz biljaka, mogli bi biti dobra osnova za proizvodnju spojeva koji bi bili zamjena sintetskim fungicidima (Kishore i Pande, 2004). Isto tako, eterična ulja su poznata i koriste se za liječenje brojnih bolesti, uključujući i bolesti kože jer imaju manje štetne efekte na stanice sisavaca (Tavares i sur. 2008). Procjenjuje se da je poznato oko 3000 različitih eteričnih ulja, od kojih njih oko 300 ima komercijalnu važnost (Bakkali i sur. 2008). Eterična ulja se sastoje uglavnom od monoterpena i seskviterpena te njihovih oksigeniranih derivata kao što su alkoholi, aldehidi, ketoni, kiseline, fenoli, eteri, esteri itd. (Fornari i sur. 2012). Kemijski sastav eteričnih ulja je složen i jako ovisi o vrsti biljke, dijelu biljke iz kojeg se uzima, podrijetlu, vremenu žetve, sezoni berbe i prerađe, kao i uvjetima skladištenja (Burt, 2004; Tajkarimi i sur. 2010). Eterična ulja mogu sadržavati više od 60-tak različitih sastojaka, od kojih su dva ili tri glavna sastojka u visokim koncentracijama, a ostali sastojci se nalaze u tragovima (Bakkali i sur. 2008). Identificiranje najaktivnijih antimikrobnih spojeva eteričnih ulja je teško, budući da su eterična ulja složene smjese više različitih sastojaka (Espina i sur. 2011).

Glavne komponente čine 85% eteričnog ulja, dok su ostali spojevi prisutni u malim količinama ili tragovima. Postoje indicije da upravo spojevi u tragovima imaju ključnu ulogu u antimikrobnim svojstvima, najvjerojatnije zbog sinergijskih učinaka s drugim sastojcima ulja (Burt, 2004). Interakcije između tih komponenti mogu dovesti do antagonističkih, aditivnih ili sinergijskih učinaka (Bassolé i Juliani, 2012). Neki znanstvenici navode da postojeći antagonistički i/ili sinergijski odnos između ukupnih komponenti prisutnih u eteričnim uljima, pa čak i manjih dijelova ili prekursora glavnih komponenti, može utjecati na antimikrobnu aktivnost eteričnog ulja (Defrera i sur. 2000; Ultee i sur. 2002).

Fitopatogene gljivice su biljni patogeni koji izazivaju smanjenje ili gubitak prinosa i kvalitete pa time nanose veliku ekonomsku štetu poljoprivrednicima. U cilju pronalaska novih i ekološki prihvatljivih biofungicida provode se mnoga ispitivanja antifungalnih svojstava različitih eteričnih ulja i njihovih glavnih komponenti na važne fitopatogene gljivice (Ćosić i sur. 2010;

Amini i sur. 2012; Vitoratos i sur. 2013). Eterična ulja dobivena iz klinčića, cimeta i limunske trave mogu se koristiti kao alternativna opcija za kontrolu sive pljesni nakon berbe u ekološkoj proizvodnji (Siriportvisal i sur. 2009). Osim toga, brojne fitopatogene gljive stvaraju sekundarne metabolite kao što su mikotoksini. Razvojem analitičkih metoda, u porastu je broj identificiranih mikotoksina. Utvrđeno je da eterična ulja mogu utjecati na smanjenje stvaranja mikotoksina zearlenona, deoksinivalenola i fumozina B<sub>1</sub> (Velluti i sur. 2003; Velluti i sur. 2004a; Velluti i sur. 2004b; Marín i sur. 2004). Mnogi prirodni spojevi u biljkama posjeduju antimikrobno djelovanje protiv patogena koji se prenose hranom (Boukhatem i sur. 2013). Naročito se smatra važnim pronaći alternativu za zaštitu od patogena kod svježe i minimalno procesuirane hrane kojoj su potrošači u novije vrijeme sve više skloni. Stoga korištenje eteričnih ulja iz različitih izvora i njihova primjena u kontroli patogena koji uzrokuju propadanje hrane poslije berbe, zauzima važno mjesto u ispitivanju alternativnih metoda za očuvanje ukupne kvalitete svježih namirnica (Moreira i sur. 2016).

Prednost biljnih eteričnih ulja je njihova biološka aktivnost u plinovitoj fazi, što ih čini privlačnima kao mogućim fumigantima u kontroli gljivica koje uzrokuju propadanje voća i žitarica nakon berbe, odnosno žetve (Tripathi i sur. 2008; Sumalan i sur. 2013). Primjerice, eterična ulja paprene metvice i bosiljka su dobri izvori u kontroli propadanja bresaka nakon uskladištenja, a koje uzrokuju gljivice (Ziedan i Farrag, 2008). Eterična ulja također mogu smanjiti rast micelija nekih patogenih gljivica u tlu (El-Mohamedy i sur. 2013).

Zapažanja svjetlosnim mikroskopom su otkrila da eterična ulja izazivaju morfološke degeneracije, kao što su citoplazmatska koagulacija, degeneracije hifa i istjecanje protoplasta iz hifa gljivica (Adebayo i sur. 2013) te disfunkciju mitohondrija inducirano reaktivnim kisikovim spojevima (ROS) (Tian i sur. 2012) što u konačnici dovodi do sprečavanja sporulacije i rasta fitopatogenih gljivica.

Na temelju navedenoga određeni su slijedeći ciljevi istraživanja:

1. U *in vitro* uvjetima utvrditi antifungalni utjecaj deset eteričnih ulja i njihovih glavnih komponenti na rast fitopatogenih gljivica *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend Snyder & Hansen, *Botrytis cinerea* Pers i *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Huges.
2. Utvrditi polovinu maksimalne inhibitorne koncentracije IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove glavne komponente.
3. Usporediti antifungalni učinak eteričnih ulja s učinkom fungicida.

Nakon definiranja ciljeva postavljene su ove hipoteze:

1. Postoje razlike u utjecaju pojedinih eteričnih ulja na različite patogene gljivice te utjecaju različitih eteričnih ulja na određenu fitopatogenu gljivicu,
2. Postoje razlike u utjecaju primijenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti na patogene gljivice,
3. Eterična ulja imaju bolje djelovanje na patogene gljivice od njihovih glavnih komponenti,
4. Eterična ulja imaju isti ili bolji učinak na patogene gljivice od fungicida.

## **2. Pregled dosadašnjih istraživanja**

Biljni patogeni *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* izazivaju bolesti biljaka u polju i skladištima te tako umanjuju prinose i kvalitetu poljoprivrednih proizvoda, što u konačnici dovodi do velikih ekonomskih šteta.

Uzročnici biljnih bolesti na globalnoj razini još uvijek izazivaju gubitke od 10 do 20 % (Chakraborty i Newton, 2011). Među 10 biljnih patogena, koji su znanstveno i ekonomski najznačajniji, prema mišljenju međunarodne zajednice, nalaze se na drugom mjestu *Botrytis cinerea*, na petom *Fusarium oxysporum*, dok je na osmom mjestu *Colletotrichum spp.* (Dean i sur. 2012).

Gljive roda *Fusarium* ubrajaju se u ekonomski najznačajnije patogene koji parazitiraju velik broj korovnih i kultiviranih biljnih vrsta. Sposobnost prilagodavanja različitim agroklimatskim uvjetima i okolišu, omogućuje rodu *Fusarium* rasprostranjenost u svim agroklimatskim područjima svijeta (Ćosić i sur. 2004).

Joshi i sur. (2013) izdvojili su iz uzoraka tla i biljaka iz devet različitih geografskih lokacija u pokrajini Uttar Pradesh u Indiji šezdeset izolata *Fusarium* vrsta. Na temelju njihove morfološke i molekularne identifikacije, trideset devet izolata identificirano je kao *Fusarium oxysporum*. Test patogenosti proveli su na rajčici sorte Pant T-3 i ustanovili pojavu bolesti u rasponu od 0 do 78,74%. Među izolatima *F. oxysporum*, pet ih se pokazalo kao nepatogeni, a tri izolata su jako patogena.

Patogenost izolata testirana je s 40 uzoraka uvenulih biljaka paprike, gdje je prikupljeno sto trideset devet izolata koji se odnose na četiri roda i 7 vrsta na 15 mjesta u Egiptu. Broj izolata bio je prema sljedećem redoslijedu: *Fusarium solani* (Mart.) Sacc > *F. oxysporum* > *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. > *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. > *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg > *Fusarium subglutinans* (Wollenweber & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas > *Acremonium strictum* W. Gams. Šezdeset izolata testirano je na patogenost i agresivnost u uvjetima staklenika. Najpatogeniji izolati su pripadali vrstama *F. oxysporum*, *M. phaseolina* i *F. solani*. Patogenost ove tri vrste gljivica bila je testirana na četiri kultivara paprike i rezultati su pokazali da je *F. oxysporum* (AUMC11424) bio najpatogeniji za sve testirane kultivare (Ismail i sur. 2017).

Najopasniji proizvod gljiva jesu mikotoksini koji predstavljaju sekundarne metabolite gljiva. Oni djeluju toksično na organizam ljudi i životinja, a ponekad mogu uzrokovati i smrt. Najviše koncentracije nastaju pri pojavi bolesti na uskladištenim biljkama (Bennet i Klich, 2003). Većina *Fusarium* vrsta, osim ekomske štete, u stanju je proizvesti mikotoksine te su oni uključeni u akumulaciju toksina u hrani i hrani za životinje, što pak dovodi do ljudskih i životinjskih intoksikacija. Mikotoksini, koje proizvode *Fusarium* vrste, nazivaju se fuzariotoksini i karakterizira ih akutna i/ili kronična toksičnost (Nguyen i sur. 2017).

Problem mikotoksina se sve više otkriva i u zemljama Afrike, gdje je uočena izloženost stanovnika mikotoksinima zbog svakodnevne konzumacije zaraženog kukuruza (Degraeve i sur. 2016).

Siva pljesan (*B. cinerea*) je jedna od ekonomski najznačajnijih bolesti uzgajanih biljaka, kako u Hrvatskoj, tako i u svijetu. Izravne štete od napada uzročnika sive pljesni u Hrvatskoj kreću se od 3 do 15 %, dok višegodišnji prosjek šteta iznosi 4,1 % (Maceljski i sur. 2006). U kontinentalnom dijelu zemlje, štete od tog biljnog patogena mogu iznositi čak 50 do 60 % (Topolovec- Pintarić, 2000).

Najvažniji okolišni uvjeti koji utječu na infekciju gljivom *B. cinerea* su visoka relativna vlažnost zraka (90 %), vlažnost biljnih dijelova i povoljne temperature za razvoj (1-30°C, optimum 15-20°C) (Jurković i sur. 2010).

Fitopatogena gljivica *C. coccodes* se, prema istraživanjima Dillarda i Cobba (1988), u tlu može održati i do 8 godina. *C. coccodes*, koji je prezimio u prirodno zaraženim korijenima rajčice u komercijalnim područjima, izoliran je iz korijena u jesen i u sljedeće proljeće. Polja koja su ispitivana u jesen, imala su sličnu zarazu korijena sljedeće proljeće.

Kod testiranja patogenosti izolata *C. coccodes*, *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. i *F. oxysporum*, koji su izazvali trulež korijena i stablike, klorozu lišća i zaostajanje u rastu presadnica paprike, uočene su značajne razlike u patogenosti između testiranih izolata. Rezultati patogenosti ne ovise samo o vrsti gljiva, nego i o vrsti izolata (Jamiołkowska, 2008).

Sprečavanje zaraze biljnih patogena kemijskim fungicidima može uzrokovati ozbiljne ekološke probleme jer su oni toksični i za ostale ne ciljane organizme. U cilju pronalaska novih i ekološki prihvatljivih aktivnih tvari za primjenu u biljnoj zaštiti, provode se mnoga ispitivanja antifungalnih svojstava različitih eteričnih ulja i njihovih glavnih komponenti na važne fitopatogene gljivice.

Biološka aktivnost eteričnih ulja ovisi o njihovom kemijskom sastavu koji je određen vrstom biljaka, zemljopisnim podrijetlom biljaka, primjenjenim koncentracijama ili volumenima, okolišnim uvjetima i agrotehničkom praksom (Ćosić i sur. 2014).

Monoterpeni i seskviterpeni te njihovi oksigenirani derivati kao što su alkoholi, aldehydi, ketoni, kiseline, fenoli, eteri i esteri, glavni su sastojci eteričnih ulja (Fornari i sur. 2012). Sastav eteričnih ulja iste vrste može varirati ovisno o sezoni berbe i zemljopisnom porijeklu (Burt, 2004).

Eterična ulja mogu sadržavati više od 60-tak različitih sastojaka, od kojih su dva ili tri glavna sastojka u visokim koncentracijama, a ostali sastojci se nalaze u tragovima (Bakkali i sur. 2008).

Analiza kemijskog sastava eteričnih ulja vrši se pomoću plinske kromatografije (GC – gas chromatography) te kombinacije plinske kromatografije i masene spektrometrije (CG- mass spectrometry (MS) (Iacobelis i sur. 2005).

Eterično ulje čajevca (*Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel) sastoji se od terpinen-4-ol (42,8 - 50,3 %),  $\gamma$ -terpinen (18,6 - 20,4 %),  $\rho$ -cimen (3,2 - 9,6 %), 1,8-cineol (3 - 4,2 %),  $\alpha$ -terpinen (7,9 - 8,3%),  $\alpha$ -terpineol (2,8 -10,0 %) (Shao i sur. 2013a; Pereira i sur. 2014).

Glavne komponente eteričnog ulja anisa (*Illicium verum* Hook f.) su anetol (89,5 - 93,7 %), estragol (3,68%) i limonen (3,1%) (Dzamic i sur. 2009; Huang i sur. 2010; Mugnaini i sur. 2013).

Osnovne komponente eteričnog ulja limuna (*Citrus limon* L.) su limonen (36,10 - 59,2 %),  $\beta$ -pinen (13,7 - 14,88) i  $\gamma$ -terpinen (10,8 %) (Mugnaini i sur. 2013; Zohra i sur. 2013).

Eterično ulje paprene metvice (*Mentha x piperita* L.) sadrži mentol (37,4 - 53.28 %), mentil acetat (15,1 - 17,4 %), menton (12,7 - 18,1 %) te mentofuran (11,18 %), (Soković i sur. 2009; Saharkhiz i sur. 2012; Saharkhiz i Goudarzi, 2014).

Glavne komponente eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare* Mill.) su trans anetol (50,60 - 68,53 %) i estragol (10,42 - 30,15, %) (Diao i sur. 2014; Khalid i sur. 2015).

Eterično ulje bosiljka (*Ocimum basilicum* L.) sadrži linalol ( 32,6 - 41,5%) i eugenol (28,1 - 64.11%) (Sartoratto i sur. 2004; Vieira i sur. 2014).

Glavne komponente eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus* Labill.) su 1,8-cineole (55,29 - 95,61 %), alfa pinen (1,5 %), spatulenol (7,44 %) i terpineol 5,46 %) (Noumi i sur. 2011; Harkat-Madouri i sur. 2015).

Eterično ulje ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) sadrži 1,8-cineol (7 – 27,5 %),  $\alpha$ -pinen (3 - 23,4 %), kamfor (3 - 50 %) te mircen (0 - 10 %) (Lis-Balchin, 2006; Mugnaini i sur. 2013).

Glavne komponente eteričnog ulja lavande prave (*Lavandula angustifolia* Mill. ssp. *angustifolia*) su linalol (16 - 28 %), linalil acetat (26 - 47,5 %), 1,8-cineol (5,1 - 15,5 %), lavandulil acetat (1,3 - 4,3 %) te  $\alpha$ -terpineol (2,3 - 3,75 %) (Hassiotis i sur. 2010; Verma i sur. 2010).

Eterično ulje timijana (*Thymus vulgaris* L.) sadrži timol (45 - 79,15 %),  $\rho$ -cimen (3,27 - 21,5 %) i karvakrol (4,63 %) (Sartoratto i sur. 2004; Lis-Balchin, 2006; Soković i sur. 2009)

Eterična ulja djeluju na funkcionalne strukture staničnih membrana i enzime, što dovodi do narušavanja metabolizma i normalnog funkcioniranja stanice (Bakkali i sur. 2008) te također do smanjenja klijavosti spora (Vitoratos i sur. 2013) i morfološke degeneracije micelija (Soylu i sur. 2010; Adebayo i sur. 2013).

Smatra se da je za antimikrobnو djelovanje eteričnih ulja odgovorna njihova lipofilnost, slobodna -OH grupa i slobodne nezasićene strukture cikloheksanskog prstena. Djelovanje na stanice gljivica i enzime omogućeno je njihovom lipofilnošću i rastvorljivošću u vodi (Bakkali i sar. 2008).

Zambonelli i sur. (1996) su ispitivali *in vitro* inhibitorni učinak eteričnih ulja *Thymus vulgaris*, *Lavandula R.C. hybrid* i *Mentha piperita* na patogene gljivice *Rhizoctonia solani* Kühn, *Pythium ultimum* Trow var. *ultimum*, *F. solani* i *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. Utvrđili su da sva testirana ulja inhibiraju gljivični rast. Najbolji inhibitorni učinak imalo je eterično ulje timijana, a fungicidna aktivnost pripisana je timolu, koji je u testiranom ulju bio zastupljen u koncentraciji od 50,06 %. Promatranja elektronskim mikroskopom otkrila su da ispitivana eterična ulja uzrokuju degeneraciju hifa gljivica, što dovodi do pražnjenja sadržaja citoplazme.

Ispitivanjem antifungalne aktivnosti 29 eteričnih ulja iz kineskog autohtonog bilja na *A. alternata*, *Colletotrichum destructivum* O'Gara i *Phytophthora parasitica* Dastur i skeniranjem elektronskim mikroskopom, ustanovljeno je da su eterična ulja prouzročila znatnu morfološku degeneraciju, uključujući i citoplazmatske koagulacije, zgrčene nakupine hifa te spljoštene prazne hife (Lu i sur. 2013).

Chen i sur. (2014) su u *in vitro* ispitivanju ulja citronele utvrđili jaku inhibicijsku aktivnost protiv *A. alternata*. Minimalna inhibicijska koncentracija je u krumpir dekstroznom agaru i krumpir dekstroznom bujoni bila 1 i 0,8 µL / L. *In vivo* pojava bolesti na rajčici (*Lycopersicon esculentum* Mill.), tretiranoj uljem citronele, bila je značajno ( $P < 0,05$ ) smanjena u usporedbi s kontrolom nakon 5 dana skladištenja pri 25°C i relativnoj vlažnosti od 95 %. Pojava bolesti pri volumenima ulja od 0,2 - 1,5 µL / L bila je 48 do 88 %. Najučinkovitija doza eteričnog ulja bila je 1,5 µL / L s 52 % redukcije, a da ulje nije imalo negativan utjecaj na kvalitetu ploda. Promatranje elektronskim mikroskopom pokazalo je znatnu abnormalnu morfologiju micelija.

Eterična ulja su hidrofobne prirode, lako prolaze kroz plazmu membrane, uzrokuju podjelu u lipidima stanične membrane i čine ju propusnom te se pojavljuje propuštanje sadržaja stanice. Osim toga, eterična ulja usporavaju biosintezu ergosterola, specifičnog sterola gljivica, čineći eterična ulja specifičnim za ciljane gljivice (Kedia i sur. 2015).

Perina i sur. (2015) su ispitivali način djelovanja eteričnog ulja timijana i njegove glavne komponente timola na gljivice na staničnoj razini pomoću ultra strukturne analize. Eterično ulje timijana i komponenta timol imali su minimalne inhibitorne koncentracije (MICs) od 500 i 250 µg / mL na *Alternaria alternata*. Pod istim uvjetima, minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) za komercijalni fungicid bila je 1250 µg / mL. Ultra struktturna analiza pokazala je da fenolne tvari eteričnog ulja timijana sprečavaju gljivični rast, smanjuju gljivičnu održivost i sprečavaju prodiranje u staničnu stijenu/plazmatsku membranu ometajući djelovanje organela kod uništenja citoplazme. Takav način djelovanja razlikovao se od zaštitnih i preventivno kurativnih komercijalnih fungicida koji su se koristili kao kontrola. Ovi rezultati sugeriraju da je timol odgovoran za antifungalno djelovanje eteričnog ulja timijana. Stoga je bitno i ulje i njegov glavni

sastojak za potencijalnu uporabu u razvoju novih fenolnih struktura i analogno tome za kontrolu bolesti uzrokovane gljivicom *A. alternata*.

Ispitivan je utjecaj eteričnih ulja hidro destilacijom iz cvjetnih dijelova *Sclerorhachis platyrachis* (Boiss.) Podlech ex Rech.f. i *Sclerorhachis leptoclada* Rech. F., dviju endemskih biljaka u Iranu, na fitopatogene gljivice *Aspergillus flavus* L. i *F. verticillioides*. Različite koncentracije eteričnih ulja imale su različite učinke na smanjenje težine suhog micelija i hifalnog radijalnog rasta ispitivanih gljivica. Postotci inhibicije rasta *F. verticillioides* bili su 72,2 %, a *S. platyrachis* i *S. leptoclada* 68,9 %, dok su ti postotci za *A. flavus* bili 70,5 % i 71,1 % iz istih biljaka. Istraživanje je pokazalo respektabilan utjecaj eteričnih ulja na radijalni rast hifa i težinu suhog micelija (Tahmasebi i sur. 2012).

Pri niskoj koncentraciji fenoli utječu na aktivnost enzima, posebno onih povezanih s enzymima za proizvodnju energije, dok pri višim koncentracijama dolazi do denaturacije proteina (López-Malo i sur. 2006).

Dakle, mehanizam djelovanja eteričnih ulja temelji se uglavnom na njihovom utjecaju na uništavanje strukture stanične membrane, a to dovodi do blokiranja izgradnje stanične membrane, inhibicije staničnog disanja, klijanja spora i rasta micelija te u konačnici do smrti stanice (Harris, 2002).

Inhibitorni potencijal eteričnih ulja protiv raznih mikroorganizama ovisi o različitim čimbenicima kao što su eterična ulja, vrsta patogena i vrsta domaćina (Karimi i sur. 2016).

Eterična ulja koja se sastoje od velikih fenolnih spojeva kao što su timol i eugenol imaju bolji učinak pri direktnoj primjeni. Međutim, eterična ulja koja sadrže nefenolne hlapljive spojeve (citral i limonen) najbolje djeluju kada je gljiva izložena isparavanjima eteričnog ulja (Suhar i Nielsen, 2003).

Budući da je molekula timola manja i lakše isparava nego molekula eugenola spoj timol iz eteričnog ulja timijana bolje je djelovao na inhibiciju rasta gljivica prilikom isparavanja, nego eugenol iz ulja cimeta i klinčićevca, iako su oba spoja fenoli (Suhar i Nielsen, 2003).

Yang i Clausen (2007) ispitivali su antifugalno djelovanje sedam eteričnih ulja i njihov utjecaj na rast gljiva *Aspergillus niger* Tiegh, *Trichoderma viride* Pers. i *Pencillium chrysogenum* Thom. Uporabom metode u kojoj je gljiva izložena isparavanjima eteričnih ulja timijana i egipatskog geranija ustanovljeno je da su ulja inhibirala rast svih ispitivanih gljiva tijekom 20 tijedana. Eterično ulje kopra (*Anethum graveolens* L.) primjenjeno isparavanjem, inhibitorno je djelovalo na rast svih ispitivanih gljiva, dok je kontaktno djelovanje, namakanjem komada drveta u eteričnim uljima, rezultiralo inhibitornim djelovanjem na *A. niger* i *P. chrysogenum*. Eterična ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.), limunske trave (*Cymbopogon flexuosus* L. Stapf), čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i kima (*Carum opticum* (L.) C. B. Clarke) pokazala su slabije inhibitorno djelovanje ili pak u nekim slučajevima, inhibitorno djelovanje nije utvrđeno u obje metode ispitivanja. Prilikom korištenja metode isparavanja eteričnog ulja, ulje ružmarina

inhibiralo je rast gljiva oko 10 tjedana, dok je ulje limunske tave prilikom uporabe iste metode inhibiralo *P. chrysogenum* tijekom 12 tjedana. Autori navode da postoji mogućnost da monoterpeni u sastavu eteričnog ulja inhibiraju klijanje spora i/ili vegetativni rast prilikom kontakta s gljivom. Iako sva ispitivana ulja sadrže ketone u različitim količinama, prepostavlja se da je inhibitorno djelovanje pojedinog ulja rezultat djelovanja kombinacije komponenata ili specifičnog ketona koje se nalaze u eteričnim uljima.

Prema Suhr i Nielsen (2003), uporabom metode direktnе primjene (kontaktno djelovanje) deset eteričnih ulja, ustanovljen je slab inhibitorni učinak svih ulja na različite uzročnike pljesni (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp.), dok su primjenom metode isparavanja, ulja pokazala dobar inhibitorni učinak.

Gljivične su infekcije glavni uzrok truleži svježeg voća i povrća te time uzrokuju značajne ekonomске gubitke pa primjena biljnih ekstrakata može biti korisna alternativa sintetičkim fungicidima u zaštiti voća i povrća tijekom skladištenja i transporta (Gatto i sur. 2011).

Eterična se ulja najviše primjenjuju na svježem voću i povrću, ponajprije kako bi zaustavila razvoj patogenih mikroorganizama i procese brzog propadanja voća i povrća nakon berbe. Osim toga, neka eterična ulja imaju pozitivan utjecaj na poboljšanje antocijana, fenolnih spojeva i antioksidativne aktivnosti (Wang i sur. 2008).

Kao alternativna opcija za kontrolu sive pljesni nakon berbe u ekološkoj proizvodnji voća, mogu se koristiti eterična ulja dobivena iz kliničića, cimeta i limunske trave. Prema modificiranom *in vitro* mikrotomosferskom testu, pare tih eteričnih ulja pokazale su se jak inhibirajući učinak na *B. cinerea*, pri čemu je MIQ (minimalna inhibitorска količina) iznosila 15 µL. Međutim, u parnoj fazi ulja pokazuju slabiji inhibicijski učinak (MIQ = 25 µL) (Siripornvisal i sur. 2009).

Prednost eteričnih ulja je njihova biološka aktivnost u hlapljivoj fazi pa ih čini značajnim u ulozi mogućih fumiganata za kontrolu gljivica koje uzrokuju propadanje voća i žitarica nakon berbe odnosno žetve (Tripathi i sur. 2008; Shao i sur. 2013b; Sumalan i sur. 2013).

Promjene uzrokovane gljivicama *B. cinerea* i *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds, glavni su uzroci propadanja stolnog grožđa nakon berbe u Brazilu. Eterično ulje *F. vulgare* ispitivano je u *in vitro* uvjetima na rast micelija (kontaktna i hlapljiva faza) i klijanje konidija te u *in vivo* uvjetima na grožđu za obje gljivice. Rast micelija i klijavost konidija *B. cinerea* kontaktnim djelovanjem ulja potpuno su inhibirani u koncentracijama 50 i 100 µL / mL. Potpuna inhibicija rasta micelija i klijanja konidija *C. acutatum* postignuta je koncentracijama 100 i 200 µL / mL. Hlapljiva faza imala je fungistatični učinak na micelijski rast obje gljivice pri različitim koncentracijama, a čisto eterično ulje (100 %) je pokazalo fungicidni učinak na *B. cinerea*. Koncentracija 200 µL / mL potpuno je inhibirala pojavu obje gljivice u *in vivo* ispitivanju na grožđu sorte Isabella (Pedrotti i sur. 2017).

Ispitana je mogućnost upotrebe eteričnih ulja *Thymus kotschyanus* Boiss. and Hohen., *Ocimum basilicum* i *Rosmarinus officinalis* na plodovima kruške na smanjenje gubitaka uzrokovanih gljivicama *B. cinerea* i *Penicillium expansum* L. *In vitro* antifungalna aktivnost eteričnih ulja *T. kotschyanus*, *O. basilicum* i *R. officinalis* ispitana je u koncentracijama 0, 100, 200, 300, 400 i 500 µL / L te u *in vivo* uvjetima raspršivanjem različitih koncentracija eteričnih ulja (0, 100, 300 i 500 µL / L) na inokulirane kruške. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je *T. kotschyanus* imao najvišu antifungalnu aktivnost u *in vitro* uvjetima i potpuno inhibirao rast gljivica u koncentracijama iznad 200 µL / L. Rezultati *in vivo* studije pokazali su da je *T. kotschyanus* ulje smanjilo intenzitet napada i broj zaraženih krušaka inokuliranih gljivicama *B. cinerea* i *P. expansum*. Mjerenje senzorskih kvaliteta plodova kruške pokazalo je da eterično ulje pojačava okus voća. Eterično ulje *T. kotschyanus* također smanjuje, a u odnosu na *O. basilicum* povećava čvrstoću voća. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da *T. kotschyanus* ima dobar inhibitorni učinak na rast fitopatogenih gljivica i može se koristiti kao novi alat za očuvanje i produljenje roka trajanja voća (Marandi i sur. 2011).

Antifungalna aktivnost eteričnih ulja timijana, korijena cimeta i pupoljaka klinčića ispitana je *in vitro* na klijavost konidija, formiranje apresorija i rast micelija *C. acutatum* te zarazu jagoda *in vivo*. Sva testirana eterična ulja dodana u krumpir dekstroznji agar, inhibirala su rast micelija *C. acutatum* i imala fungistatični učinak pri koncentraciji od 667 µL / L agar. Hlapljivi sastojevi eteričnog ulja korijena cimeta, timijana i klinčića u potpunosti su spriječili klijanje konidija pri najnižim koncentracijama od 1,53, 15,3 i 76,5 µL / L zraka, odnosno onemogućeno je stvaranje apresorija pri koncentraciji od 1,53 µL / L zraka. Na inokuliranim plodovima jagode eterična ulja timijana i kore cimeta su smanjila pojavu antraknoze u koncentracijama iznad 15,3 i 76,5 µL / L zraka. Rezultati upućuju na to da su hlapljivi dijelovi ulja timijana i kore cimeta učinkoviti protiv *C. acutatum* u *in vitro* i *in vivo* uvjetima (Duduk i sur. 2015).

Daniel i sur. (2015) ispitivali su mogućnost kurativne primjene ekstrakta češnjaka i ulja klinčića te je u *in vivo* uvjetima testiran potencijal inhibicije rasta gljivica uzročnika propadanja jabuka nakon berbe uzrokovanih patogenima *B. cinerea*, *P. expansum* i *Neofabraea alba* (E.J. Guthrie) Verkley. Kurativna kontaktna primjena ekstrakta pokazala se učinkovita protiv patogena *B. cinerea* i *P. expansum* na sve tri ispitivane sorte jabuka. Djelotvornost ekstrakata češnjaka i ulja klinčića, pojedinačno, kao i kombinacije tretmana, ne razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ) jedan od drugoga. Međutim, svi tretmani značajno ( $P \leq 0,05$ ) smanjuju propadanje plodova u odnosu na kontrolne tretmane. Izravno izlaganje voća ispitivanom ekstraktu i ulju, koje su umjetno inokulirane s *N. alba*, nije rezultirao inhibicijom u usporedbi s kontrolnim tretmanima. Izloženost inokuliranog voća hlapljivoj fazi tih ekstrakata nije rezultiralo inhibicijom razvoja *N. alba* niti na jednoj sorti jabuka, a u nekim je slučajevima rezultiralo povećanjem promjera lezija. Ova studija je pokazala da kurativna primjena ekstrakata češnjaka, kada se on primjenjuje izravno na plod, može smanjiti propadanje jabuka nakon berbe ukoliko su one zaražene s *B. cinerea* i *P. expansum*.

Povećana potreba za razvojem novih načina borbe protiv patogena koji se prenose hranom, najviše raste u organskom prehrabrenom sektoru (Theron i Lues, 2007) i minimalno procesiranoj hrani. Osim toga, istraživanja sugeriraju mogućnost korištenja eteričnih ulja *Thymus*

vrsta kao prirodnih antioksidansa u prehrambenoj industriji te tako mogu zamijeniti sintetičke konzervanse (Küçükbay i sur. 2014).

Budući da različita eterična ulja pokazuju različito djelovanje, ovisno o vrsti fitopatogene gljivice, kemijskom sastavu ulja, primjenjenoj količini ulja i načinu primjene, mnogi autori ispitivali su inhibitorni potencijal eteričnih ulja i njihovih komponenti.

Provedena su ispitivanja antifungalne aktivnosti eteričnih ulja timijana (*T. vulgaris*) i eukaliptusa (*Eucalyptus camaldulensis* L.) na rast skladišnih patogenih gljivica *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., *A. flavus* i *Colletotrichum gleosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. i zemljишnih patogenih gljivica *P. ultimum*, *R. solani* i *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoe. metodom Whatman papirnog diska. Ulja su primjenjena u koncentracijama 25, 50, 75 i 100 % na PDA podlozi, a rast micelija na 25°C je mјeren dnevno tijekom 30 dana. Antifungalni učinak obadva ulja je bio dobar, ali je učinak eteričnog ulja timijana bio bolji. Koncentracije eteričnog ulja timijana od 50, 75 i 100 % imale su potpuno inhibitorno djelovanje na rast micelija (Katooli i sur. 2012).

Ćosić i sur. (2010) ispitivali su utjecaj jedanaest eteričnih ulja (klinčićevac, ružmarin, list cimeta, kadulja, bor, gorka naranča, metvica, anis, kim, lavanda, timijan) na porast micelija dvanaest fitopatogenih gljiva (*Fusarium graminearum* Schw., *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *Diaporthe helianthi* Munt.-Cvetk., Mihaljc. & M. Petrov, *Diaporthe caulincola* (Athew & Caldwell) J.M. Santos, Vrandecic & A.J.L. Phillips, *Diaporthe longicolla* (Hobbs) J.M. Santos, Vrandecic & A.J.L. Phillips, *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc., *Helminthosporium sativum* Pammel, C.M. King & Bakke, *C. coccodes*, *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk). Sva su ta eterična ulja pokazala određeno inhibitorno djelovanje prema nekim ili svim istraživanim gljivama, izuzev eteričnih ulja bora i gorke naranče. Najbolje antifungalno djelovanje imala su eterična ulja timijana, lista cimeta, klinčićevca i anisa. Osim toga, autori navode da su eterična ulja bora, gorke naranče i kadulje, u usporedbi s kontrolom, pozitivno utjecala na porast micelija nekih gljiva.

Eterična ulja lovorova lista, cimeta, klinčića i origana testirana su *in vitro*, a eterično ulje origana također *in vivo*, na dvije gljivice uzročnika bolesti riže: *F. culmorum* i *F. verticillioides*. Kemijski sastav, identificiran plinskom kromatografijom - masenom spektrometrijom, pokazuje visok postotak oksidiranih komponenti: 78,8 % u lovoroovom listu (eukaliptol 51 %); 90,3 % u klinčiću (eugenol 89,8 %); 92 % u cimetu (eugenol 60 % i eugenil acetat 18,3 %); 71,8 % u origanu (karvakrol 49,6 % i timol 21,2 %). Monoterpeni i seskviterpeni bili su zastupljeni 18 % u lovoroovu listu, 9 % u klinčiću, 5 % u cimetu i 25 % u origanu. Ovo istraživanje je pokazalo da eterična ulja imaju veliki potencijal za kontrolu oba gljivična patogena (Roselló i sur. 2015).

Značajno smanjenje rasta micelija i klijanja konidija *F. verticillioides*, *A. flavus* i *Aspergillus fumigatus* Fresen. na kukuruznom agaru postignuto je primjenom eteričnih ulja dobivenih iz *Ocimum gratissimum* L., *T. vulgaris* i *Cymbopogon citratus* L. u koncentraciji od 800, 1000 i 1200 µL / L (Nguefack i Amvam Zollo, 2004).

Eterična ulja ekstrahirana iz sjemena *Azadirachta indica* A. Juss., *Brassica campestris* L., *Nigella sativa* L. i *Ferula assafoetida* L. pokazala su određenu antifungalnu aktivnost protiv osam gljivica parazita sjemena: *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus flavus* L., *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett, *Fusarium semitectum* Berk & Ravendel, *Drechslera hawaiiensis* Bugnic. ex Subram & B.L. Jain i *Alternaria alternata*. Ulja su primijenjena u koncentracijama između 0,15 i 1,5 %, a za usporedbu učinkovitosti korišten je fungicid Ridomyl gold (MZ 68 % WP). Sva eterična ulja, osim ulja *B. campestris*, pokazala su antifungalni učinak protiv testiranih gljivica. Ulje *Ferula assafoetida* u koncentraciji 0,1 i 0,15 % pokazalo je značajnu inhibiciju rasta svih testiranih gljivica osim *A. flavus*. Eterična ulja *Nigella sativa* u koncentraciji 0,15 % su također bila učinkovita, ali je antifungalni učinak protiv *A. niger* bio mali. Prema antifungalnoj učinkovitosti dalje slijedi ulje *A. indica*, Ridomil gold i ulje *B. campestris* (Sitara i sur. 2008).

Učinak eteričnog ulja čajevca na rast micelija *B. cinerea* i *P. expansum* ovisi o dozi eteričnog ulja. Pri 1,00 mL / L, eterično ulje čajevca inhibiralo je rast *B. cinerea* 77,16 %, a rast *P. expansum* 27,77 %. Inhibicija rasta micelija se povećava s povećanjem koncentracije eteričnog ulja. Pri koncentraciji od 1,5 mL / L, inhibicija rasta *B. cinerea* iznosi 99,02 %, dok je za *P. expansum* koncentracija 4,0 mL / L rezultirala 98,62 %-tnom inhibicijom rasta micelija. Rast micelija u potpunosti je inhibiran u koncentraciji od 2,0 za *B. cinerea* i 6,5 mL / L za *P. expansum*. Ovi rezultati pokazuju da je *B. cinerea* osjetljiviji na eterično ulje čajevca od *P. expansum*. Također je utvrđena je veća osjetljivost *B. cinerea* i u *in vivo* uvjetima (Li i sur. 2017).

Ispitivanja antifungalne aktivnosti ( $IC_{50}$ ) eteričnog ulja zvjezdastog anisa (*Illicium verum* Hook f.). i njegove glavne komponente *trans-anetola* na rast gljivica *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, *Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) Shoemaker, *Botryodiplodia theobromae* Pat., *F. graminearum*, *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp, *Rhizoctonia cerealis* Hoeven i *R. solani* pokazala su da je  $IC_{50}$  (mg / mL) za ulje iznosio 0,07 do 0,25, a za *trans-anetol* 0,06 do 0,25.  $IC_{50}$  za sve ispitivane f. sp. gljivice *F. oxysporum* iznosio je 0,14 do 0,20 kod *trans-anetola*, a kod ulja pak od 0,16, do 0,25 (Huang, 2010).

De i sur. (2002) su ispitivali djelovanje zvjezdolikog anisa (*Illicium verum* Hook f) na 12 bakterija i 15 gljivica i ustanovili da ovo ulje posjeduje jaka antifungalna svojstva te da se ona u najvećoj mjeri mogu pripisati anetolu.

Eterično ulje *I. verum* pokazalo je učinkovitost na 19 gljivica pri upotrijebljenim količinima između 2,5 i 25  $\mu$ L / mL, dok je eterično ulje *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry pokazalo jaku fungistatičnu aktivost već pri 0,1 do 2,5  $\mu$ l / mL. Najrezistentnije gljivice bile su *T. viride* te *Penicillium* i *Aspergillus* vrste (Džamić i sur. 2009).

Istraživanja eteričnih ulja citrusa ekstrahiranih iz vijetnamskih vrsta naranče (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), mandarine (*Citrus reticulata* Blanco), grejpfruta (*Citrus grandis* Osbeck) i limete

(*Citrus aurantifolia* Swingle) na rast fitopatogenih gljivica *Mucor hiemalis* Wehm., *P. expansum* i *Fusarium proliferatum* (Matshus.) Nirenberg, pokazala su da eterična ulja citrusa imaju značajno antifungalno djelovanje. Pet dana nakon inkubacije porast gljivica je smanjen, a smanjenje je povezano s povećanjem koncentracije eteričnih ulja. Kod *F. proliferatum* najveće smanjenje rasta micelija je utvrđeno kod primjene eteričnog ulja *C. aurantifolia* (91,5 % inhibicije) (Hung i sur. 2013).

Ispitivanjem učinka eteričnih ulja limuna, mandarina, grejpfruta i naranče na rast pljesni (*A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium chrysogenum* Thom. i *Penicillium verrucosum* Dierckx), uobičajeno povezanih s kvarenjem hrane, utvrđeno je da eterična ulja citrusa pokazuju antifungalnu aktivnost. Povećanjem primijenjene koncentracije eteričnih ulja povećava se postotak inhibicije rasta micelija, a 100 % - tnu inhibiciju rasta svih ispitivanih gljivica pokazala su sva eterična ulja u koncentraciji 0,94 % (Viuda-Martos i sur. 2008).

Eterična ulja paprene metvice i bosiljka te njihove po dvije najznačajnije komponente (mentol, menton, linalol i eugenol) ispitivana su u parnoj fazi su na rast gljivica *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb, ex Fr). Vuill i *Mucor* sp. (Fisher), u zatvorenom sustavu. Eterična ulja i njihove glavne komponente pojedinačno ili u mješavini glavnih komponenti, gdje su pojedinačni sastojci korišteni u različitim omjerima, inhibiraju rast gljivica ovisno o primijenjenoj količini. Utvrđeno je da je mentol odgovoran za antifungalna svojstva eteričnog ulja paprene metvice, dok menton nije pokazao nikakav učinak, niti u jednoj primijenjenoj količini. Kod eteričnog ulja bosiljka samo je linalol pokazao umjerenu antifungalnu aktivnost, dok eugenol nije pokazao antifungalnu aktivnost na ispitivane gljivice. Utvrđeno je da su antifungalna svojstva komponenata pojačana njihovim miješanjem u omjeru sličnom omjeru u izvornom ulju što ukazuje na njihov sinergistički učinak (Edris i Farrag, 2003).

Eterično ulje *M. piperita* analizirano je GC i GC-MS tehnikom i ispitana je njegova antifungalna aktivnost u *in vitro* uvjetima na gljivice *Drechslera spicifera* (Bairnier) Arx, *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* i *M. phaseolina*. Identificirano je 35 komponenti u ulju paprene metvice. Najzastupljenije komponente bile su menton (30,63 %) i mentol (25,16 %). Ispitivanje je izvršeno postupkom razrjeđivanja agara s pet količina eteričnog ulja (100, 200, 400, 800 i 1600 µL / L). Utvrđeno da je eterično ulje paprene metvice učinkovito protiv ispitanih patogena u laboratorijskim uvjetima, a u najvećoj primijenjenoj količini ulje potpuno inhibira rast micelija ispitivanih gljivica. Antifungalno djelovanje eteričnog ulja povećava se s povećanjem količine ulja. Minimalne djelotvorne koncentracije ulja su različite i ovise o vrsti patogena. Utvrđeno je da količine 800 i 1600 µL / L mogu potpuno inhibirati rast micelija *D. spicifera*, a 1600 µL / L potpuno inhibira rast micelija *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* (Moghaddam i sur. 2013).

U *in vitro* uvjetima ispitana je antifungalna aktivnost butanolne frakcije ekstrakata lišća paprene metvice. Rezultati su pokazali da je smanjen rast micelija *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema, Doren & Kesteren i *F. verticillioides* za 72 % odnosno 55 % kada se koriste frakcije u količini 5 mg / mL. Osim toga, kemijskom pretvorbom flavonoida butanolne frakcije u oksim derivate povećava se protu gljivično djelovanje budući da je postotak inhibicije povećan na 84 % i 65 %.

Ovi rezultati ukazuju na to da se flavonoidi *M. piperita* mogu koristiti kao botanički fungicidi u zaštiti žitarica od infekcije navedenim gljivicama (Ilboudo i sur. 2016).

Fonceca i sur. (2015) su ispitivali antifungalno djelovanje *Origanum vulgare* L., *Origanum majorana* L., *M. piperita* i *R. officinalis* na 22 izolata *Pythium insidiosum* De Cock, L. Mend., A.A. Padhye, Ajello & Kaufman. Prilikom korištenja eteričnog ulja *O. vulgare* minimalna inhibicijska koncentracija ( $MIC_{50}$ ) kretala se od 0,05 do 1,75 mg / mL te između 0,11 i 3,5 mg / mL za *O. majorana*, *M. piperita* i *R. officinalis*.

Eterično ulje kultivirane paprene metvice pokazuje jaku antifungalnu aktivnost na kliničke izolate *Candida sp.* i *Aspergillus sp.* u količinama od 0,12 do 8,0  $\mu$ L / mL. Osim toga, bio film formulacije s eteričnim uljem paprene metvice djeluje na *Candida albicans* i *C. dubliniensis* pri 2  $\mu$ L / mL. Obzirom na širok raspon antifungalne aktivnosti, eterična ulja se mogu koristiti u liječenju gljivičnih infekcija, ali i za produženje roka trajanja prehrabnenih proizvoda (Saharkhiz i sur. 2012).

U Rumunjskoj su provedena *in vitro* i *in vivo* ispitivanja biljnih ekstrakata na rast gljivice *B. cinerea* (strain bc 27) izolirane iz crnog ribiza (*Ribes nigrum* L.). Najjača antibotriticidna aktivnost *in vitro* (učinkovitost između 80 i 100%) dobije se korištenjem 20, 10 i 5 %-tnim ekstraktima *Hyssopus officinalis* L., 20 i 10 %-tnim ekstraktima *Satureja hortensis* L., *Allium sativum* L., *Tagetes patula* L. i 20 %-tnim ekstraktima *Mentha* sp. Umjerena antifungalna aktivnost (učinkovitost između 35,7 % i 65,7%), utvrđena je korištenjem 5 i 10 %-tnim ekstraktima *Mentha* sp. te 5 %-tnim ekstraktima *S. hortensis*, *A. sativum* i *T. patula*. Najslabiju antibotriticidnu aktivnost ili neučinkovitost autori su utvrdili korištenjem ekstrakata dobivenih iz *Achillea millefolium* L., *Artemisia dracunculus* L., *R. officinalis* i *Valeriana officinalis* L.. Na temelju rezultata dobivenih u *in vitro* testovima, šest biljnih ekstrakata testirano je *in vivo*. Ekstrakti iz *S. hortensis*, *A. sativum*, *H. officinalis*, *Mentha* i *T. patula* pokazali su učinkovitost u 10 %-tnoj koncentraciji. Kod ekstrakta *V. officinalis* nije zabilježena nikakva inhibitorna aktivnost *in vivo* (Şesan i sur. 2015).

Türkölmez i Soylu (2014) su ispitali *in vitro* učinkovitost eteričnih ulja dobivenih iz taksonomski različitih ljekovitih biljka kao što su origano (*Origanum syriacum* L.), koromač (*F. vulgare* Mill.) i lovor (*Laurus nobilis* L.), koje prirodno rastu u različitim dijelovima pokrajine Hatay, kao i njihovih glavnih sastojaka (karvakrol, trans-anetol i 1,8-cineol) na *Sclerotium rolfsii* Sacc., *R. solani* i *M. phaseolina*. Inhibitorni učinci volatilne i kontakt faze različitih koncentracija eteričnih ulja ispitani su na rast hifa. Pri kontaktnom djelovanju ulja *O. syriacum* i *F. vulgare* potpuno inhibiraju rast micelija pri 160 do 320  $\mu$ g / mL, a eterično ulje *L. nobilis* potpuno inhibira rast micelija pri relativno velikim primijenjenim količinama (1440 - 2880  $\mu$ g / mL). Za usporedbu, hlapljiva faza svih eteričnih ulja u potpunosti inhibira rast micelija pri relativno nižim količinama (20 do 200  $\mu$ g / mL). Glavne komponente eteričnih ulja, karvakrol i trans-anetol, potpuno inhibiraju rast micelija pri 130 do 440  $\mu$ g / mL.

Mekonnen i sur. (2016) su ispitali *in vitro* antimikrobnu aktivnost eteričnih ulja *Thymus schimperi* Ronniger, *Eucalyptus globulus*, *R. officinalis* i *Matricaria chamomilla* L. protiv

bakterija i gljivica, a u cilju određivanja minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) navedenih eteričnih ulja. Rezultati istraživanja su pokazali da eterična ulja *T. schimperi*, *E. globulus* i *R. officinalis* negativno djeluju na rast ispitivanih bakterija i gljivica. Utvrđeno je da je antimikrobnii učinak *M. chamomilla* bio vrlo slab. Eterična ulja, osim *T. schimperi*, imala su MIC vrijednosti između 15,75 i 36,33 mg / mL. Vrijednosti MIC za *T. schimperi* bile su ispod 15,75 mg / mL za većinu bakterija i gljivica. Na temelju navedenog autori smatraju da bi ulje *T. schimperi* moglo biti potencijalni kandidat za pripremu antimikrobnih pripravaka.

*In vitro* rezultati pokazuju da je rast *B. cinerea* potpuno inhibiran primjenom ulja crnog kima i koromača u količinama 400 i 600 µL / L. *In vivo* rezultati pokazuju da ulja crnog kima, komorača i paprene metvice u svim primijenjenim količinama inhibiraju rast *B. cinerea* na plodovima šljive. Osim toga, sva tri ulja su na višim koncentracijama pokazala pozitivne učinke na neke parametre voća kao što su titrabilna kiselost, topljiva suha tvar, sadržaj ugljikohidrata, pH i postotak gubitka težine. Ta ulja inhibiraju infekciju plodova šljive gljivom *B. cinerea* i produžuju rok trajanja (Aminifard i Mohammadi, 2013).

Analizirajući rast micelija *in vitro*, Dudoiu i sur. (2017) su utvrdili da je nakon 7 dana eterično ulje bosiljka, primijenjeno u 6 različitim koncentracijama, potpuno inhibiralo razvoj *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. i *Penicillium* sp., počevši od 1000 µL / L na više. Kada se primjenjuje maksimalna testirana doza od 5000 µL / L, pare eteričnog ulja bosiljka inhibiraju rast micelija za 90 %. Autori zaključuju da eterično ulje bosiljka ima jako fungistatično i fungitoksično djelovanje na obje testirane gljivice.

Piyo i sur. (2009) su istraživali utjecaj dvije vrste tajlandskih ljekovitih biljaka: bosiljak (*O.basilicum*) i slatki komorač (*O. gratissimum*) na rast micelija i klijanje spora sedam vrsta patogenih gljivica riže (*Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltshire, *A. flavus*, *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *Pyricularia grisea* Cooke ex Sacc. i *R. solani*). Koncentracije primijenjene za procjenu učinkovitosti eteričnih ulja bile su 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 i 2,0 % v/v. Istraživanje je pokazalo da je ulje bosiljka u koncentraciji 0,6 % v/v ispoljilo najsnažniju inhibiciju rasta micelija *F. verticillioides* (100 %), *F. proliferatum* (49,6 %) i *P. grisea* (100 %). Koncentracija od 2,0 % v/v pokazala je značajnu inhibiciju rasta *B. orizae*, *A. brassicicola* i *A. flavus* od 97,40 %, 94,62 % i 59,25 %. Međutim, ulje bosiljka nije se pokazalo učinkovitim za *R. solani*. Slatki komorač spriječio je rast micelija svih patogenih gljivica kada je koncentracija ulja bila 0,8 % v/v. Podaci o inhibiciji klijanja spora zabilježeni 24 sata nakon inokulacije pokazali su da eterično ulje bosiljka u koncentraciji od 0,8 % v/v može smanjiti klijanje spora *F. verticillioides* (91,31 %) i *A. brassicicola* (99,74 %). Koncentracija 2,0 % v/v inhibira klijanje spora i kod *F. proliferatum*, *P. grisea*, *B. oryzae*, *R. solani* i *A. flavus*. Eterično ulje komorača može potpuno zaustaviti klijanje spora kada je koncentracija bila viša od 0,8 % v/v.

Ispitivanja su pokazala da eterično ulje iz cvjetova *E. globulus* ima antifungalno djelovanje na gljivicu *Penicillium citrinum* Thom. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) kretala se u rasponu 3,07 do 96,14 µL / mL (Derwich i sur. 2013).

Ispitana je *in vitro* djelotvornost ulja i ekstrakata ljekovitih biljaka *Azadirachta indica* A. Juss. (ulje i ekstrakt lista), *Psidium guajava* L. (ekstrakt lista), *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (ekstrakt kore), *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill (ekstrakt sjemena) i *Ocimum sanctum* L. (ekstrakt lista), kao i tri mikrobnna antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma atroviride* P. Karst. i *Trichoderma longibrachiatum* Rifai protiv *F. solani* f. sp. *melongena* i *F. oxysporum* f. sp. *Moniliforme*. *Trichoderma* vrste imale su bolju učinkovitost u odnosu na ispitivana ulja i ekstrakte (Dwivedi i sur. 2015).

Antifungalna aktivnost *Eucalyptus dalrympleana* Maiden, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus gunnii* Hook f. i *Eucalyptus urnigera* Hook f. ispitana je protiv patogena kivija *B. cinerea*, *Botryosphaeria dothidea* (Moug) Ces & De Not i *Diaporthe actinidiae* Somer & Beraha. Metanol ekstrakt iz stabla eukaliptusa pokazao je jako antifungalno djelovanje na ispitivane patogene. Ispitivanje anti gljivične aktivnosti spojeva izoliranih iz *E. darlympleana* pokazalo je da je galna kiselina negativno utjecala na rast micelija i klijanje spora *B. cinerea* pri relativno visokim koncentracijama (1000 i 5000 mg / L) (Oh i sur. 2008).

Antifungalno djelovanje vodenih i metanol ekstrakata 63 biljke iz 23 porodice prikupljene u zapadnom Iranu, ispitano je na tri ekonomski važne fitopatogene gljivice *Cochliobolus sativus*, *F. oxysporum* i *R. solani*. Dvadeset jedan ekstrakt (33 %) pokazao je inhibicijski učinak protiv barem jedne od gljivica. Šesnaest (25 %), deset (16 %) i šesnaest (25 %) ispitanih ekstrakata inhibira rast micelija *R. solani*, *F. oxysporum* i *C. sativus*. Najjače antifungalno djelovanje na sve tri gljivice imali su ekstrakti vrsta *Centaurea behen* L., *Lavandula* sp. i korijen *Tribulus terrestris* L. Ekstrakti *Glycyrrhiza glabra* L., *R. officinalis*, *Avena sativa* L., *Vaccaria pyramidata* (Mill.) Rauschert, *C. behen*, *Anagallis arvensis* L. i *T. terrestris* pokazuju široki spektar aktivnosti protiv gljiva. Prema tim rezultatima, autori zaključuju da se flora na zapadu Irana može smatrati bogatim izvor biljaka s antifungalnom aktivnošću. Potreban je daljnji probir drugih biljnih vrsta, identificiranje aktivnih frakcija ili metabolita i *in vivo* ispitivanje primjene ekstrakata (Bahraminejad i sur. 2011).

*In vitro* istraživanje koje su proveli Lee i sur. (2007) s pet uzročnika biljnih bolesti (*B. cinerea*, *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *P. ultimum*, *R. solani*) pokazalo je da od 39 ispitanih ulja, eterično ulje origana ima najjače antifungalno djelovanje pri čemu je inhibiralo porast micelija za 55 do 93 %. Eterična ulja eukaliptusa (*Eucalyptus citriodora* (Hook) K.D. Hill & L.A.S. Johnson) i kumina (*Cuminum cyminum* L.) su inhibirala porast micelija između 50 % i 91 %, odnosno između 41 % do 83 %. Neka eterična ulja, poput slatke naranče, nisu djelovala inhibitorno na razvoj ispitivanih gljiva. Eterično ulje eukaliptusa imalo je jako fungistatično djelovanje na porast micelija gljive *B. cinerea*.

Eterična ulja i komponente od stabljika / lišća i cvjetova *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*, koja raste divlje u južnoj Sardiniji (Italija), ekstrahirani su hidrodestilacijom te je testirana njihova antifungalna aktivnost. Utvrđena je snažna antifungalna aktivnost eteričnih ulja na patogene gljivice *R. solani* i *F. oxysporum*. Eterična ulja su pokazala veću aktivnost, čak i protiv najosjetljivijih gljivica, u usporedbi s pojedinačnim sastojcima. Autori navode da se to može objasniti time da i manje zastupljeni spojevi imaju utjecaj na protu gljivično djelovanje ili da je

antifungalna aktivnost rezultat sinergizma između različitih spojeva u ekstraktima (Angioni i sur. 2006).

Eterično ulje ružmarina (*R. officinalis*) pokazalo je snažno antifungalno djelovanje protiv *Aspergillus flavus* (PTCC = 5004). Utvrđeno je da je ulje ružmarina, u razrijedenju 1, 1/2 i 1/4, pokazalo snažnije antifungalno djelovanje od antibiotika gentamicina (8 mg / mL) na *A. flavus*. Umjerenu antifungalnu aktivnost pokazao je borneol u 10 % - tnom razrjeđenju. 10 % - tni fungicid Benomil nema inhibitorni učinak na *A. flavus*. Autori zaključuju da je veliki postotak antifungalne aktivnosti ulja ružmarina vezan za sadržaj monoterpena, posebno  $\alpha$ -pinena kao glavne komponente (Moghtader i sur. 2011).

Glavni spojevi eteričnog ulja ružmarina su 1,8 cineol (52,2 %), kamfor (15,2 %),  $\alpha$ -pinen (12,4 %). Rast micelija *F. verticilliodes* bio je značajno smanjen u količini 150  $\mu\text{g}$  / mL eteričnog ulja. Utvrđene su značajne morfološke promjene micelija, kao što su rupture stanične stijenke i istjecanje citoplazme kod primjene ulja ružmarina u količini 300  $\mu\text{g}$  / mL. Pri manjim količinama eteričnog ulja učinak na proizvodnju ergosterola i biomase micelija je varirao, kao i učinak na proizvodnju fumonizina. U količini ulja  $\geq 300 \mu\text{g}$  / mL ovi procesi su značajno inhibirani (da Silva Bomfim i sur. 2015).

Outaleb i sur. (2015) su ispitivali antimikrobnu aktivnost etanol ekstrakta i eteričnih ulja tri uzorka *R. officinalis* različitog podrijetla u Alžиру određivanjem MIC za gljive *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom, *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium glabrum* (Wehmer) Westling, *P. expansum* and *F. oxysporum* f.sp. *lini*. U usporedbi s uljima, ekstrakti etanola su bili aktivniji. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) za *F. oxysporum* f.sp. *lini* bila je 6  $\mu\text{L}$  / mL kod primjene eteričnog ulja iz kultiviranih uzoraka, 20  $\mu\text{L}$  / mL kod primjene eteričnog ulja iz biljaka s područja Tablat, dok je kod etanol ekstrakta MIC bio 6  $\mu\text{L}$  / mL odnosno 10  $\mu\text{L}$  / mL.

Utvrđivan je učinak eteričnog ulja metvice u količinama 1, 3 i 5  $\mu\text{L}$  na rast micelija *F. oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*. Ulje u svim količinama značajno zaustavlja rast micelija gljive, a najjače djelovanje utvrđeno je kod primjene eteričnog ulja u najvećoj količini. Inhibitorni učinak eteričnog ulja zavisio je i o vremenu inkubacije. Uzorci tretirani s 1  $\mu\text{L}$  eteričnog ulja pokazivali su lagano smanjenje učinka kroz produljenje inkubacije. Uzorci tretirani s 3 i 5  $\mu\text{L}$  pokazivali su maksimum inhibicije rasta micelija nakon 2-3 dana od inkubacije (Nosrati i sur. 2011).

Ispitivanjem djelotvornosti eteričnih ulja *T. vulgaris*, *T. kotschyianus* i *Zataria multiflora* Boiss. na gljivice *P. aphanidermatum*, *R. solani*, *F. graminearum* i *S. sclerotiorum* autoru su utvrdili 100 % - tnu inhibiciju rasta pri količini 200  $\mu\text{L}$  / L. Međutim, MIC i MFC (minimalna fungicidna koncentracija) ispitivanih ulja razlikovala se ovisno o vrsti gljivica. *P. aphanidermatum* je najosjetljiviji s prosječnom inhibicijom rasta od 89,54 %, dok je *S. sclerotiorum* pokazala najveću otpornost s prosječnom inhibicijom rasta od 75,35 % (Amini i sur. 2012).

Tanović i sur. (2005.) su u ispitivanju eteričnih ulja 18 vrsta biljaka utvrdili kako najbolji antifungalni učinak na porast *B. cinerea* imaju ulja timijana, cimeta i anisa, dok je ulje naranče i bijelog bora pokazalo najslabije djelovanje.

Ispitivani su spojevi  $\beta$ -felandren,  $\beta$ -pinen, kamfen, karvakrol, citral, o-cimen,  $\gamma$ -terpinen i timol koji su izolirani kao najznačajnije komponente eteričnih ulja iz tri mediteranske aromatične biljke. Testirani su *in vitro* protiv pet uzročnika propadanja ubranog voća (*B. cinerea*, *Penicillium italicum* Wehmer, *P. expansum*, *Phytophthora citrophthora* (R.E. Sm. & E.H. Sm.) Leonian i *R. stolonifer*). Citral je imao fungicidno djelovanje protiv *P. citrophthora*, a karvakrol i timol su pokazali djelovanje na *P. citrophthora* i *R. stolonifer*. Citral i karvakrol su zaustavili rast *B. cinerea* u količini 250  $\mu\text{L}$  / L, a timol kod 150 i 250  $\mu\text{L}$  / L. Timol je pokazao fungistatično djelovanje i protiv *P. italicum*. Timol i karvakrol su inhibirali rast micelija *P. expansum* u količini 250  $\mu\text{L}$  / L. Autori smatraju da ovi rezultati predstavljaju važan korak prema cilju da se neka eterična ulja ili njihove komponente koriste kao prirodna sredstva za zaštitu voća i prehrambenih proizvoda što je osobito značajno zbog njihove sigurnosti za zdravlje potrošača i pozitivnog učinaka na produženje trajnosti svježih poljoprivrednih proizvoda (Camele i sur. 2012).

Eterična ulja origana, crvenog timijana i palmarose mogu biti komponente za integrirano suzbijanje *Phytophthora capsici* Leonian. Eterična ulja ispitana su u *in vitro* i *in vivo* uvjetima. Među 14 testiranih komercijalnih eteričnih ulja origano, palmarosa i crveni timijan imali su najniže vrijednosti EC<sub>50</sub> (< 0,15  $\mu\text{g}$  / mL) za inhibiciju produkcije i klijavosti sporangija i zoospora i rasta micelija. Populacija *P. capsici* u zemlji je smanjena kod tri eterična ulja. Plodovi tikvice (*Cucurbita pepo* L.) bili su zaštićeni od infekcije kada su poprskane eteričnim uljem crvenog timijana (0,1  $\mu\text{g}$  / mL) ili origana i palmarose (0,2  $\mu\text{g}$  / mL). Sadnice tikvica preživjele su u tlu zaraženom gljivom *P. capsici* kada su bile tretirane uljem crvenog timijana u dozi od 0,1  $\mu\text{g}$  / mL, dok su sve ne tretirane sadnice uginule (Bi i sur. 2012).

Perez-Sanchez i sur. (2007) su ispitivali antifungalno djelovanje eteričnih ulja iz šest populacija *Thymus zygis* Loefl. ex L na gljivice *Pythium irregularare* Buisman, *R. solani*, *C. acutatum*, *F. oxysporum* i *S. sclerotiorum* te utvrdili da se EC<sub>50</sub> kretao, ovisno o ulju i gljivici, od 86  $\mu\text{L}$  / L do 577  $\mu\text{L}$  / L.

Eterično ulje sjemenki *Carum carvi* L. testirano je protiv deset patogenih bakterija i šest fitopatogenih gljiva (*A. alternata*, *B. theobromae*, *Colletotrichum corchori* Ikata (Yoshida), *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijin, *F. equiseti* (Corda) Sacc. i *M. phaseolina*). Eterična ulja su pokazala i 100 % - tnu inhibiciju rasta svih ispitivanih gljivica kod 100  $\mu\text{L}$  / L. MIC je varirao od 50 do 300  $\mu\text{L}$  / L, a MFC od 200 do 400  $\mu\text{L}$  / L (Begum i sur. 2008).

El-Mohamedy i sur. (2013) su ispitivali inhibitornu aktivnost eteričnih ulja i nekih drugih tvari koje mogu biti alternativa kemijskim fungicidima. U istraživanje su uključene gljivice *F. oxysporum radicis-lycopersici*, *F. oxysporum lycopersici*, *F. solani*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *M. phaseolina*, *Pythium sp.* i *Phytophthora sp.* koje uzrokuju trulež korijena rajčice. Korištena su eterična ulja limunske trave, timijana, citrala i nerolija kao i salicilna i sorbinska kiselina, kalijev

sorbit i kalijev karbonat. Rast gljivica se značajno smanjilo pri povećanju koncentracije salicilne i sorbinske kiseline, a u potpunosti je inhibiran primjenom salicilne i sorbinske kiseline u količini 12,5 mM. Kalijev sorbat i kalijev karbonat imali su inhibitorni učinak na rast micelija svih gljivica *in vivo*. Inhibitorni učinak je veći s povećanjem koncentracije sve do najviše koncentracije od 4%. Nadalje, negativni učinak na rast micelija utvrđen je kod svih koncentracija ispitivanih ulja. Značajno je smanjen rast micelija s povećanjem koncentracije eteričnih ulja i dosegao je minimalni rast na najvišoj primjenjenoj koncentraciji. Kompletna inhibicija rasta gljivica uzvrđena je pri 1,5 % -tnoj koncentraciji svih testiranih eteričnih ulja.

Rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti 29 eteričnih ulja iz kineskog autohtonog bilja na *A. alternata*, *Colletotrichum destructivum* i *P. parasitica* pokazali su da stupanj inhibicije rasta micelija ovisi o koncentraciji pripravka i eteričnih ulja. Široki spektar antimikrobne aktivnosti zabilježen je kod eteričnih ulja cimeta, geranija, kumina, timijana, bosiljka i limunske trave. Eterična ulja cimeta i timijana imala su najjaču antimikrobnu aktivnost na rast micelija *A. alternata*, *C. destructivum* i *P. parasitica*. Osim toga, eterična ulja imala su jak negativni učinak na klijanje spora svih ispitivanih patogena u ovisnosti o dozi ulja (Lu i sur. 2013).

Ispitivano je antifungalno djelovanje eteričnih ulja dobivenih iz *Thymus capitatus* L., *Daucus crinitus* Desf. i *Tetraclinis articulata* Vahl. u *in vitro* uvjetima na pet gljivica koje uzrokuju trulež rajčice (*F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium* sp.). Eterično ulje *T. capitatus* u količini 2 µg / mL inhibiralo je rast gljivica 100 %, dok je eterično ulje *T. articulata* bilo učinkovito protiv *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger* i *Penicillium* sp. te je porast micelija inhibiran za 57 % pri od 5 µg / mL ulja. Najmanje učinkovito bilo je eterično ulje *D. crinitus*. Rezultati ukazuju da eterična ulja mogu biti dobar izbor u tretmanu protiv uzročnika truljenja rajčice ili kao novi potencijalni izvor prirodnih aditiva za hranu i/ili farmaceutskoj industriji (Alam i sur. 2014).

Adabayo i sur. (2013) su ispitivali djelovanje eteričnih ulja origana (*O. vulgare*) i *Monarda didyma* L. te komercijalnu formulaciju ulja timijana (Gloves Off®) protiv uzročnika sive pljesni jagoda. Komercijalna formulacija ulja timijana potpuno je inhibirala rast micelija pri količini 200 µg / mL. Učinak različitih količina eteričnih ulja i komercijalne formulacije na rast *B. cinerea* ovisio je o primijenjenim dozama. Rast micelija u tretmanu s eteričnim uljima se znatno smanjio pri količini 51,2 µg / mL.

Minimalna inhibitorna koncentracija i minimalna fungicidna koncentracija eteričnog ulja *Magnolia liliiflora* Desr. bila je u rasponu od 125 do 500 µg / mL i rezultirala je kompletnom inhibicijom rasta fitopatogenih gljivica *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *Colletotrichum capsici* (Syd. & P. Syd.) E.J. Butler & Bisby, *P. capsici* i *F. oxysporum* (Bajpai i Kang, 2012).

Istraživanje kojemu je bio cilj procijeniti protu gljivično djelovanje eteričnog ulja *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. protiv pet *Fusarium* vrsta, koji su često povezani s patološkim promjenama kukuruza, proveli su Gakuubi i sur. (2017). Eterično ulje je ekstrahirano destilacijom pomoću vodene pare u modificiranom uređaju Clevenger tipa iz listova *E. camaldulensis*. Kemijski sastav određen je plinskom kromatografijom - masenom

spektrometrijom. Tehnika otrovane hrane korištena je za određivanje postotka inhibicije rasta micelija, MIC i MFC eteričnih ulja na patogene gljivice. Antifungalna aktivnost različitih koncentracija eteričnog ulja procijenjena je metodom disk difuzije. Najzastupljeniji spojevi koji su identificirani u eteričnom ulju bili su 1,8-cineol (16,2 %)  $\alpha$ -pinen (15,6 %),  $\alpha$ -felandren (10,0 %), te p-cimen (8,1 %). Eterično ulje potpuno inhibira rast micelija svih testiranih patogena u količini od 7 do 8  $\mu\text{L}$  / mL nakon pet dana inkubacije. MIC i MFC eteričnog ulja na ispitane gljivice kretale su se u rasponu od 7 do 8  $\mu\text{L}$  / mL odnosno 8 do 10  $\mu\text{L}$  / mL.

Antifungalno djelovanje eteričnih ulja klinčića, limunske trave, metvice i eukaliptusa ispitivano je na gljivicu *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* izolat 1322. Rezultati su pokazali da inhibitorni učinak ulja ovisi o dozi na testiranoj gljivici. Najveću aktivnost pokazalo je ulje klinčića potpuno inhibirajući rast micelija i klijanje spora kod 125  $\mu\text{L}$  / L. Izračunate vrijednosti IC<sub>50</sub> bile su 18,22  $\mu\text{L}$  / L za eterično ulje klinčića, 24,25  $\mu\text{L}$  / L za eterično ulje limunske trave, 60,05  $\mu\text{L}$  / L za ulje metvice i 207,86 za eterično ulje eukaliptusa.

Učinak ulja klinčića na morfologiju *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322 ispitana je elektronskim mikroskopom (SEM) i mikroskopom atomskih sila (AFM). Promatranje SEM je otkrilo smežurane hife, a AFM promatranje pokazalo je skupljene i prekinute spore u ulju klinčića. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) za ulje klinčića je 31,25  $\mu\text{L}$  / L prema mikro dilucijskoj metodi. (Sharma i sur. 2017).

López-Meneses i sur. (2017) su ispitivali antifungalnu aktivnost dva eterična ulja i njihove tri glavne komponente na rast i klijanje spora *F. verticillioides* i *Alternaria tenuissima*. Izračunate su minimalne i polovina maksimalne inhibitorne koncentracije (CMI i CI<sub>50</sub>) nakon 96 sati za svaki tretman. Eterično ulje limunske trave i komponenta citral izazvali su najveću inhibiciju rasta *A. tenuissima* (CMI od 1000  $\mu\text{L}$  / L i CI<sub>50</sub> od 10  $\mu\text{L}$  / L). Za *F. verticillioides* najučinkovitija komponenta je geraniol (CMI od 1000  $\mu\text{L}$  / L i CI<sub>50</sub> od 250  $\mu\text{L}$  / L). Utvrđeno je odgodođeno klijanje spora tretiranjem eteričnim uljima i njihovim glavnim komponentama.

Fonseca i sur. (2015) su u *in vitro* uvjetima ispitivali antimikrobnu djelovanje origana (*O. vulgare*, *O. majorana*), mente (*M. piperita*) i ružmarina (*R. officinalis*) na gljivicu *Pythium insidiosum*. Minimalna inhibitorna koncentracija bila je od 0,05 do 1,75 mg / mL kod ulja *O. vulgare*, a od 0,11 do 3,5 mg / mL za eterična ulja *O. majorana*, *M. piperita* i *R. officinalis*.

Ulje noćnog jasmina (*Cestrum nocturnum* L.) (1000  $\mu\text{L}$  / L) i organski ekstrakti (1500  $\mu\text{g}$  / disk) pokazali su antifungalni učinak protiv *B. cinerea*, *C. capsici*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. capsici*, *R. solani* i *S. sclerotiorum*. Ulje je uvjetovalo inhibiciju rasta micelija od 59,2 do 80,6 %, a ekstrakti 46,6 do 78,9 %, a minimalne inhibitorne koncentracije su bile u rasponu od 62,5 do 500 i 125 do 1000  $\mu\text{g}$  / mL. Eterično ulje imalo je značajan negativni utjecaj na klijanje spora svih gljivica ovisno o koncentraciji i vremenu inhibicije. Nadalje, eterično ulje je pokazalo jako *in vivo* protugljivično djelovanje (82,4 – 100 %) u suzbijanju bolesti u stakleničkom uzgoju paprike (Al-Reza i sur. 2010).

Neka eterična ulja u *in vitro* uvjetima mogu imati i stimulativni utjecaj na rast micelija nekih fitopatogenih gljiva (Ćosić i sur. 2010), međutim, isto tako, mogu biti i učinkovitija u kombinaciji protiv fitopatogenih gljivica nego kad se koriste odvojeno zbog njihovog sinergističkog djelovanja (Sukata i sur. 2008).

Linalol, glavna komponenta eteričnog ulja lavande (*L. angustifolia*), nije pokazao inhibitornu aktivnost protiv gljiva *C. acutatum*, *Colletotrichum fragariae*, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. te *P. viticola*, *P. obscurans* i *F. oxysporum* (Özek i sur. 2010).

Isto tako, linalil acetat, jedna od glavnih komponenti ulja lavande, nije pokazala značajnu antifungalnu aktivnost na rast micelija gljive *Diaporthe sojae* Lehman (Dev i sur. 2004).

Ispitivanjem je utvrđeno da eterična ulja cimeta i klinčićevca imaju izvjesnu antifungalnu aktivnost na različite gljivice iz roda *Phomopsis*. Međutim, eterična ulja anisa, metvice, kima, lavande, ružmarina, kadulje i timijana nisu pokazala značajniju antifugalnu aktivnost na iste gljivice. Eterična ulja cimeta, klinčića, limunske trave i origana kontroliraju rast *Pythium* vrsta (MIC 200 µL / L) (Bullón i Goggi, 2005).

Ispitivanjem antifungalnih svojstava eteričnog ulja duglazije (*Pseudosuga menziesii* Mirb. Franco) na inhibiciju rasta micelija gljiva *D. helianthi* i *A. alternata* utvrđeno je da ulje ima bolja antifungalna svojstva od komercijalne antifungalne tvari bifonazola. Minimalna inhibitorna koncentracija eteričnog ulja duglazije bila je od 1,5 do 4 µg / mL. Gljivica najosjetljivija na ispitano ulje bila je *D. helianthi*, dok su *Penicillium* vrste i *Microsporum canis* E. Bodin ex Gueg. bile najotpornije (Tešević i sur. 2009).

Iako različite komponente eteričnih ulja poput timola, eugenola, 1,8-cineola i drugih imaju antifungalno djelovanje na različite fitopatogene gljivice (Wang i sur. 2010; El-Shiekh i sur. 2012; Marei i sur. 2012), neki istraživači smatraju da antimikrobnii učinak eteričnih ulja ovisi o svim kemijskim komponentama (Stefan i sur. 2013).

Antifungalna aktivnost smanjuje se ovisno o vrsti kemijskih supstanci: fenoli > alkoholi > aldehidi ≥ ketoni > eteri > ugljikovodici (Kalemba i Kunicka, 2003).

El-Shiekh i sur. (2012) su ispitivali utjecaj timola, eugenola, metil cinamata, linalola i 1,8-cineola na 5 gljivica *S. rolfsii*, *R. solani*, *B. cinerea*, *F. oxysporum* i *A. solani* u *in vitro* uvjetima. Timol i eugenol (fenolni spoj) imali su najjače antifungalno djelovanje prema ispitanim gljivicama nakon toga metil cinamat (kao dio keto spoja), a najnižu antifungalnu aktivnost imali su linalol i 1,8-cineol (tercijarni alkohol i eter).

Antifungalno djelovanje dvanaest monoterpena (camfen, kamfor, karvon, 1,8-cineol, kuminaldehid, fenhon, geraniol, limonen, linalol, mentol, mircen i timol) ispitano je na četiri gljive *R. solani*, *F. oxysporum*, *Penicillium digitatum* i *Aspergillus niger*. Timol je pokazao najjače antifungalno djelovanje s EC<sub>50</sub> vrijednosti 33,50, 50,35, 20,14 i 23,80 mg / L.

Antifungalno djelovanje timola bilo je na nivou djelovanja fungicid karbendazima. Limonen i 1,8-cineol su imali vrlo dobro protu gljivično djelovanje (Marei i sur. 2012).

Ispitivanjem antifungalnog djelovanja eteričnog ulja *M. alternifolia* i njegovih komponenti na gljivu *B. cinerea* utvrđeno je da su komponente eteričnih ulja terpinen-4-ol i 1,8-cineol pokazale sinergističku antifungalnu aktivnost koja je bila znatno veća od bilo koje komponente zasebno (Yu i sur. 2015).

Morcia i sur. (2012) su ispitivali utjecaj pet spojeva koji se prirodno pronađavaju u eteričnim uljima (terpinen-4-ol, eugenol, karvon, 1,8-cineol (eukaliptol) i timol) na 10 različitih vrsta fitopatogenih gljiva (*F. graminearum*, *F. subglutinans*, *Fusarium cerealis* (Cooke) Sacc., *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *Fusarium sporotrichioides* Sherb., *Aspergillus tubingensis* Mosseray, *A. carbonarius*, *Alternaria alternata* i *Penicillium* sp.) u *in vitro* uvjetima. Testirani spojevi ispoljili su negativne učinke na rast micelija svih vrsta gljivica. Timol, eugenol i karvon su pokazali najbolje djelovanje i mogli bi se koristiti u komercijalne svrhe u ekološkoj poljoprivredi.

U *in vitro* uvjetima ispitano je djelovanje 16 aromatičnih spojeva u količinama od 100 do 8000 µL / L na pet patogena sjemena: *Drechslera sorokiniana* (Sacc.) Subram. Et Jain, *D. sojae*, *F. solani*, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson i *M. phaseolina* (Tassi) Goid. Svi spojevi su, ovisno o primjenjenoj dozi, imali inhibicijski učinak na rast gljiva. Utvrđeno je da su eugenol, metil eugenol, citral, 2-fenetil alkohol, 2-fenetil acetat i 2-fenetil propionat vrlo učinkoviti protiv svih testnih gljivica s MIC vrijednostima od 270 do 1704 µL / L (Dev i sur. 2004).

Antifungalna aktivnost 15 eteričnih ulja ili njihovih komponenti ispitana je *in vitro* na tijek klijanja konidija i rast micelija *C. gloeosporioides*. Klijanje konidija je najjače inhibirano isparavanjem karvakrola, cimeta, trans-cinamaldehida, citrala, p-cimena i linalola. Djelovanjem eteričnih ulja utvrđen je manji rast micelija *C. gloeosporioides* na inokuliranim nezrelim zelenim paprikama u odnosu na inokuliranu kontrolu paprike bez tretmana uljima. U nasadima je test pokazao da su sva testirana eterična ulja imala dobro djelovanje protiv uzročnika antraknoze. Dakle, aplikacija različitih eteričnih ulja može se koristiti za kontrolu antraknoze tijekom proizvodnje plodova paprike (Hong i sur. 2015).

Također je predmet istraživanja postala primjena eteričnih ulja kao potencijalnih ekološko prihvatljivih dezinficijensasa zemljišta (Yohalem i Passey, 2011).

Osim ispitivanja *in vitro* sve više pažnje je usmjereni na *in vivo* ispitivanja utjecaja eteričnih ulja na rast gljivica koje su ekonomski štetne za proizvode nakon berbe. Tako su Etemadi i sur. (2012) ispitivali tri eterična ulja (*Satureja hortensis*, *Zataria multiflora* i *Carum copticum*) *in vitro* na PDA podlozi u koncentraciji od 100, 200 i 300 µL / L za kontrolu rasta micelija gljivice *B. cinerea*, važnog patogena jagoda. Nakon toga su jagode inokulirane u otopini spora ( $10^6$  spora / mL), a zatim tretirane s tri otopine eteričnih ulja te fungicidom (iprodion + karbendazim). Rezultati su pokazali da je količina od 200 µL / L kod sva tri eterična ulja dovoljna za učinkovitu kontrolu rasta micelija *B. cinerea* i na PDA podlozi i na plodovima.

Neka *in vivo* istraživanja su potvrdila vrlo dobru učinkovitost eteričnih ulja protiv *B. cinerea*, *Penicillium italicum* i *P. digitatum*. Rezultati su pokazali da se eterična ulja u prikladnoj formulaciji mogu koristiti za kontrolu ovih važnih patogena koji uzrokuju štete nakon berbe voća i povrća (Vitoratos i sur. 2013).

Ispitivanje antifungalnog kapaciteta eteričnih ulja kadulje (*Salvia officinalis* L.), ružmarina (*R. officinalis*), origana (*O. vulgare*), eukaliptusa (*Eucalyptus* sp.) i komorača (*F. vulgare*) provedeno je za gljivice *P. expansum*, *C. gloeosporioides* i *B. cinerea* u *in vitro* i u *in vivo* uvjetima na jabukama. Utvrđeno je da je eterično ulje origana bilo najučinkovitije protiv ispitivanih gljivica u *in vitro* i *in vivo* pokušima. Silazni redoslijed inhibicijske snage eteričnih ulja bio je od eukaliptusa preko komorača i kadulje do eteričnog ulja ružmarina. Iako eterično ulje origana nije u potpunosti inhibiralo rast micelija u odabranim koncentracijama uspjelo je ograničiti rast gljivica (fungistatičko djelovanje) u *in vitro* biološkim testovima (Yilmaz i sur. 2016).

Rezultati *in vitro* ispitivanja eteričnih ulja cimeta, klinčića i origana su pokazali smanjenje rasta micelija *F. culmorum* i *F. verticillioides* od 90 % do 100 %, s tim da je eterično ulje origana najučinkovitije. Eterično ulje origana pokazalo je određeni antifungalni učinak na iste gljive u inokuliranim zrnima riže (Roselló i sur. 2015).

U cilju prevencije rasta gljivica i akumulacije mikotoksina u žitaricama ispitana je učinak eteričnih ulja melise (*Melissa officinalis* L.), kadulje (*S. officinalis*), korijandera (*Coriandrum sativum* L.), timijana (*T. vulgaris*), mente (*M. piperita*) i cimeta (*C. zeylanicum*). Sva eterična ulja pokazala su negativan učinak na kontaminaciju sjemena pšenice gljivicama. Jačina antifungalnog djelovanja ovisila je o primjenjenoj dozi. Najjači inhibitorni učinak na gljivice *Fusarium* i *Aspergillus* zabilježen je pet dana nakon tretmana (Sumalan i sur. 2013).

U *in vitro* uvjetima Ziedan i Farrag (2008) su utvrdili antifungalnu aktivnost para eteričnih ulja paprene metvice i slatkog bosiljka. Antifungalna aktivnost ulja porasla je s povećanjem koncentracije. Rezultati su pokazali da se *Rhizopus stolonifer* i *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey mogu potpuno inhibirati ovim uljima u dozi od  $30\mu\text{L} / 400\text{cm}^3$  zraka u zatvorenom sustavu. Utvrđeno je da se u slučaju miješanja dvije komponente (mentola i mentona te linalola i eugenola) za svako ulje pojačavaju antifungalna svojstva u nižoj dozi što ukazuje na sinergijski učinak. Autori zaključuju da su eterična ulja paprene metvice i bosiljka dobri u kontroli propadanja bresaka nakon uskladištenja.

Učinkovitost šest eteričnih ulja (*Cuminum cyminum*, *Anethum graveolens*, *Salvia officinalis*, *Origanum onites* L., *Rosmarinus officinalis* i *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel) na kontrolu razvoja *R. solani* i *Streptomyces scabies* (Thaxt.) Lambert and Loria na krumpiru ispitali su Arici i Sanli (2014). Nadzemni dijelovi rajčice bili su prskani eteričnim uljem u dozi od 10 mL za svaku biljku ručnom prskalicom kad su biljke krumpira bile visine 15 do 20 cm. Primijenjena eterična ulja bila su u koncentraciji od 100, 250, 500 i  $1000\ \mu\text{L} / \text{L}$  i otopljena u 5 %-noj koncentraciji dimetil sulfoksida, a zatim razrijeđena vodom koja sadrži Tween 20 (0,1 %,

v/v). Biljke su tretirane tri puta u intervalima od 15 dana. Jačina infekcije gomolja patogenima *R. solani* i *S. scabies* bila je izračunata kao postotak površine prekriven patogenima. Rezultati su pokazali nešto lošije djelovanje *L. intermedia* na *S. scabies*, ali je eterično ulje *O. onites* i *A. graveolens* bilo učinkovito za smanjenje intenziteta bolesti.

Rezultati ispitivanja utjecaja metanol ekstrakata 18 biljnih vrsta su pokazali da je samo njih devet imalo antifungalno djelovanje na *C. gleosporoides*. U *in vitro* uvjetima ekstrakt *Echinops* sp. u dozi od 10 µL je pokazao najveću zonu inhibicije od 13,5 mm, dok je ekstrakt *Lantana viburnoides* (Forssk) Vahl i *Ocimum* sp. u istoj dozi imalo zonu inhibicije od 2,2 mm. Ekstrakt *Echinops* sp. smanjio je klijavost spora *C. gleosporoides* za 98,7 %, ekstrakt *Thymus serrulatus* Hochst. Ex Benht. za 97,7 % i ekstrakt *Ocimum latifolium* za 97,3 %. U *in vivo* ispitivanju je 25 %-tni ekstrakt *Echinops* sp. uspio zadržati zdrave plodove gdje je samo manje od 1 % površine plodova bilo zahvaćeno gljivicom i održao kvalitetu plodova svih 14 dana pokusa. Autori navode da je potrebna daljnja senzorska analiza tako tretiranog voća (Ademe i sur. 2014).

Antifungalni potencijal eteričnog ulja timijana ispitana je na pojedinačnim plodovima jagoda umjetno inkuliranom gljivicom *B. cinerea*. Dva razrjeđenja eteričnog ulja timijana, 200 µL / mL i 500 µL / mL, naneseni su na plodove jagoda i inkubirani tijekom 13 dana. Razrjeđenje 500 µL / mL učinkovito je suprimiralo rast gljiva kroz period od 7 dana, više nego dvostruko od kontrolne skupine. Na kraju pokusa jagode u tretmanu od 500 µL / mL su imale bolju čvrstoću i boju u usporedbi s kontrolom i tretmanom u koncentraciji 200 µL / mL (Gebel i Magurno, 2014).

Testirano je potencijalno fungicidno djelovanje eteričnih ulja timijana (*T. vulgaris*) i verbene (*V. officinalis*) protiv *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey, *Monilinia fructigena* (Honey) i *M. fructicola* u različitim koncentracijama u *in vivo* uvjetima. Najveće količine eteričnog ulja verbene (1000 µL / L) i timijana (500 µL / L) značajno su smanjile promjer smedih lezija. Manje količine eteričnog ulja verbene (500 µL / L) i timijana (250 µL / L) rezultirale su nižom učinkovitošću. Ovo istraživanje otkriva potencijalnu antifungalnu učinkovitost ispitanih eteričnih ulja na patogene plodova breskve nakon berbe (Elshafie i sur. 2015).

Inhibitorna svojstva pet različitih biljnih ekstrakata metvice, vrijeska, timijana, cimeta i lavande protiv uzročnika antraknoze (*C. gloeosporioides*) ispitana su u svrhu produljenja roka trajanja avokada. Antifungalna aktivnost testirana je *in vivo* umjetnom zarazom plodova avokada gljivom *C. gloeosporioides* te zatim primjenom eteričnih ulja u koncentracijama od 0, 0,05, 0,1 ili 0,2 %. Nakon četiri tjedna skladištenja eterična ulja vrijeska i timijana u količini 2000 µL / L pokazala su najjače antifungalno djelovanje smanjujući rast nekrotičnih lezija oko mjesta zaraze na plodu za 58 do 64 %. Ispitivanje čvrstoće plodova pokazalo je da je voće primjenom eteričnih ulja u količini 500-2000 µL / L 2,5 do 3,3 puta čvršće od ne tretirane kontrole. Druga testirana eterična ulja primijenjena u količini 500 µL / L nisu pomogla održavanju čvrstoće plodova avokada (Sarkhosh i sur. 2017).

Guillén i sur. (2007) su ustanovili sinergijski učinak karvakrola, timola i eugenola u formulacijama za kontrolu sive pljesni (*B. cinerea*) na grožđu.

Ispitan je utjecaj eteričnih ulja klinčićevca i cimeta na šest gljivica uzročnika propadanja grožđa: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Phomopsis viticola* i *Rhizopus stolonifer*, kao i sinergističko djelovanje ulja. Minimalne inhibitorne koncentracije primijenjenih eteričnih ulja na ispitivane gljive iznosile su 400 mg / mL. Optimalni omjeri ulja klinčićevca i cimeta koji su polučili najbolji sinergistički učinak iznosili su 3:7, 2:8 i 1:9 (Sukatta i sur. 2008).

Buduća istraživanja trebala bi utvrditi način djelovanja pojedinih komponenti eteričnih ulja i usmjeriti se na sustavno ispitivanje sinergijskog mehanizma djelovanja među različitim komponentama (Hyldgaard i sur. 2012).

Antifungalna aktivnost osam eteričnih ulja (bosiljak, cimet, eukaliptus, mandarina, origano, paprena metvica, čajevac i timijan) ispitana je na gljivice *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* i *Penicillium chrysogenum*. Najjače antifungalno djelovanje pokazala su eterična ulja origana i timijana koji su imali najniže MIC vrijednosti među svim testiranim gljivama. Antifungalna aktivnost ostalih eteričnih ulja mogla bi se na odgovarajući način svrstati u silaznu sekvencu cimeta, paprene metvice, čajevca i bosiljka. Eukaliptus i mandarina pokazali su najmanju učinkovitost jer nisu mogli inhibirati rast gljivica niti u količini 10.000 µL / L. Kombinirana formulacija origana i timijana rezultirala je sinergističkim učinkom, pokazujući povećanu učinkovitost prema *A. flavus*, *A. parasiticus* i *P. chrysogenum*. Smjesa paprene metvice i čajevca ima sinergistički učinak na *A. niger* (Hossain i sur. 2016).

Aguilar-González i sur. (2015) ispitivali su učinak eteričnih ulja klinčića i sjemena gorušice u *in vitro* i *in vivo* uvjetima na jagodama na *B. cinerea*. *In vitro* i *in vivo* minimalne inhibitorne koncentracije za eterično ulje klinčića iznosile su 92,56 µL / L zraka, a za eterično ulje gorušice 15,42 µL / L zraka. Za kombinaciju testiranih eteričnih ulja u *in vitro* uvjetima MIC je 46,28 µL / L zraka za eterično ulje klinčića i 1,93 µL / L zraka za eterično ulje gorušice, dok je u *in vivo* uvjetima MIC za eterično ulje klinčića 11,57 µL / L zraka i 1,93 µL / L zraka za eterično ulje gorušice.

Eguchi i sur. (2016) su ispitivali antifungalno djelovanje timijana (*T. vulgaris*) na *B. cinerea*. Hlapivi p-cimen inhibira rast micelija kod 0,50 µL / mL, dok je γ-terpinen imao inhibicijski učinak kod 0,05, 0,10, i 0,50 µL / mL.

Mohammadi i sur. (2016) i Ali i sur. (2015) navode da je učinak eteričnih ulja i u *in vitro* i u *in vivo* uvjetima bolji kada su ona inkapsulirana kao hitozin nano čestice (CSNPs) u usporedbi sa slobodnim uljima.

Kombinacija eteričnih ulja i njihovih komponenti može u budućnosti pronaći sve veću primjenu u kombinaciji s drugim biološkim sredstvima i inovativnim tretmanima zavisno o primijenjenim koncentracijama i vremenu primjene, osobito za kontrolu patogena voća i povrća nakon berbe (Elshafie i sur. 2015) te smanjiti štetni utjecaj sintetičkih fungicida na zdravlje ljudi i okoliš.

Bioaktivnost eteričnog ulja timijana kao i razvijene formulacije – koncentrata za emulziju (EC) testirana je u ogledima *in vitro* i *in vivo* na gljivicu *Monilinia fructigena*. *In vitro* ispitivanja su pokazala da i inicijalno eterično ulje i razvijena formulacija značajno inhibiraju porast micelija izolata gljivice *M. fructigena*. U *in vivo* ispitivanjima na inokuliranim plodovima jabuke pokazano je da je procesom formuliranja značajno smanjena isparljivost ulja s tretirane površine i postignuta inhibicija razvoja truleži ploda 64,7 - 72,1 % u usporedbi s kontrolom. Istraživači su razvili EC formulaciju eteričnog ulja timijana za uporabu u poljoprivredi (Tanović i sur. 2013).

U cilju očuvanja prirode i zaštite zdravlja ljudi alternativne metode zaštita bilja od fitopatogenih gljivica, iako nisu uvijek brze i efikasne kao tretiranje fungicidima, trebaju biti imperativ, a ne samo mogućnost.

### 3. Materijal i metode rada

U pokusu (*in vitro*) je ispitivan utjecaj deset eteričnih ulja i trinaest komponenti eteričnih ulja na porast micelija tri fitopatogene gljivice (*Fusarium oxysporum*, *Bortytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*).

#### 3.1. Eterična ulja

Za ispitivanje je korišteno deset eteričnih ulja: čajevac (*Melaleuca alternifolia*), anis (*Illicium verum*), limun (*Citrus limon*), paprena metvica (*Mentha x piperita L.*), komorač (*Foeniculum vulgare*), bosiljak ct metil-kavikol (*Ocimum basilicum*), eukaliptus globulus (*Eucalyptus globulus*), ružmarin ct cineol (*Rosmarinus officinalis*), lavanda prava (*Lavandula angustifolia* ssp. *angustifolia*) i timijan (*Thymus vulgaris*) (Slika 1).



Slika 1. Eterična ulja korištena u pokusu (foto: M. Palfi, 2016.)

Eterična ulja proizvedena su u Pranarôm International Ltd. (Belgija) i analizirana u laboratoriju Pranarôm upotrebom GC-MC (plinske kromatografije – masene spektrometrije) osim eteričnog ulja anisa koje je proizvedeno u Kemig d.o.o., Sesvete-Soblinec i analizirano u njihovom Kontrolno analitičkom laboratoriju.

Najzastupljenije komponente eteričnog ulja čajevca bile su terpinenol-4 40,63 %, gama terpinen 20,79 %, alfa pinen 2,49 %, alfa terpinen 9,58 %, eukaliptol + beta felandren 3,42 %, terpinolen 3,40 % i alfa terpineol 2,73 %.

Eterično ulje anisa sadržavalo je anetol 89,0 %, estragol 4,15 %, limonen 0,59 %, linalol 1,33 %, alfa-terpineol 0,18 %, cis-anetol 0,26 % i anisaldehid 0,31 %.

Limonen (66,73 %), beta pinen (11,2 7%) i gama terpinen + beta ocimen (9,13 % bile su najzastupljenije komponente eteričnog ulja limuna.

Eterično ulje paprene metvice sadržavalo je mentol 43,90 %, menton 20,91%, limonen 2,55 %, eukaliptol + beta felandren 5,78 %, mentofuran 3,57 %, izomenton 3,34 %, mentil acetat 4,25 % i neomentol 2,46 %.

Najzastupljenije komponente ulja komorača bile su anetol 87,06 % i limonen 2,84 %, a eteričnog ulja bosiljka estragol 71,49 % i linalol 20,03 %.

Eukaliptol (80,57 %), limonen (6,78 %), alfa pinen (3,82 %) i para cimen (3,27 %) su bile najviše zastupljene komponente eukaliptusa.

Eterično ulje ružmarina sadržavalo je eukaliptol (40,59 %), alfa pinen + alfa tujen (14,51 %), kamfen (4,29 %), beta pinen (3,16 %), limonen (2,44 %), kamfer (14,38 %), beta kariofilen (3,77 %), alfa terpineol (2,72 %) i borneol (3,13 %).

Najzastupljenije komponente ulja lavande prave bile su linalol 32,87 %, linalil acetat 33,25 %, cis beta ocimen 4,37 %, trans beta ocimen 2,27 %, beta kariofilen 3,46 % i terpinenol-4 2,93 %.

Eterično ulje timijana sadržavalo je timol 44,11 %, gama terpinen 6,9 4%, para cimen 20,88 %, linalol 4,07 % i karvakrol 3,56 %.

### **3.1.1. Primjenjeni volumeni eteričnih ulja**

Ispitivanje je provedeno s 8 koncentracija eteričnih ulja: 3 µL / 10 mL PDA, 5 µL / 10 mL PDA, 7 µL / 10 mL PDA, 9 µL / 10 mL PDA, 15 µL / 10 mL PDA, 30 µL / 10 mL PDA, 50 µL / 10 mL PDA i 70 µL / 10 mL PDA.

### **3.2. Komponente eteričnih ulja**

Za ispitivanje je korišteno trinaest komponenti eteričnih ulja: terpinenol-4, terpinen gama, anetol, estragol, d-limonen, pinen beta, menton, eukaliptol, pinen alfa plus, linalol, linalil acetat i timol (Slika 2). Komponente eteričnih ulja proizvedene su u DÜLLBERG Konzenta GmbH & Co. KG (Hamburg, Njemačka), a donirane su od tvrtke Kemig d.o.o.



Slika 2. Komponente eteričnih ulja korištene u pokusu (foto: M. Palfi, 2016.)

#### **3.2.1. Primijenjeni volumeni komponenti eteričnih ulja**

Najzastupljenije komponente svakog eteričnog ulja preračunate su prema postotnom udjelu za svaku ispitivanu koncentraciju eteričnog ulja. Zastupljenost ispitivanih komponenti bila je za eterično ulje čajevaca (terpinenol-4 40,63 %, terpinen gama 20,79 %), anisa (anetol 89,0 %, estragol 4,15 %), limuna (d-limonen 66,73 %, beta pinen 11,27 %.), paprene metvice (mentol 43,90 %, menton 20,91 %), komorača (anetol 87,06 %, d-limonen 2,84 %), bosiljka (estrugol 71,49 %, linalol 20,03 %), eukaliptusa (eukaliptol 80,57 %, d-limonen 6,78 %), ružmarina (eukaliptol 40,59 %, pinen alfa plus 14,51 %), lavande prave (linalol 32,87 %, linalil acetat 33,25 %) i timijana (timol 44,11 % ).

Komponente mentol i timol bile su u krutoj, a ostale komponente u tekućoj fazi. Komponente su se direktno miješale u tekuće agregatno stanje PDA podloge. Kod kod komponenti u krutoj fazi umjesto  $\mu\text{L}$  dodana je ekvivalentna količina u  $\mu\text{g}$ .

U kontrolnoj varijanti pokusa korištena je destilirana voda.

### **3.3. Fungicidi**

Za svaku fitopatogenu gljivicu ispitano je i djelovanje fungicida i to za *Fusarium oxysporum* Prosaro EC 250, za *Bortyitis cinerea* Switch 62,5 WG te za *Colletotrichum coccodes* Dithane M45 i Ortiva Top.

#### **3.3.1. Koncentracije fungicida**

Fungicid Prosaro EC 250 primijenjen je u četiri količine (75 mL / 20 L H<sub>2</sub>O, 75 mL / 40 L 1 H<sub>2</sub>O, 100 mL / 20 L H<sub>2</sub>O, 100 mL / 40 L H<sub>2</sub>O).

Fungicid Switch 62,5 WG primijenjen je u dvije količine (60 g / 100 L 1 H<sub>2</sub>O, 100 g / 100 L H<sub>2</sub>O), fungicid Dithane M45 u dvije količine (0,2 kg / 80 L H<sub>2</sub>O, 0,25 kg / 80 L H<sub>2</sub>O), dok je fungicid Ortiva Top primijenjen u četiri količine (0,8 L / 500 L H<sub>2</sub>O, 1 L / 500 L H<sub>2</sub>O, 0,8 L / 1000 L H<sub>2</sub>O, 1 L / 1000 L H<sub>2</sub>O).

Umjesto vode korištena je ista količina pripremljene PDA podloge. Količine fungicida određene su prema proizvođačkim uputama za svaki primijenjeni fungicid.

### **3.4. Fitopatogene gljive**

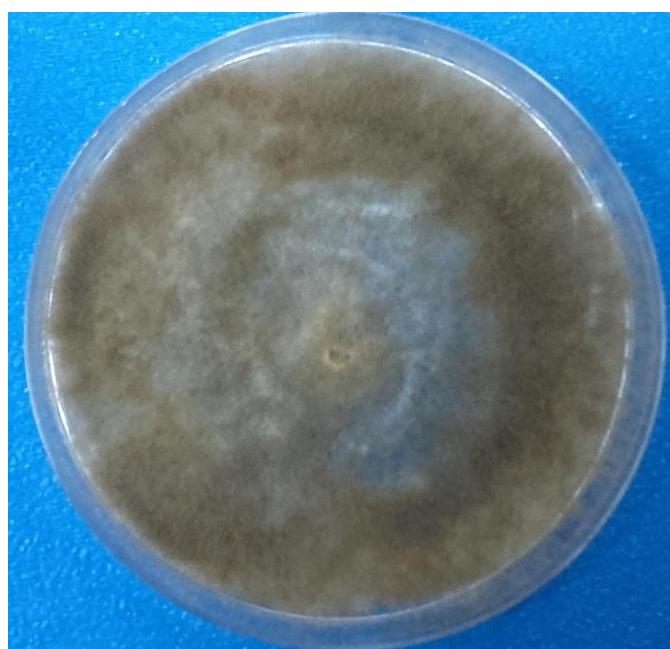
Utjecaj eteričnih ulja ispitivan je na porast micelija tri fitopatogene gljivice: *Fusarium oxysporum* (Slika 3), *Bortyitis cinerea* (Slika 4) i *Colletotrichum coccodes* (Slika 5). Fitopatogene gljivice su izolirane iz svježeg biljnog materijala rajčice. Izolacija iz biljnog materijala i determinacija gljivica provedena je u laboratoriju Katedre za fitopatologiju Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, a sva ostala istraživanja u laboratorijima Istraživanja i razvoja, Podravka d.d., Koprivnica.

#### **3.4.1. Izolacija fitopatogenih gljivica iz biljnog materijala**

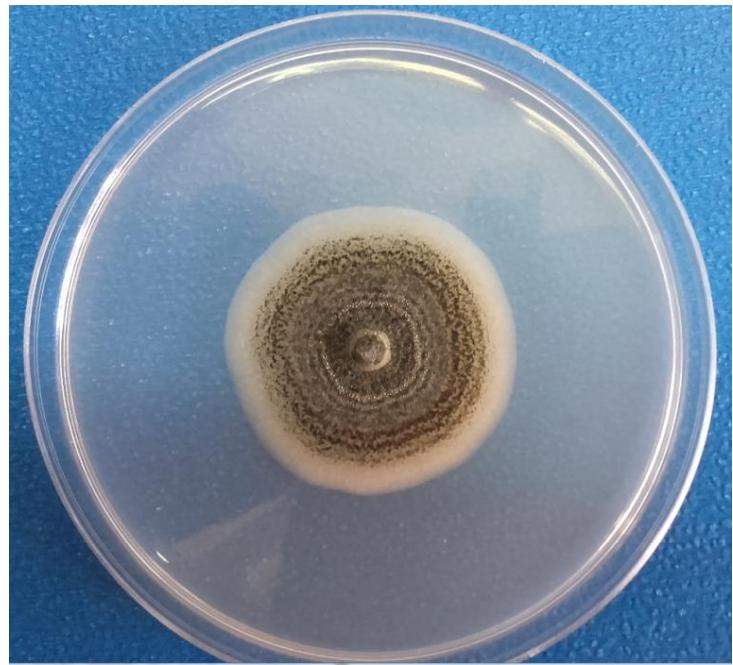
Izolacija fitopatogenih gljivica *Fusarium oxysporum*, *Bortyitis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* obavljena je iz svježeg biljnog materijala rajčice. Komadi biljnog tkiva zaraženi fitopatogenim gljivicama isprani su tekućom vodom i dezinficirani u 70% etanolu (1 min.) te tri puta isprani destiliranom vodom. Biljni dijelovi su stavljeni na PDA podlogu i držani su u termostat komori na temperaturi 22°C i režimu svjetla 12 h svjetlo / 12 h tama. Razvijeni micelij nacijspljen je na nove PDA podloge kako bi se dobole čiste kulture za daljnje istraživanje.



Slika 3. Fitopatogena gljivica *Fusarium oxysporum* korištena u pokusu (foto: M. Palfi, 2016.)



Slika 4. Fitopatogena gljivica *Botryotinia cinerea* korištena u pokusu (foto: M. Palfi, 2016.)



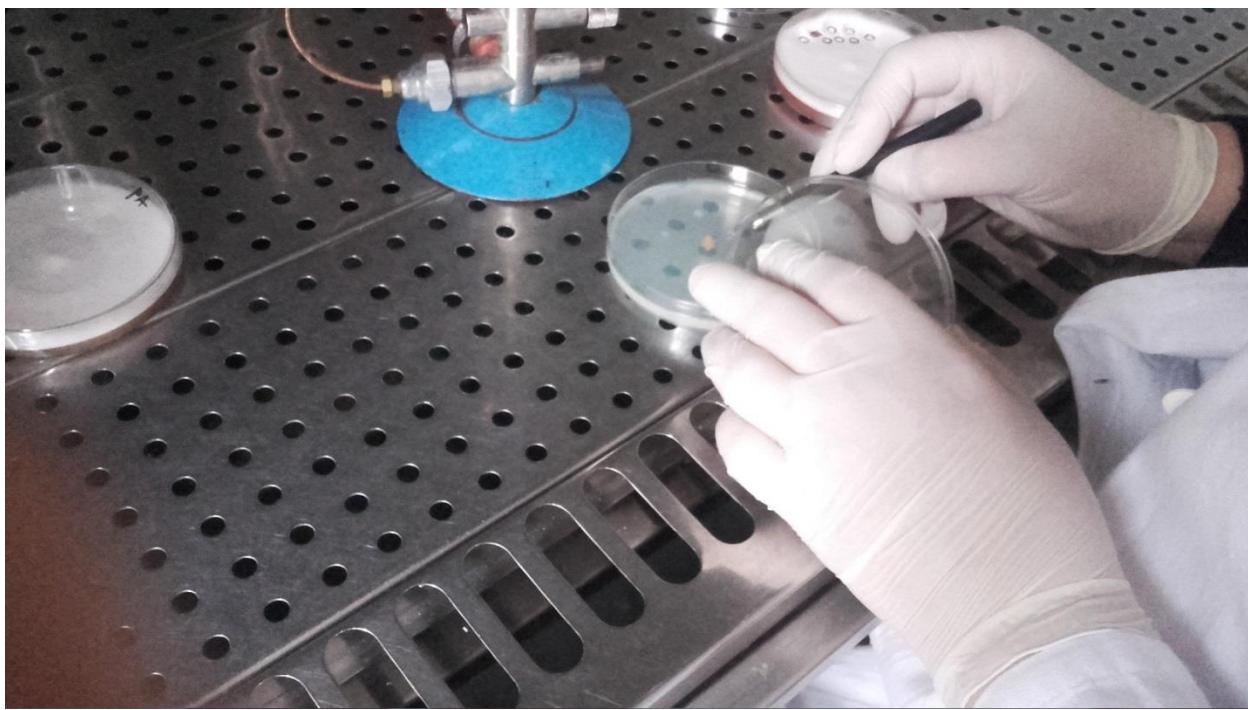
Slika 5. Fitopatogena gljivica *Colletotrichum coccodes* korištena u pokusu (foto: M. Palfi, 2016.)

### 3.5. Pomoćne komponente

U pokusu su korištene PDA (krumpir dekstrozni agar) podloge proizvođača Merck KGaA, (Darmstadt, Njemačka) i pomoćno sredstvo Polysorbatum 80 (Tween 80) proizveden u Kemig d.o.o., Donja Zelina. Koncentracija Tween-a 80 iznosila je 0,05 %.

### 3.6. Postupak

U pokusu su korištene Petrijeve zdjelice promjera 90 mm i PDA (krumpir dektrozni agar) podloga. U svaku Petrijevu zdjelicu promjera 9 cm razliveno je 10 mL PDA podloge sterilizirane u autoklavu u koje je dodano pomoćno sredstvo Tween 80 u koncentraciji od 0,05 % i planom rada predviđene količine eteričnih ulja i njihovih komponenti. U sredinu svake Petrijeve zdjelice postavljeni su diskovi micelija fitopatogenih gljivica promjera 4 mm stari 8 dana (Slika 6).



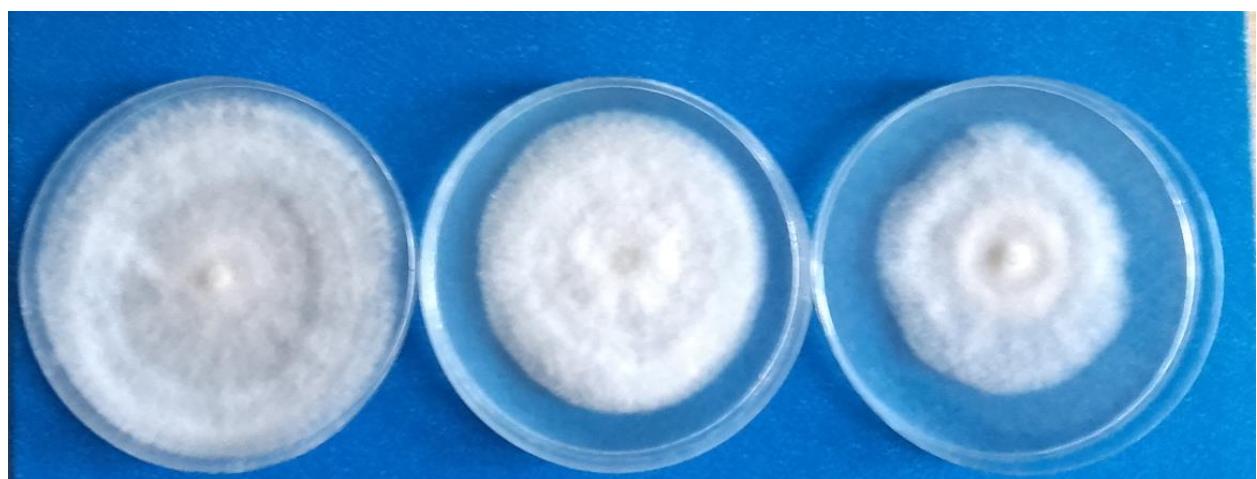
Slika 6. Stavljanje kružnih isječaka fitopatogenih gljivica u Petrijevu zdjelicu (foto: M. Palfi, 2016.)

Pokus je proveden za svaki volumen eteričnih ulja i njihovih komponenti, fungicida i za kontrolnu varijantu (destilirana voda) u četiri ponavljanja. Postupak je proveden u komori za rad u čistom (mikrobiološki zaštitni kabinet KTB – NS II) (Slika 6). Nakon inokulacije, Petrijeve zdjelice su stavljenе na inkubaciju u termostat, na temperaturu 20°C i svjetlosni režim 12 h svjetlo / 12 h tama (Slika 7).

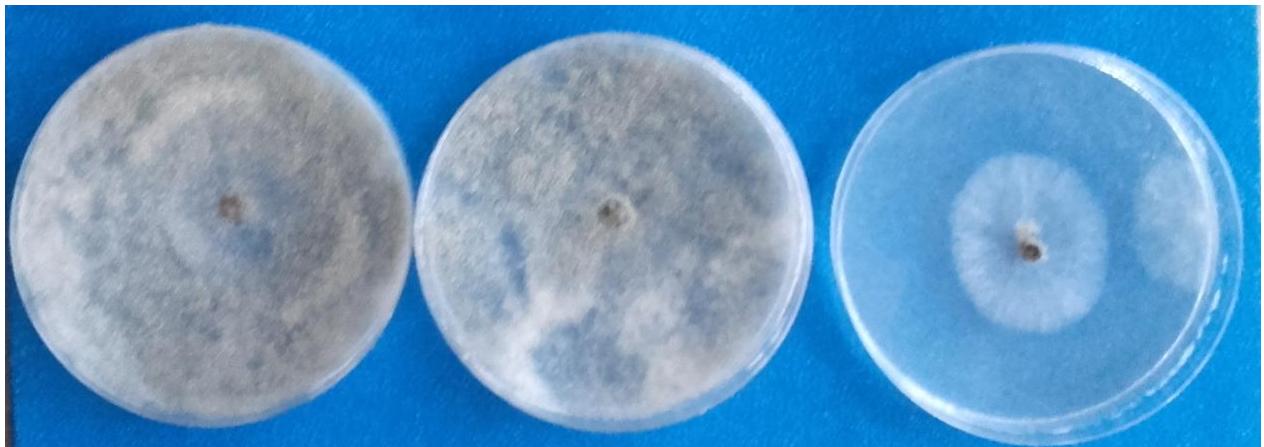


Slika 7. Inkubacija fitopatogenih gljivica u termostat komori (foto: M. Palfi, 2016.)

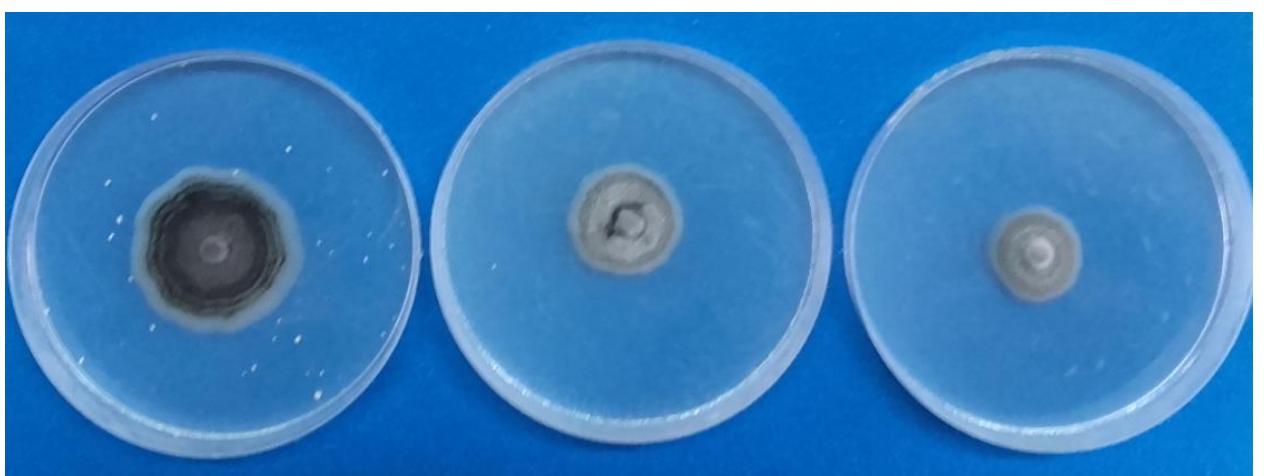
Mjerenja su provedena četvrtog i osmog dana za gljivice *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea*, a za *Colletotrichum coccodes* četvrtog, osmog, dvanaestog i petnaestog dana od početka inkubacije. Mjeren je promjer rasta micelija svake fitopatogene gljivice i izražen je u mm (Slika 8, 9, 10).



Slika 8. Promjeri rasta micelija *Fusarium oxysporum* (foto: M. Palfi, 2016.)



Slika 9. Promjeri rasta micelija *Botrytis cinerea* (foto: M. Palfi, 2016.)



Slika 10. Promjeri rasta micelija *Colletotrichum coccodes* (foto: M. Palfi, 2016.)

### 3.7. Statistička obrada podataka

Analiza podataka i izrada grafikona obavljena je uporabom programa GraphPad Prism verzija 7 (GraphPad Prism). Podaci su izraženi kao aritmetička sredina, standardna devijacija te 95 postotne granice pouzdanosti za aritmetičku sredinu (Rowe, 2016). Za usporedbu među skupinama korišten je *t*-test za nezavisne uzorke, jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) te Tukey test višestruke usporedbe (Rowe, 2016). Svi primjenjeni testovi bili su dvosmjerni. P vrijednosti manje ili jednake 0,05 smatrane su statistički signifikantnima. IC<sub>50</sub> je izračunavan kao koncentracija ispitivanog spoja koja smanjuje rast micelija na pola između bazalnog i maksimalnog odgovora (GraphPad Prism).

## **4. Rezultati**

Rezultati pokusa opisani su sljedećim redoslijedom:

1. Odnos učinka primijenjenih doza fungicida na rast micelija s promjerom rasta micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* u kontroli.
2. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti s promjerom rasta micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*.
3. Vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*.

### **4.1. Odnos primijenjenih doza fungicida u usporedbi s kontrolom**

Uspoređivan je odnos promjera rasta micelija, izražen u milimetrima, za tri fitopatogene gljivice: *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*. Gljivice su uzgojene na PDA podlozi u koju su dodani fungicidi registrirani za suzbijanje istraživanih gljivica. Uspoređen je promjer rasta micelija iz varijanti pokusa s primjenom fungicida i kontrolne varijante bez primjene fungicida.

Rezultati, prikazani u Tablici 1, pokazuju kako fungicid Prosaro EC 250 u svim primijenjenim dozama potpuno (100 %) suzbija rast gljivice *F. oxysporum* četvrtog i osmog dana nakon nacjepljivanja micelija. Kod kontrole je izmjeren rast micelija  $68 \pm 0,0$  mm četvrti dan nakon inokulacije, dok je osmi dan promjer rasta micelija iznosio  $90 \pm 0,0$  mm.

Fungicid Switch 62,5 WG četvrtog dana ispitivanja potpuno (100 %) je inhibirao rast gljivice *B. cinerea*, dok je osmi dan nakon inokulacije promjer rasta micelija iznosio  $24 \pm 3,1$  mm odnosno  $23 \pm 2,9$  mm, ovisno o primijenenoj dozi. Kod kontrole izmjeren je maksimalni promjer micelija  $90 \pm 0,0$  mm već četvrti dan nakon inokulacije.

Kod ispitivanja djelovanja fungicida na *C. coccodes* niti kod jednog fungicida nije utvrđeno potpuno (100 %) suzbijanje rasta micelija. Promjer rasta micelija *C. coccodes* primjenom fungicida Dithane M45 iznosio je od  $8 \pm 0,0$  mm četvrti dan do  $31 \pm 1,0$  mm petnaesti dan nakon inokulacije. Kod fungicida Ortiva Top izmjerene vrijednosti promjera micelija bile su od  $6 \pm 0,0$  mm četvrti dan do  $11 \pm 0,6$  mm petnaesti dan nakon inokulacije micelija. U kontroli promjer micelija se kretao od  $18 \pm 0,5$  mm četvrtog dana do  $55 \pm 0,5$  mm petnaestog dana nakon inokulacije.

Rezultati prikazani u tablici 1 su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD ( $n = 4$ ).

**Tablica 1.** Odnos primijenjenih doza fungicida (g / L ili mL / L) na promjer rasta micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* (mm) u usporedbi s kontrolom.

Fitopatogene gljivice	Fungicid	Doza	Promjer rasta micelija (mm)			
			4. dan	8. dan	12. dan	15. dan
<i>Fusarium oxysporum</i>	Prosaro EC 250	75 mL / 20 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	0±0,0		
		75 mL /40 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	0±0,0		
		100 mL /20 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	0±0,0		
		100 mL /40 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	0±0,0		
		Kontrola	68±0,0	90±0,0		
<i>Botrytis cinerea</i>	Switch 62,5 WG	60 g / 100 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	24±3,1		
		100 g / 100 L H <sub>2</sub> O	0±0,0	23±2,9		
		Kontrola	90±0,0	90±0,0		
<i>Colletotrichum coccodes</i>	Dithane M45	0,2 kg/80 L H <sub>2</sub> O	8±0,0	10±1,0	22±0,6	31±1,0
		0,25 kg/80 L H <sub>2</sub> O	8±0,0	12±0,5	23±0,6	31±0,5
		Kontrola	18±0,5	28±0,5	43±0,8	55±0,5
	Ortiva Top	0,8 L / 500 L H <sub>2</sub> O	6±0,0	7±0,0	9±0,0	10±0,5
		1 L /500 L H <sub>2</sub> O	6±0,0	7±0,5	10±0,6	11±0,6
		0,8 L /1000 L H <sub>2</sub> O	6±0,0	7±0,5	9±0,5	10±0,5
		1 L /1000 L H <sub>2</sub> O	6±0,0	7±0,5	9±0,0	10±0,0
		Kontrola	18±0,5	28±0,5	43±0,8	55±0,5

## **4.2. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

U radu je uspoređen odnos rasta micelija (promjer u mm) i primijenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti za tri fitopatogene gljivice: *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*. Gljivice su uzgojene na PDA podlozi u koju su dodani različiti volumeni eteričnih ulja i njihovih komponenti.

### **4.2.1. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera rasta micelija *Fusarium oxysporum***

#### **Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Fusarium oxysporum***

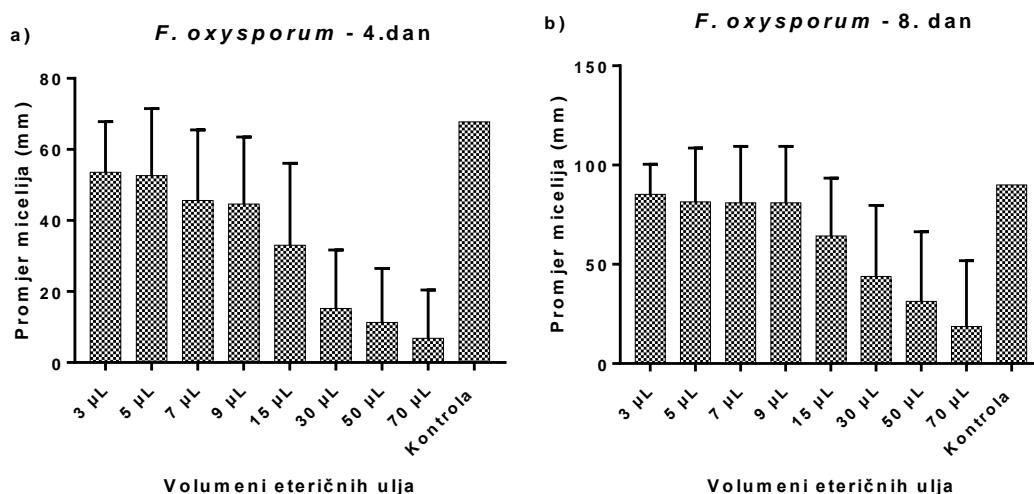
Najslabije djelovanje eteričnih ulja utvrđeno je kod primjene ulja u volumenu 3 µL / 10 mL PDA, dok je očekivano najslabiji porast micelija utvrđen kod primjene ulja u volumenu 70 µL / 10 mL PDA (Slika 11). Potpunu inhibiciju rasta micelija pokazalo je eterično ulje timijana u volumenu od 7 µL / 10 mL PDA, zatim slijedi eterično ulje komorača (15 µL / 10 mL PDA) te paprene metvice i anisa (30 µL / 10 mL PDA) (Tablica A1). Eterično ulje čajevca i lavande prave potpuno je inhibiralo rast micelija u volumenu 50 µL / 10 mL PDA, a eterično ulje bosiljka u volumenu 70 µL / 10 mL PDA. Eterična ulja ružmarina, limuna i eukaliptusa nisu inhibirala rast micelija niti u najvišem primijenjenom volumenu. Najboljim komponentama pokazale su se anetol iz eteričnog ulja anisa i terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca koje su potpuno inhibirale rast micelija u volumenu 30 µL / 10 mL PDA, odnosno 50 µL / 10 mL PDA. Ostale komponente eteričnih ulja nisu inhibirale rast micelija niti u jednom volumenu (Tablica A1).

Rezultati su pokazali da su eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa, čajevca, lavande prave i bosiljka, primjenom u određenim volumenima, imala isti učinak u odnosu na kontrolu kao fungicid Prosaro EC 250 koji je potpuno inhibirao rast micelija. Isti učinak kao i fungicid Prosaro EC 250 u odnosu na kontrolu imale su, u određenim volumenima, i anetol glavna komponenta eteričnog ulja anisa te terpinenol-4 glavna komponenta čajevca.

#### **Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Fusarium oxysporum***

Rezultati mjerenja rasta *F. oxysporum* pokazuju smanjenje promjera micelija s povećanjem volumena eteričnih ulja u odnosu na kontrolu (Slika 11). Najbolje djelovanje je utvrđeno u volumenu 70 µL / 10 mL PDA. Eterično ulje timijana je u potpunosti inhibiralo rast micelija u volumenu 7 µL / 10 mL PDA, paprena metvica u volumenu 30 µL / 10 mL PDA te čajevac i anis u volumenu 50 µL / 10 mL PDA (Tablica A2). Eterična ulja lavande prave, bosiljka i komorača u potpunosti su inhibirale rast micelija u volumenu 70 µL / 10 mL PDA. Eterična ulja ružmarina, limuna i eukaliptusa nisu potpuno inhibirala rast micelija niti u jednom volumenu. Komponente anetol i terpinenol-4 potpuno su inhibirale rast micelija u volumenu 50 µL / 10 mL PDA. Ostale komponente eteričnih ulja nisu potpuno inhibirale rast micelija niti kod jednog primijenjenog volumena (Tablica A2).

Isti učinak u odnosu na kontrolu kao fungicid Prosaro EC 250 u određenom volumenu imala su eterična ulja timijana, paprene metvice, čajevca, anisa, komorača, bosiljka i lavande prave i komponente anetol iz eteričnog ulja anisa te terpinenol-4 glavna komponenta čajevca.



**Slika 11.** Učinak primjenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija *Fusarium oxysporum* četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.

#### 4.2.2. Odnos primjenjenih volumena eteričnih ulja i rasta micelija *Botrytis cinerea*

##### Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Botrytis cinerea*

Mjerenjem promjera micelija četiri dana nakon inokulacije utvrđeno je najslabije djelovanje ulja kod primjene najmanjih volumena, a najbolji učinak kod primjene ulja  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA (Slika 12). Potpunu inhibiciju rasta micelija imalo je eterično ulje timijana u volumenu  $9 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA, komorača i paprene metvice pri  $50 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA te čajevca, bosiljka i ružmarina pri  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA (Tablica A3). Eterična ulja eukaliptusa i limuna nisu uopće smanjila rast micelija niti pri najvećem volumenu. Potpuna inhibicija rasta micelija od komponenata utvrđena je samo za anetol iz eteričnog ulja anisa u volumenu  $50 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA i terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca u volumenu  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA.

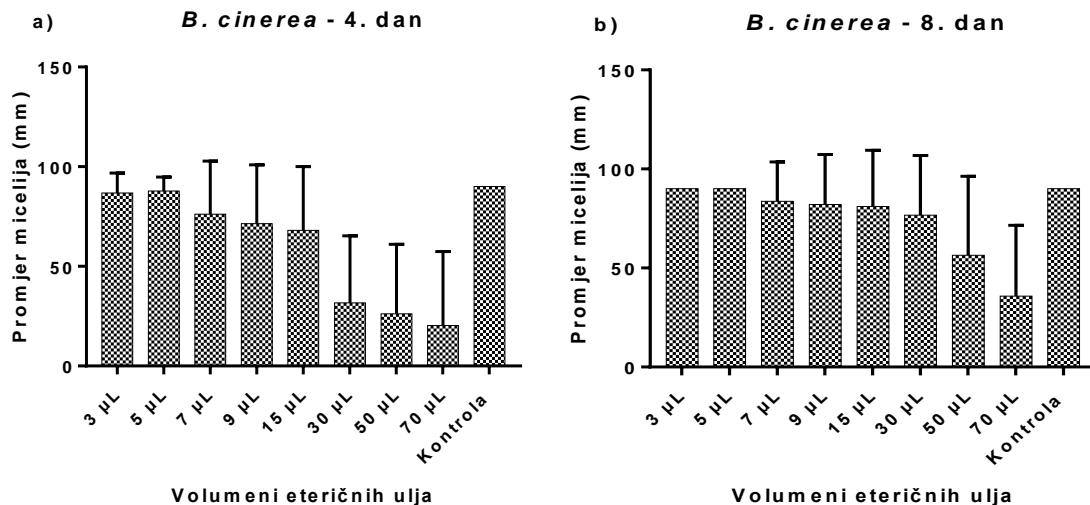
Rezultati su pokazali da su eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, čajevca, bosiljka i lavande prave te komponenti anetol i terpinenol-4 u određenim volumenima, imali isti učinak u odnosu na kontrolu kao i fungicid Switch 62,5 WG.

##### Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Botrytis cinerea*

Eterična ulja u volumenima  $3 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA i  $5 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA nisu uvjetovala smanjenje rasta micelija *B. cinerea* u odnosu na kontrolu. Smanjenje rasta micelija je najveće u primjenjenom volumenu  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA (Slika 2). Potpunu inhibiciju uvjetovalo je eterično ulje timijana u volumenu  $15 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA, paprene metvice u volumenu  $50 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA te komorača i bosiljka u volumenu  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA (Tablica A4). Eterična ulja eukaliptusa i limuna nisu u potpunosti inhibirala rast micelija niti pri najvećem primjenjenom volumenu. Komponente anetol iz eteričnog ulja anisa u volumenu  $50 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA i terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca pri  $70 \mu\text{L} / 10 \text{ mL}$  PDA potpuno su inhibirale rast micelija.

Ostale komponente nisu potpuno inhibirale rast micelija *B. cinerea* niti u volumenu 70  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA.

Eterična ulja timijana, paprene metvice, komorača i bosiljka te komponente terpineol-4 iz čajevca i anetol iz anisa primjenom u određenom volumenu potpuno inhibiraju rast micelija *B. cinerea*. U usporedbi s djelovanjem fungicida Switch 62,5 WG u određenim volumenima imaju bolje djelovanje na smanjenje rasta micelija *B. cinerea*.



**Slika 12.** Učinak primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija *Botrytis cinerea* četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.

#### 4.2.3. Odnos primijenjenih volumena eteričnih ulja i promjera micelija *Colletotrichum coccodes*

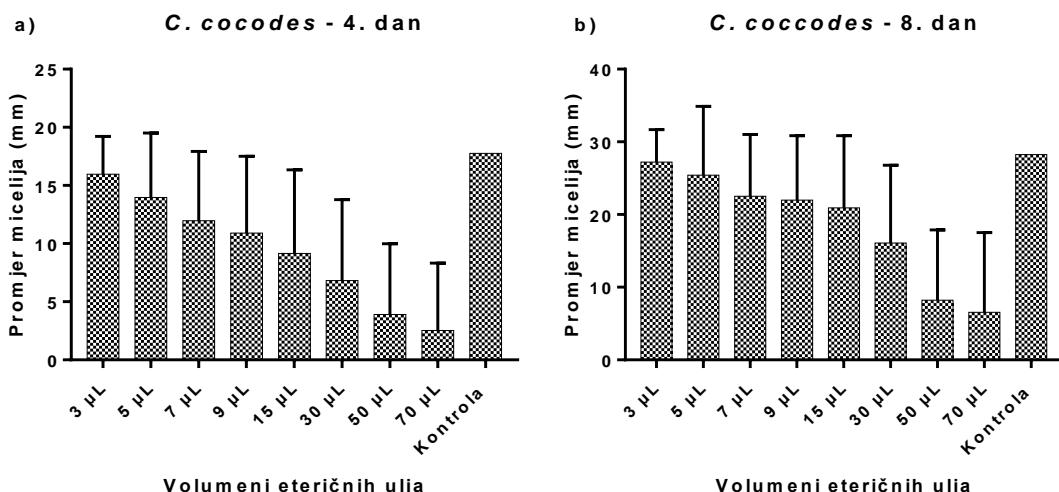
##### Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes*

Mjerenjem promjera micelija gljive *C. coccodes* utvrđeno je da se povećanjem primijenjenih volumena eteričnih ulja smanjuje promjer micelija (Slika 13). Eterično ulje timijana je već u volumenu 5  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA potpuno zaustavilo rast micelija, dok je eterično ulje anisa potpuno zaustavilo rast micelija u volumenu 9  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA (Tablica A5). Potpunu inhibiciju rasta micelija pokazala su i eterična ulja paprene metvice u volumenu 15  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA, komorača u volumenu 30  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA te lavande prave u volumenu 50  $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA. Primjenom eteričnih ulja čajevca, bosiljka i ružmarina u najvećem volumenu (70  $\mu\text{L}$  / 10 mL) utvrđena je potpuna inhibicija rasta micelija. Od ispitivanih komponenata samo su timol iz eteričnog ulja timijana, terpinenol-4 iz čajevca i anetol iz anisa potpuno inhibirali rast micelija *C. coccodes*.

Rezultati pokazuju da eterična ulja timijana, anisa, paprene metvice, komorača, lavande prave, čajevca, bosiljka i ružmarina te komponente terpinenol-4, anetol i timol, kod određenih volumena, imaju bolje djelovanje na inhibiciju rasta micelija *C. coccodes* nego ispitivani fungicidi Dithane M45 i Ortiva Top u svim primijenjenim dozama.

### Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes*

Osmi dan nakon inokulacije najmanji porast micelija imala su eterična ulja u volumenu 70 µL / 10 mL PDA (Slika 3). Eterično ulje timijana potpuno je inhibiralo rast micelija *C. coccodes* u volumenu 5 µL / 10 mL PDA, komorača u volumenu 30 µL / 10 mL PDA, a anisa, paprene metvice i lavande prave u volumenu 50 µL / 10 mL PDA (Tablica A6). Rast micelija u potpunosti su inhibirala eterična ulja čajevca i bosiljka kod najvećeg primijenjenog volumena. Od komponenata samo su terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca i anetol iz anisa potpuno inhibirali rast micelija. Ova eterična ulja i njihove komponente u tim volumenima imala su bolje djelovanje u usporedbi s fungicidima Dithane M45 i Ortiva Top. Iako timol nije u potpunosti inhibirao rast micelija *C. coccodes*, promjer rasta micelija pri najvećem volumenu manji je u usporedbi s fungicidima.



**Slika 13.** Učinak primijenjenih volumena (µL / 10 mL) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija *Colletotrichum coccodes* četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.

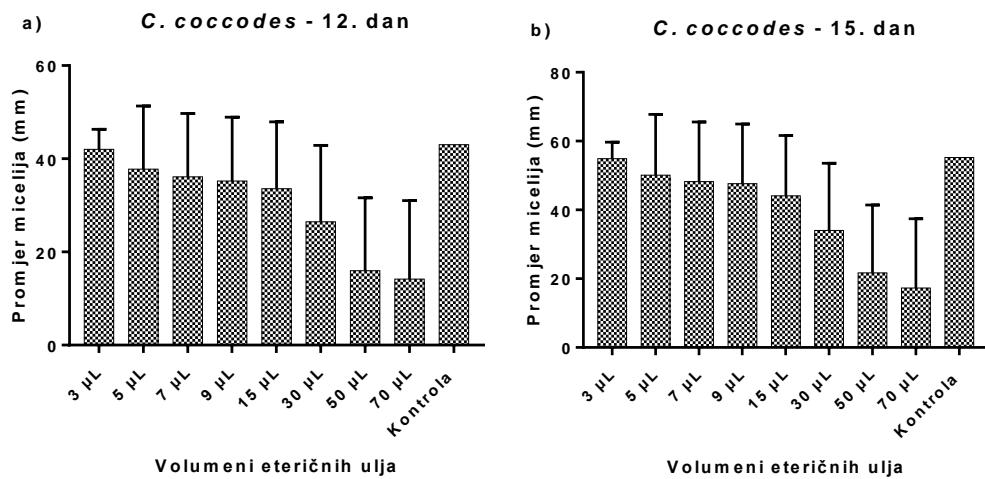
### Dvanaesti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes*

Rezultati mjerjenja promjera micelija *C. coccodes* dvanaest dana nakon inokulacije pokazali su smanjenje rasta ovisno o povećanju volumena eteričnih ulja u odnosu na kontrolu (Slika 14). Eterična ulja timijana u volumenu 5 µL / 10 mL PDA, komorača u volumenu 30 µL / 10 mL PDA, paprene metvice i anisa u volumenu 50 µL / 10 mL PDA, bosiljka 70 µL / 10 mL PDA i dvanaesti dan potpuno inhibiraju rast micelija istraživane gljivice (Tablica A7). Komponente terpinenol-4 iz čajevca i anetol iz anisa potpuno su inhibirale rast micelija u volumenu 70 µL / 10 mL PDA. Komponenta timol u volumenu 70 µL / 10 mL PDA imala je promjer micelija manji od fungicida Dithane M45 i Ortiva Top u svim primijenjenim dozama. Rezultati mjerjenja pokazuju da su eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa i bosiljka te komponente anetol, terpinenol-4 i timol, primijenjena u određenim volumenima, polučila bolji učinak od fungicida Dithane M45 i Ortiva Top u svim primijenjenim dozama.

### Petnaesti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes*

Petnaest dana od inokulacije najveći promjer micelija izmjerен je u najmanjem primijenjenom volumenu svih eteričnih ulja (3 µL / 10 mL PDA), a najmanji promjer u volumenu 70 µL / 10

mL PDA (Slika 14). Eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa i bosiljka u potpunosti su inhibirala rast micelija *C. coccodes* pri istim volumenima kao i dvanaesti dan nakon inokulacije (Tablica A8). Komponenta terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca potpuno je inhibirala rast micelija *C. coccodes* dok je kod timola i anetola izmјeren manji promjer micelija nego kod fungicida Dithane M45 i Ortiva Top u svim dozama. Rezultati mjerena su pokazali da eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa i bosiljka te komponente terpinenol-4, anetol i timol djeluju u određenim volumenima bolje od fungicida Dithane M45 i Ortiva Top u svim primjenjenim dozama.



**Slika 14.** Učinak primjenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija *Colletotrichum coccodes* dvanaesti (a) i petnaesti (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.

#### 4.3. Procijenjene vrijednosti parametra $\text{IC}_{50}$ za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*

Na temelju veličine promjera micelija za svako eterično ulje i za njihove komponente u svim primjenjenim volumenima izračunate su vrijednosti parametra  $\text{IC}_{50}$  (95 % CI) za tri fitopatogene gljivice: *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*.

##### 4.3.1. Procijenjene vrijednosti parametra $\text{IC}_{50}$ za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija *Fusarium oxysporum*

Rezultati (Tablica 2) pokazuju usporedbu izračunatih vrijednosti parametra  $\text{IC}_{50}$  (95 % CI) za eterična ulja i njihove komponente za *F.oxysporum*. Slike 15 i 16 pokazuju usporedbu  $\text{IC}_{50}$  eteričnih ulja četvrtog i osmog dana nakon inokulacije.

##### Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Fusarium oxysporum*

Najmanja vrijednost  $\text{IC}_{50}$  (95 % CI) bila je kod eteričnog ulja timijana i iznosila je 0,36 (0,24 - 0,48), a kod njegove glavne komponente timola 3,05 (2,46 - 3,73). Za eterično ulja komorača  $\text{IC}_{50}$  iznosio je 2,78 (2,28 - 3,36), a za anis 3,79 (3,19 - 4,48). Anetol, kao glavna komponenta u eteričnom ulju anisa, ima  $\text{IC}_{50}$  3,04 (2,56 - 3,58), a u eteričnom ulju komorača 5,84 (4,22 - 8,00). Najveći  $\text{IC}_{50}$  imaju eterično ulje eukaliptusa 18,7 (14,13 - 24,89) i ružmarina 12,42 (10,54 - 14,64). Od komponenti najveći  $\text{IC}_{50}$  ima estragol kao glavna komponenta bosiljka 41,62 (34,14 -

51,06), pinen beta iz limuna 35,93 (22,87 - 57,73) te d-limonen iz komorača 34,71 (18,12 - 68,65).

**Tablica 2.** Procijenjena vrijednost parametra **IC<sub>50</sub>** za eterična ulja i njihove komponente četvrti i osmi dan nakon nacjepljivanja micelija *Fusarium oxysporum*.

<b>Eterična ulja i njihove komponente</b>	<b>4.dan</b>	<b>8.dan</b>
	<b>IC<sub>50</sub> (95 % CI)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (95 % CI)</b>
<i>Melaleuca alternifolia</i>	6,94 (5,76 - 8,33)	21,31 (16,04 - 28,44)
· terpinenol-4	6,56 (5,30 - 8,08)	19,14 (14,55 - 25,27)
· terpinen gama	25,53 (16,33 - 40,56)	NA
<i>Ilicum verum</i>	3,79 (3,19 - 4,48)	15,71 (11,57 - 21,39)
· anetol	3,04 (2,56 - 3,58)	14,16 (11,07 - 18,14)
· estragol	34,07 (21,06 - 56,40)	NA
<i>Citrus limon</i>	8,63 (6,55 - 11,34)	145,30 (124,40 - 171,90)
· d-limonen	17,66 (14,36 - 21,78)	126,00 (104,80 - 154,00)
· pinen beta	35,93 (22,87 - 57,73)	NA
<i>Mentha x piperita</i>	5,79 (4,81 - 6,95)	16,55 (11,85 - 23,18)
· mentol	19,18 (15,80 - 23,34)	NA
· menton	28,66 (20,01 - 41,57)	NA
<i>Foeniculum vulgare</i>	2,78 (2,28 - 3,36)	15,84 (11,83 - 21,27)
· anetol	5,84 (4,22 - 8,00)	NA
· d-limonen	34,71 (18,12 - 68,65)	NA
<i>Ocimum basilicum</i>	7,72 (6,45 - 9,21)	38,52 (29,41 - 50,98)
estragol	41,62 (34,14 - 51,06)	NA
· linalol	27,81 (18,49 - 42,45)	NA
<i>Eucalyptus globulus</i>	18,7 (14,13 - 24,89)	NA
· eukaliptol	22,76 (15,36 - 34,13)	NA
· d-limonen	19,67 (12,54 - 31,32)	NA
<i>Rosmarinus officinalis</i>	12,42 (10,54 - 14,64)	55,19 (47,99 - 63,76)
· eukaliptol	29,00 (16,89 - 50,85)	NA
· pinen alfa plus	27,83 (17,14 - 45,98)	NA
<i>Lavandula angustifolia</i>	7,63 (6,40 - 9,06)	32,25 (24,78 - 42,31)
· linalol	19,77 (11,76 - 34)	NA
· linalil acetat	32,65 (19,37 - 56,4)	NA
<i>Thymus vulgaris</i>	0,36 (0,24 - 0,48)	0,85 (0,54 - 1,21)
· timol	3,05 (2,46 - 3,73)	7,14 (6,05 - 8,42)

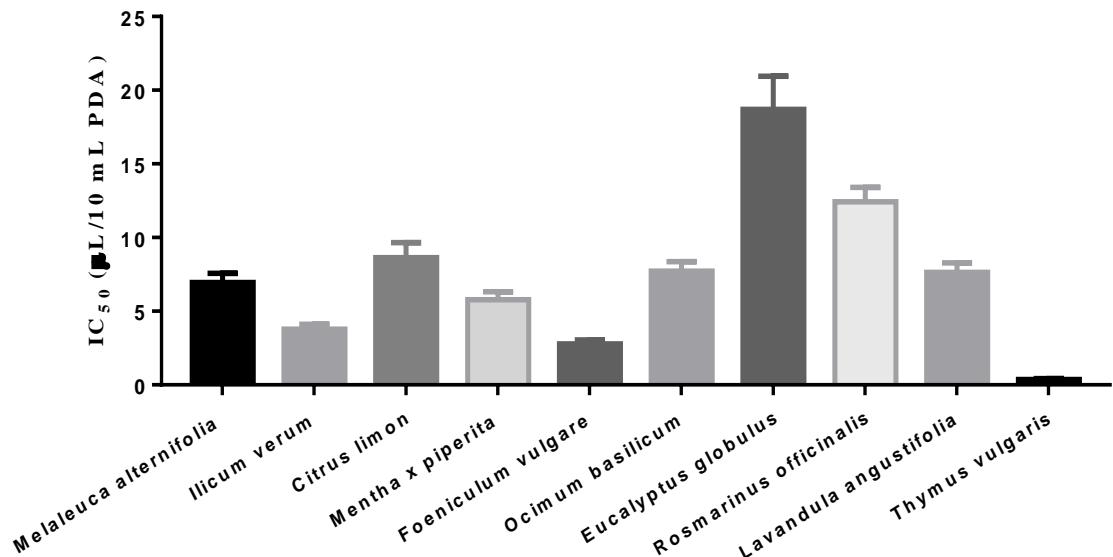
Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina te kao **95 %**-tna granica aritmetičke sredine za **IC<sub>50</sub>** (n = 32).

#### **Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Fusarium oxysporum***

Najmanju vrijednost IC<sub>50</sub> (95 % CI) ima, kao i 4. dan, eterično ulje timijana 0,85 (0,54 - 1,21). Za njim slijede eterično ulje anisa 15,71 (11,57 - 21,39), komorača 15,84 (11,83 - 21,27) i paprene metvice 16,55 (11,85 - 23,18). Od komponenti najmanji IC<sub>50</sub> ima timol 7,14 (6,05 - 8,42) koji je glavna komponenta eteričnog ulja timijana. Anetol, glavna komponenta eteričnog ulja anisa, ima manji IC<sub>50</sub> (95 % CI) nego eterično ulje anisa i iznosi 14,16 (11,07 - 18,14). IC<sub>50</sub> za terpinenol-4, kao glavne komponente čajevca, iznosi 19,14 (14,55 - 25,27), a za eterično ulje

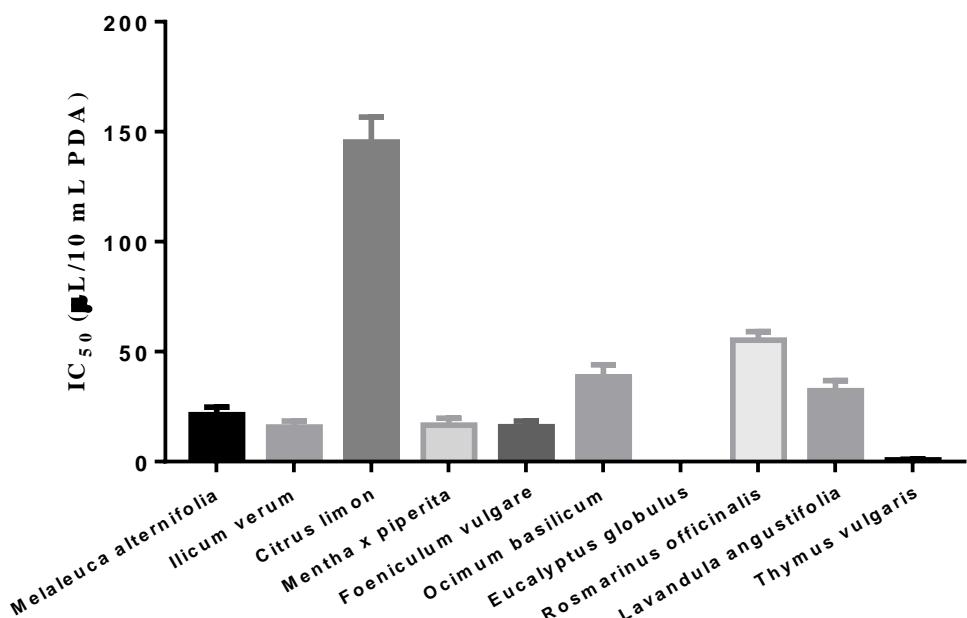
čajevca iznosi 21,31 (16,04 - 28,44). Isto tako, d-limonen, koji je glavna komponenta eteričnog ulja limuna, ima  $IC_{50}$  126,00 (104,80 - 154,00), dok za eterično ulje limuna iznosi 145,30 (124,40 - 171,90).

4. dan - *F. oxysporum*



Slika 15. Usporedba parametra  $IC_{50}$  eteričnih ulja po učinku na rast *Fusarium oxysporum* - četvrti dan.

8. dan - *F. oxysporum*



Slika 16. Usporedba parametra  $IC_{50}$  eteričnih ulja po učinku na rast *Fusarium oxysporum* - osmi dan.

#### **4.3.2. Procijenjene vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija *Botrytis cinerea***

Rezultati, prikazani u Tablici 3, pokazuju usporedbu vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente za *B. cinerea*. Slike 17 i 18 pokazuju usporedbu eteričnih ulja prema vrijednostima parametra IC<sub>50</sub> četvrtog i osmog dana nakon inokulacije.

##### **Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Botrytis cinerea***

Rezultati pokazuju kako je četvrtog dana nakon inokulacije najmanji IC<sub>50</sub> (95 % CI) imalo eterično ulje timijana 2,63 (1,77 - 3,72). Eterično ulje anisa ima 9,41 (7,48 - 11,82), eterično ulje paprene metvice 13,42 (9,82 - 18,37), a eterično ulje komorača 13,82 (10,28 - 18,59). Glavna komponenta eteričnog ulja anisa anetol te terpineol-4 iz eteričnog ulja čajevca imaju manji IC<sub>50</sub>.

##### **Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Botrytis cinerea***

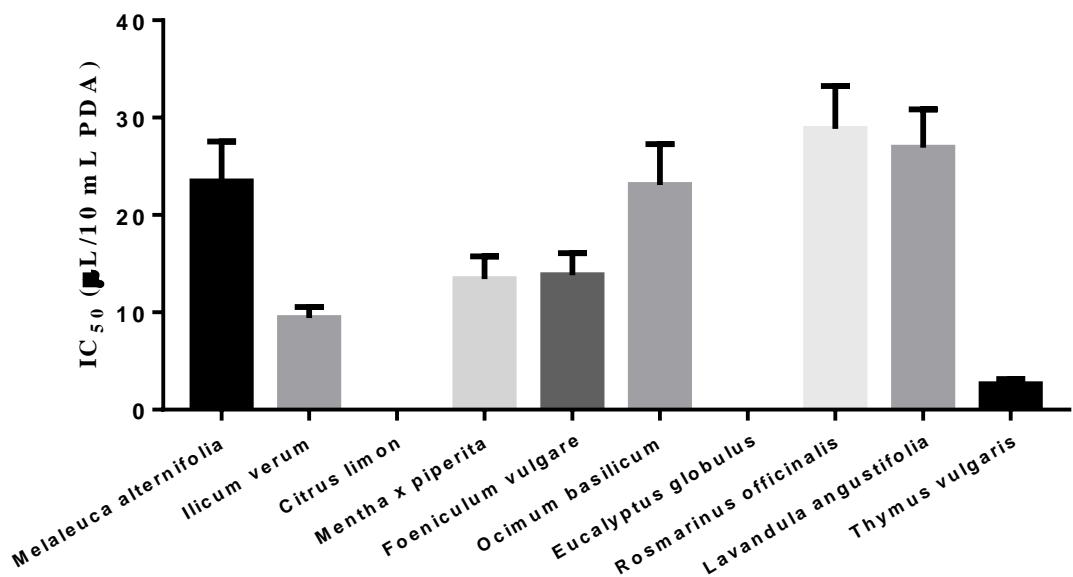
Najmanji IC<sub>50</sub> bio je kod eteričnog ulja timijana i iznosi 4,93 (3,25 - 7,26). Eterično ulje paprene metvice ima IC<sub>50</sub> 25,39 (18,37 - 35,38), a eterično ulje komorača 35,12 (23,78 - 52,87). Najveći IC<sub>50</sub> je kod eteričnog ulja ružmarina 151,70 (113,80 - 212,60) i eteričnog ulja lavande prave 129,40 (97,53 - 179,00). Od komponenti eteričnih ulja samo za anetol iz eteričnog ulja anisa i terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca bilo je moguće izračunati IC<sub>50</sub> koji iznosi 33,63 (22,36 - 51,55) odnosno 44,86 (31,84 – 64,52), a vrijednosti su manje nego što su imala pripadajuća eterična ulja.

**Tablica 3.** Procijenjena vrijednost parametra **IC<sub>50</sub>** za eterična ulja i njihove komponente četvrti i osmi dan nakon nacjepljivanja micelija *Botrytis cinerea*.

Eterična ulja i njihove komponente	4. dan	8. dan
	IC <sub>50</sub> (95 % CI)	IC <sub>50</sub> (95 % CI)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	23,45 (17,24 - 32,13)	72,24 (59,18 – 89,26)
· terpinenol-4	13,03 (10,35 - 16,43)	44,86 (31,84 – 64,52)
· terpinen gama	NA	NA
<i>Ilicum verum</i>	9,41 (7,48 - 11,82)	106,00 (78,61 - 148,8)
· anetol	6,45 (4,70 - 8,75)	33,63 (22,36 - 51,55)
· estragol	NA	NA
<i>Citrus limon</i>	NA	NA
· d-limonen	70,95 (60,85 - 83,32)	NA
· pinen beta	205,5 (161,40 - 272,40)	NA
<i>Mentha x piperita</i>	13,42 (9,82 - 18,37)	25,39 (18,37 - 35,38)
· mentol	55,06 (45,10 - 67,79)	NA
· menton	100,40 (86,61 - 117,40)	NA
<i>Foeniculum vulgare</i>	13,82 (10,28 - 18,59)	35,12 (23,78 - 52,87)
· anetol	106,40 (91,2 - 125,3)	NA
· d-limonen	NA	NA
<i>Ocimum basilicum</i>	23,09 (16,77 - 32,03)	52,54 (36,87 - 76,91)
estrugol	NA	NA
· linalol	NA	NA
<i>Eucalyptus globulus</i>	NA	NA
· eukaliptol	NA	NA
· d-limonen	NA	NA
<i>Rosmarinus officinalis</i>	28,85 (21,98 - 38,16)	151,70 (113,80 - 212,60)
· eukaliptol	NA	NA
· pinen alfa plus	NA	NA
<i>Lavandula angustifolia</i>	26,93 (20,58 - 35,51)	129,40 (97,53 - 179,00)
· linalol	NA	NA
· linalil acetat	NA	NA
<i>Thymus vulgaris</i>	2,63 (1,77 - 3,72)	4,93 (3,25 - 7,26)
· timol	26,21 (22,91 – 30,03)	NA

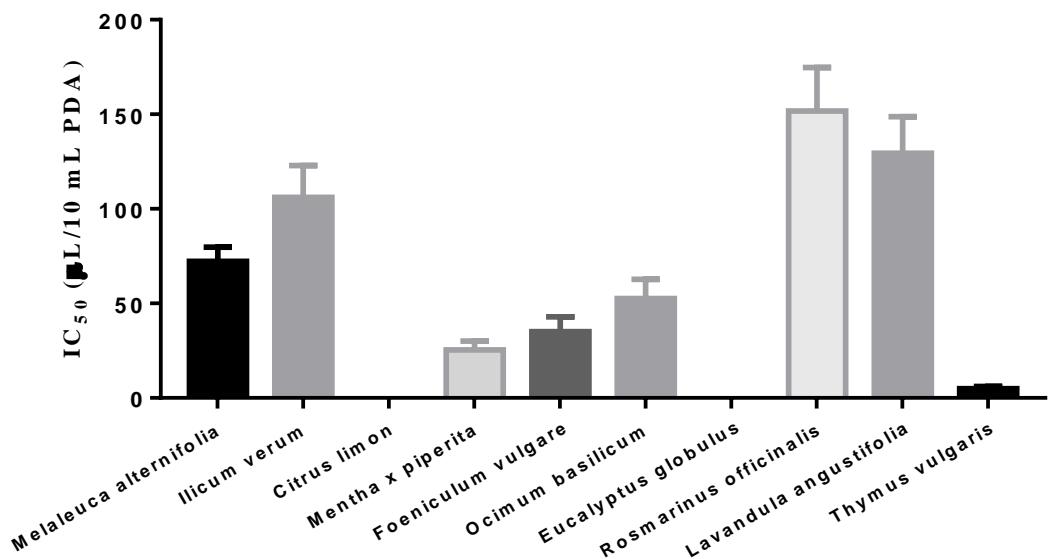
Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina te kao **95 %**-tna granica aritmetičke sredine za **IC<sub>50</sub>** (n = 32).

4. dan - *B. cinerea*



Slika 17. Usporedba parametra  $IC_{50}$  eteričnih ulja po učinku na rast *Botrytis cinerea* - četvrti dan.

8. dan - *B. cinerea*



Slika 18. Usporedba parametra  $IC_{50}$  eteričnih ulja po učinku na rast *Botrytis cinerea* - osmi dan.

#### **4.3.3. Procijenjene vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na rast micelija *Colletotrichum coccodes***

Rezultati prikazani u Tablici 4 pokazuju usporedbu vrijednosti IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente za *C. coccodes*. Slike 19, 20, 21 i 22 pokazuju usporedbu eteričnih ulja prema vrijednostima IC<sub>50</sub> četvrti, osmi, dvanaesti i petnaesti dan nakon inokulacije.

##### **Četvrti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes***

Četiri dana nakon inokulacije, eterično ulje timijana ima najmanji IC<sub>50</sub> koji iznosi 0,14 (0,09 - 0,19). IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice je 0,57 (0,50 - 0,64), a eteričnog ulja komorača 0,61 (0,53 - 0,71). Eterično ulje limuna i eukaliptusa imaju najveći IC<sub>50</sub> koji iznosi 1,17 (0,86 - 1,51) odnosno 1,17 (0,74 - 1,67). Sve komponente eteričnih ulja imaju veći IC<sub>50</sub> u odnosu na njihova eterična ulja osim komponente terpinenol-4 koja ima IC<sub>50</sub> neznatno manji nego eterično ulje čajevca.

##### **Osmi dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes***

Najmanji IC<sub>50</sub> ima eterično ulje timijana 0,29 (0,19 - 0,39). Anis ima IC<sub>50</sub> 1,50 (1,24 - 1,78), a paprena metvica 1,56 (1,34 - 1,80). Najveći IC<sub>50</sub> ima eterično ulje eukaliptusa 2,79 (1,82 - 4,06), eterično ulje ružmarina 2,50 (1,83 - 3,31) i eterično ulje čajevca 2,46 (1,93 - 3,08). Anetol, glavna komponenta eteričnog ulja anisa, ima IC<sub>50</sub> 1,70 (1,38 - 2,05), a timol iz eteričnog ulja timijana 1,72 (1,40 - 2,08). Najveći IC<sub>50</sub> ima linalil acetat 3,21 (2,01 - 4,87), komponenta eteričnog ulja lavande prave, i eukaliptol 3,05 (1,93 - 4,56), glavna komponenta eteričnog ulja eukaliptusa.

##### **Dvanaesti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes***

Eterično ulje timijana ima i dvanaesti dan nakon inokulacije najmanji IC<sub>50</sub> koji iznosi 0,56 (0,35 - 0,79). Iza njega slijede eterična ulja anisa 3,14 (2,59 - 3,77) i paprene metvice 3,26 (2,76 - 3,81). Najveći IC<sub>50</sub> imaju eterična ulja limuna 8,24 (5,33 - 12,73) i eukaliptusa 7,16 (4,39 - 11,61). Od komponenata najmanji IC<sub>50</sub> ima anetol iz eteričnog ulja anisa 2,93 (2,35 - 3,61) i timol iz eteričnog ulja timijana 3,37 (2,66 - 4,21), dok je IC<sub>50</sub> najveći kod linalola iz eteričnog ulja bosiljka 9,09 (5,46 - 15,25).

##### **Petnaesti dan nakon inokulacije gljivom *Colletotrichum coccodes***

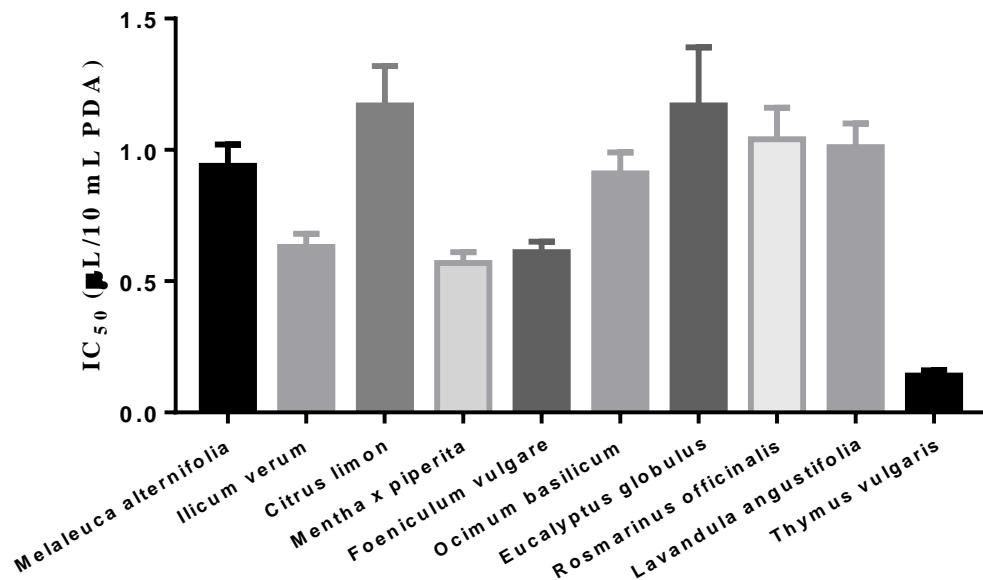
Eterično ulje timijana zadržalo je do petnaestog dana najmanji IC<sub>50</sub> 0,79 (0,48 - 1,15). Eterična ulja anisa i paprene metvice imaju IC<sub>50</sub> 6,05 (4,98 - 7,30) odnosno 6,24 (5,25 - 7,40). Najveće vrijednosti IC<sub>50</sub> imaju eterična ulja eukaliptusa 18,61 (11,47 - 30,75) i limuna 17,20 (11,66 - 25,63). Najmanji IC<sub>50</sub> od komponenti imale su komponente timol 6,29 (4,97 - 7,91) i anetol iz eteričnog ulja anisa 7,66 (6,10 - 9,59). Linalil acetat iz eteričnog ulja lavande prave 32,98 (19,27 - 57,79) i pinen alfa plus iz eteričnog ulja ružmarina 31,32 (18,67 - 53,72) imali su najveći IC<sub>50</sub> od svih komponenata petnaesti dan nakon inokulacije micelija.

**Tablica 4.** Procijenjena vrijednost parametra **IC<sub>50</sub>** za eterična ulja i njihove komponente četvrti, osmi, dvanaesti i petnaesti dan nakon nacjepljivanja micelija *Coletotrichum coccodes*.

Eterična ulja i njihove komponente	4. dan	8. dan	12. dan	15. dan
	IC <sub>50</sub> (95 % CI)			
<i>Melaleuca alternifolia</i>	0,94 (0,78 - 1,12)	2,46 (1,93 - 3,08)	4,97 (3,82 - 6,41)	10,20 (7,82-13,30)
· terpinenol-4	0,92 (0,79 - 1,05)	2,30 (1,93 - 2,73)	4,67 (3,78 - 5,72)	8,26 (6,41-10,61)
· terpinen gama	1,12 (0,78 - 1,51)	2,58 (1,67 - 3,77)	7,13 (4,43 - 11,43)	18,70 (10,69-33,68)
<i>Ilicum verum</i>	0,63 (0,53 - 0,73)	1,50 (1,24 - 1,78)	3,14 (2,59 - 3,77)	6,05 (4,98 - 7,30)
· anetol	0,90 (0,81 - 1,00)	1,70 (1,38 - 2,05)	2,93 (2,35 - 3,61)	7,66 (6,10 - 9,59)
· estragol	1,24 (0,81 - 1,74)	2,81 (1,79 - 4,16)	6,18 (3,76 - 10,04)	19,29 (10,85 - 35,27)
<i>Citrus limon</i>	1,17 (0,86 - 1,51)	2,42 (1,73 - 3,26)	8,24 (5,33 - 12,73)	17,20 (11,66 - 25,63)
· d-limonen	1,25 (0,89 - 1,66)	2,84 (1,96 - 3,94)	7,30 (4,72 - 11,23)	18,30 (11,77 - 28,86)
· pinen beta	1,32 (0,89 - 1,82)	2,78 (1,82 - 4,05)	7,26 (4,43 - 11,84)	21,74 (12,84 - 37,59)
<i>Mentha x piperita</i>	0,57 (0,50 - 0,64)	1,56 (1,34 - 1,80)	3,26 (2,76 - 3,81)	6,24 (5,25 - 7,40)
· mentol	0,98 (0,75 - 1,23)	2,10 (1,47 - 2,87)	6,10 (4,21 - 8,76)	14,57 (9,45 - 22,76)
· menton	1,12 (0,77 - 1,53)	2,56 (1,66 - 3,74)	6,89 (4,12 - 11,43)	19,98 (11,96 - 34,06)
<i>Foeniculum vulgare</i>	0,61 (0,53 - 0,71)	1,82 (1,53 - 2,13)	3,68 (3,00 - 4,47)	7,05 (5,60 - 8,82)
· anetol	1,19 (0,85 - 1,58)	2,65 (1,70 - 3,89)	7,67 (4,71 - 12,46)	24,01 (14,76 - 39,76)
· d-limonen	1,23 (0,82 - 1,71)	2,38 (1,52 - 3,52)	7,25 (4,24 - 12,37)	20,20 (11,31 - 37,12)
<i>Ocimum basilicum</i>	0,91 (0,75 - 1,08)	2,19 (1,65 - 2,82)	5,64 (4,12 - 7,63)	10,73 (7,86 - 14,63)
estrugol	1,24 (0,82 - 1,72)	2,60 (1,64 - 3,87)	7,22 (4,20 - 12,34)	20,40 (11,52 - 37,15)
· linalol	1,15 (0,78 - 1,58)	2,71 (1,72 - 4,02)	9,09 (5,46 - 15,25)	25,39 (14,33 - 46,11)
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,17 (0,74 - 1,67)	2,79 (1,82 - 4,06)	7,16 (4,39 - 11,61)	18,61 (11,47 - 30,75)
· eukaliptol	1,32 (0,89 - 1,83)	3,05 (1,93 - 4,56)	8,03 (4,70 - 13,80)	28,48 (16,13 - 51,50)
· d-limonen	1,28 (0,86 - 1,78)	2,79 (1,81 - 4,10)	7,61 (4,61 - 12,55)	20,04 (11,46 - 36,05)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,04 (0,78 - 1,31)	2,50 (1,83 - 3,31)	6,13 (4,28 - 8,70)	13,67 (9,81 - 19,17)
· eukaliptol	1,26 (0,84 - 1,75)	2,97 (1,87 - 4,47)	7,81 (4,65 - 13,12)	22,88 (12,36 - 43,49)
· pinen alfa plus	1,25 (0,84 - 1,73)	2,99 (1,85 - 4,57)	8,61 (5,12 - 14,59)	31,32 (18,67 - 53,72)
<i>Lavandula angustifolia</i>	1,01 (0,84 - 1,20)	2,11 (1,57 - 2,74)	5,12 (4,10 - 6,36)	9,62 (7,65 - 12,10)
· linalol	1,23 (0,82 - 1,71)	2,72 (1,75 - 4,01)	8,77 (5,28 - 14,64)	25,72 (14,68 - 46,09)
· linalil acetat	1,38 (0,92 - 1,93)	3,21 (2,01 - 4,87)	8,42 (4,95 - 14,43)	32,98 (19,27 - 57,79)
<i>Thymus vulgaris</i>	0,14 (0,09 - 0,19)	0,29 (0,19 - 0,39)	0,56 (0,35 - 0,79)	0,79 (0,48 - 1,15)
· timol	0,64 (0,52 - 0,77)	1,72 (1,40 - 2,08)	3,37 (2,66 - 4,21)	6,29 (4,97 - 7,91)

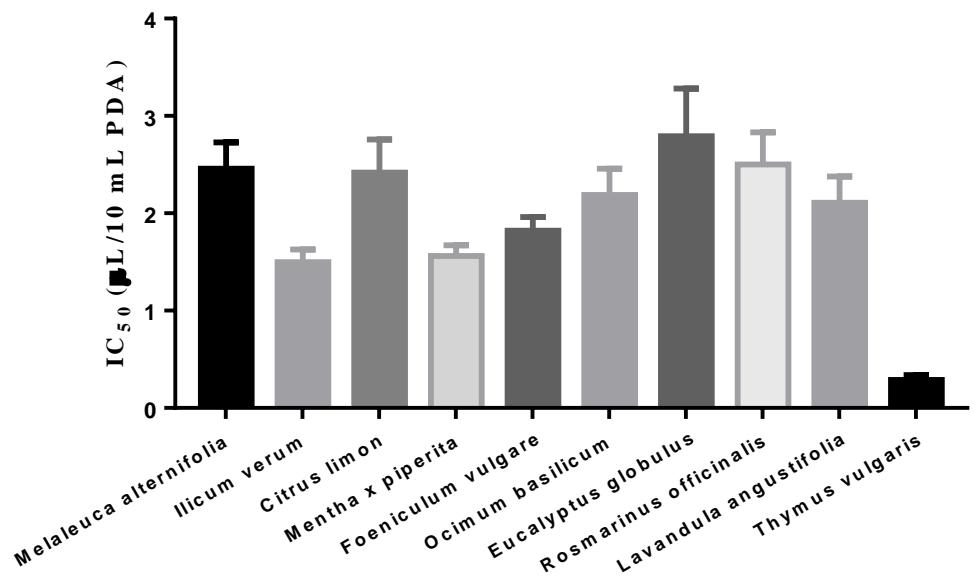
Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina, te kao **95 %**-tna granica aritmetičke sredine za **IC<sub>50</sub>** (n = 32).

**4. dan - *C. coccodes***



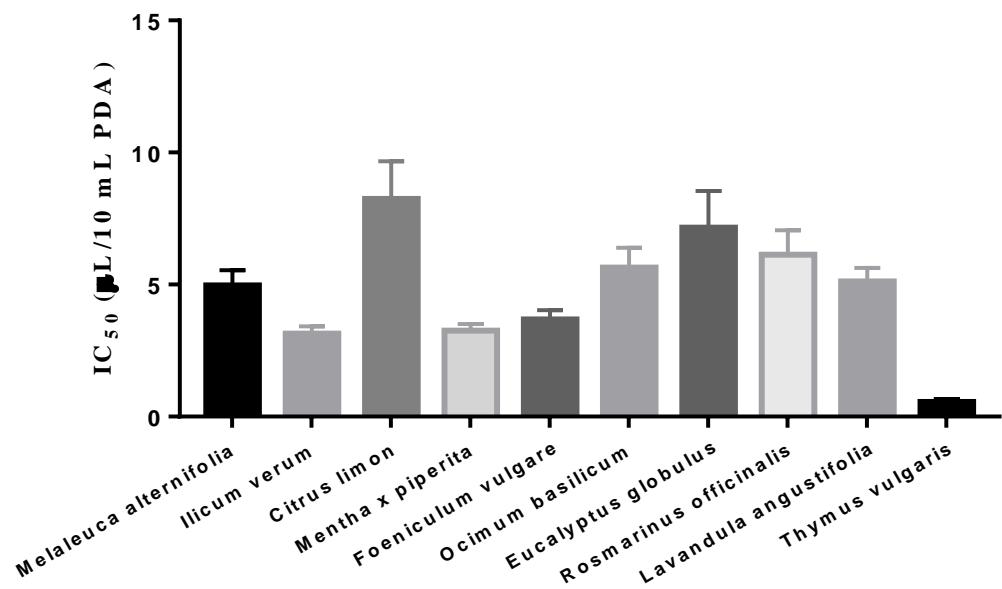
**Slika 19.** Usporedba parametra **IC<sub>50</sub>** eteričnih ulja po učinku na rast *Colletotrichum coccodes* - četvrti dan.

**8. dan - *C. coccodes***



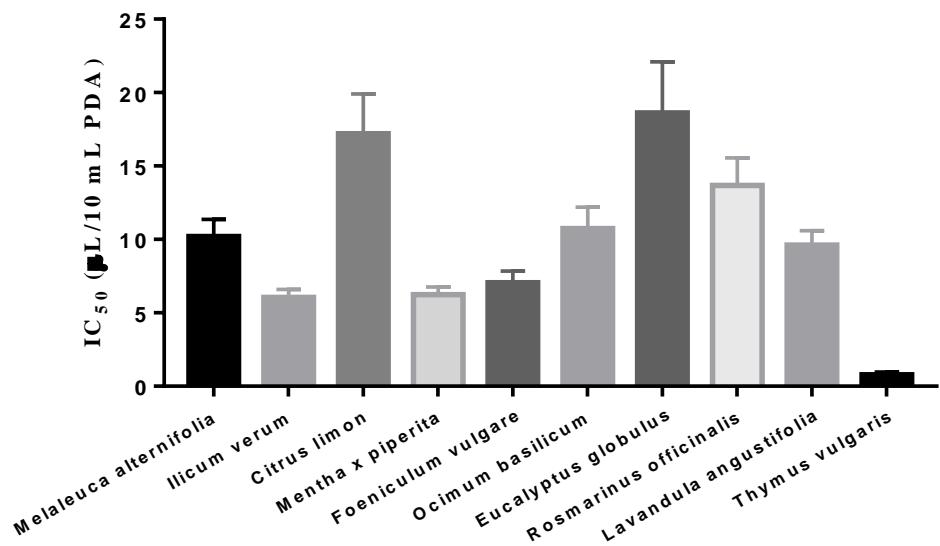
**Slika 20.** Usporedba parametra **IC<sub>50</sub>** eteričnih ulja po učinku na rast *Colletotrichum coccodes* - osmi dan.

12. dan - *C. coccodes*



Slika 21. Usporedba parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja po učinku na rast *Colletotrichum coccodes* - dvanaesti dan

15. dan - *C. coccodes*



Slika 22. Usporedba parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja po učinku na rast *Colletotrichum coccodes* - petnaesti dan

#### **4.3.4. Usporedba procijenjenih vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti prema učinku na *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

Uspoređujući vrijednosti IC<sub>50</sub> za *F. oxysporum*, *B. cinerea* i *C. coccodes* (Tablica 5 i 6) utvrđeno je da su vrijednosti ovog parametra za sporo rastuću fitopatogenu gljivicu *C. coccodes* manje i različite nego za ostale dvije ispitivane fitopatogene gljivice. Zbog toga su uspoređene vrijednosti IC<sub>50</sub> pojedinih eteričnih ulja i njihovih komponenti samo između gljivica *F. oxysporum* i *B. cinerea* za četvrti i osmi dan nakon inokulacije.

#### **Usporedba procijenjenih vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti prema učinku na *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea* - četvrti dan**

Rezultati vrijednosti IC<sub>50</sub> (Tablica 5) pokazuju da su kod svih ispitivanih eteričnih ulja ili njihovih komponenti vrijednosti IC<sub>50</sub> veće za *B. cinerea* nego za *F. oxysporum*. Eterična ulja i njihove komponente koji su najbolje djelovali na *F. oxysporum*, pokazali su dobro djelovanje i na *B. cinerea*. Najmanji IC<sub>50</sub> u usporedbi s ostalim eteričnim uljima za obje gljivice imalo je eterično ulje timijana, iako je više od sedam puta veća vrijednost IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na *F. oxysporum*. Eterična ulja anisa, paprene metvice i ružmarina imala su više od dva puta veći IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na *F. oxysporum*. Eterična ulja čajevca, bosiljka i lavande imala su više od tri puta veći IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na IC<sub>50</sub> za *F. oxysporum*. Eterično ulje komorača ima oko pet puta veću vrijednost IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na IC<sub>50</sub> za *F. oxysporum*. Usporedbom IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za *F. oxysporum* i *B. cinerea* utvrđeno je da su najbolje djelovala eterična ulja timijana, anisa, komorača i paprene metvice na obje fitopatogene gljivice. Eterična ulja eukaliptusa i limuna, koja su uz eterično ulje ružmarina imala najslabije djelovanje na *F. oxysporum*, nisu uopće inhibirala rast micelija *B. cinerea*.

Sve komponente eteričnih ulja, isto kao i eterična ulja, imale su veće vrijednosti IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* nego za *F. oxysporum*. Terpinenol-4, komponenta eteričnog ulja čajevca i anetol iz eteričnog ulja anisa imale su oko dva puta veći IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na *F. oxysporum*. Komponente eteričnih ulja lavande prave, ružmarina, eukaliptusa, bosiljka te d-limonen iz komorača, estragol iz anisa i terpinen gama iz čajevca, nisu imale fungistatično djelovanje na gljivicu *B. cinerea*.

**Tablica 5.** Usporedba procijenjene vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*.

Eterična ulja i njihove komponente	4. dan		
	<i>F. oxysporum</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)	<i>B. cinerea</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)	<i>C. coccodes</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	6,94 (5,76 - 8,33)	23,45 (17,24 - 32,13)	0,94 (0,78 - 1,12)
· terpinenol-4	6,56 (5,30 - 8,08)	13,03 (10,35 - 16,43)	0,92 (0,79 - 1,05)
· terpinen gama	25,53 (16,33 - 40,56)	NA	1,12 (0,78 - 1,51)
<i>Ilicum verum</i>	3,79 (3,19 - 4,48)	9,41 (7,48 - 11,82)	0,63 (0,53 - 0,73)
· anetol	3,04 (2,56 - 3,58)	6,45 (4,70 - 8,75)	0,90 (0,81 - 1,00)
· estragol	34,07 (21,06 - 56,40)	NA	1,24 (0,81 - 1,74)
<i>Citrus limon</i>	8,63 (6,55 - 11,34)	NA	1,17 (0,86 - 1,51)
· d-limonen	17,66 (14,36 - 21,78)	70,95 (60,85 - 83,32)	1,25 (0,89 - 1,66)
· pinen beta	35,93 (22,87 - 57,73)	205,5 (161,40 - 272,40)	1,32 (0,89 - 1,82)
<i>Mentha x piperita</i>	5,79 (4,81 - 6,95)	13,42 (9,82 - 18,37)	0,57 (0,50 - 0,64)
· mentol	19,18 (15,80 - 23,34)	55,06 (45,10 - 67,79)	0,98 (0,75 - 1,23)
· menton	28,66 (20,01 - 41,57)	100,40 (86,61 - 117,40)	1,12 (0,77 - 1,53)
<i>Foeniculum vulgare</i>	2,78 (2,28 - 3,36)	13,82 (10,28 - 18,59)	0,61 (0,53 - 0,71)
· anetol	5,84 (4,22 - 8,00)	106,40 (91,2 - 125,3)	1,19 (0,85 - 1,58)
· d-limonen	34,71 (18,12 - 68,65)	NA	1,23 (0,82 - 1,71)
<i>Ocimum basilicum</i>	7,72 (6,45 - 9,21)	23,09 (16,77 - 32,03)	0,91 (0,75 - 1,08)
estrugol	41,62 (34,14 - 51,06)	NA	1,24 (0,82 - 1,72)
· linalol	27,81 (18,49 - 42,45)	NA	1,15 (0,78 - 1,58)
<i>Eucalyptus globulus</i>	18,7 (14,13 - 24,89)	NA	1,17 (0,74 - 1,67)
· eukaliptol	22,76 (15,36 - 34,13)	NA	1,32 (0,89 - 1,83)
· d-limonen	19,67 (12,54 - 31,32)	NA	1,28 (0,86 - 1,78)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	12,42 (10,54 - 14,64)	28,85 (21,98 - 38,16)	1,04 (0,78 - 1,31)
· eukaliptol	29,00 (16,89 - 50,85)	NA	1,26 (0,84 - 1,75)
· pinen alfa plus	27,83 (17,14 - 45,98)	NA	1,25 (0,84 - 1,73)
<i>Lavandula angustifolia</i>	7,63 (6,40 - 9,06)	26,93 (20,58 - 35,51)	1,01 (0,84 - 1,20)
· linalol	19,77 (11,76 - 34)	NA	1,23 (0,82 - 1,71)
· linalil acetat	32,65 (19,37 - 56,4)	NA	1,38 (0,92 - 1,93)
<i>Thymus vulgaris</i>	0,36 (0,24 - 0,48)	2,63 (1,77 - 3,72)	0,14 (0,09 - 0,19)
· timol	3,05 (2,46 - 3,73)	26,21 (22,91 - 30,03)	0,64 (0,52 - 0,77)

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina, te kao 95 %-tna granica aritmetičke sredine za IC<sub>50</sub> (n = 32).

#### Usporedba procijenjenih vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti prema učinku na *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea* - osmi dan

Vrijednosti IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* su kod svih ispitivanih eteričnih ulja i njihovih komponenti bile veće nego za *F. oxysporum* i osmi dan nakon inokulacije (Tablica 6). Najmanji IC<sub>50</sub> u usporedbi s ostalim eteričnim uljima imalo je eterično ulje timijana, ali je njegova vrijednost bila šest puta veća za *B. cinerea* u odnosu na IC<sub>50</sub> za *F. oxysporum*. Eterično ulje komorača imalo je više od dva puta veći IC<sub>50</sub> za *B. cinerea* u odnosu na IC<sub>50</sub> za *F. oxysporum* dok su eterična ulja čajevca i ružmarina imala oko tri, a lavande četiri puta veću vrijednost IC<sub>50</sub> za *B. cinerea*. Najveću razliku u vrijednosti IC<sub>50</sub> između ove dvije fitopatogene gljivice utvrđili smo za eterično ulje anisa, oko

sedam puta. Najmanju razliku IC<sub>50</sub> za eterična ulja za *F. oxysporum* i *B. cinerea* imala su ulja paprene metvice, bosiljka i komorača. Eterična ulja limuna i eukaliptusa, kao i četvrti dan, nisu uopće djelovala inhibitorno na rast micelija *B. cinerea*.

Isto kao i eterična ulja, niti jedna komponenta eteričnih ulja nije imala bolje djelovanje na *B. cinerea* u odnosu na *F. oxysporum*. Tako je za anetol utvrđena vrijednost IC<sub>50</sub> 14,16 (11,07 - 18,14) za *F. oxysporum*, dok je za *B. cinerea* ona iznosila 33,63 (22,36 - 51,55). IC<sub>50</sub> za terpinenol-4, iznosio je 19,14 (14,55 - 25,27) za *F. oxysporum*, a za *B. cinerea* 44,86 (31,84 - 64,52). Komponente d-limonen iz eteričnog ulja limuna i timol iz timijana su imale određeno fungistatično djelovanje na *F. oxysporum*, ali nisu djelovale inhibitorno na *B. cinerea*.

**Tablica 6.** Usporedba procijenjene vrijednosti parametra **IC<sub>50</sub>** za eterična ulja i njihove komponente osmi dan nakon nacjepljivanja micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*

Eterična ulja i njihove komponente	8. dan		
	<i>F. oxysporum</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)	<i>B. cinerea</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)	<i>C. coccodes</i> IC <sub>50</sub> (95 % CI)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	21,31 (16,04 - 28,44)	72,24 (59,18 - 89,26)	2,46 (1,93 - 3,08)
· terpinenol-4	19,14 (14,55 - 25,27)	44,86 (31,84 - 64,52)	2,30 (1,93 - 2,73)
· terpinen gama	NA	NA	2,58 (1,67 - 3,77)
<i>Ilicum verum</i>	15,71 (11,57 - 21,39)	106,00 (78,61 - 148,8)	1,50 (1,24 - 1,78)
· anetol	14,16 (11,07 - 18,14)	33,63 (22,36 - 51,55)	1,70 (1,38 - 2,05)
· estragol	NA	NA	2,81 (1,79 - 4,16)
<i>Citrus limon</i>	145,30 (124,40 - 171,90)	NA	2,42 (1,73 - 3,26)
· d-limonen	126,00 (104,80 - 154,00)	NA	2,84 (1,96 - 3,94)
· pinen beta	NA	NA	2,78 (1,82 - 4,05)
<i>Mentha x piperita</i>	16,55 (11,85 - 23,18)	25,39 (18,37 - 35,38)	1,56 (1,34 - 1,80)
· mentol	NA	NA	2,10 (1,47 - 2,87)
· menton	NA	NA	2,56 (1,66 - 3,74)
<i>Foeniculum vulgare</i>	15,84 (11,83 - 21,27)	35,12 (23,78 - 52,87)	1,82 (1,53 - 2,13)
· anetol	NA	NA	2,65 (1,70 - 3,89)
· d-limonen	NA	NA	2,38 (1,52 - 3,52)
<i>Ocimum basilicum</i>	38,52 (29,41 - 50,98)	52,54 (36,87 - 76,91)	2,19 (1,65 - 2,82)
estragol	NA	NA	2,60 (1,64 - 3,87)
· linalol	NA	NA	2,71 (1,72 - 4,02)
<i>Eucalyptus globulus</i>	NA	NA	2,79 (1,82 - 4,06)
· eukaliptol	NA	NA	3,05 (1,93 - 4,56)
· d-limonen	NA	NA	2,79 (1,81 - 4,10)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	55,19 (47,99 - 63,76)	151,70 (113,80 - 212,60)	2,50 (1,83 - 3,31)
· eukaliptol	NA	NA	2,97 (1,87 - 4,47)
· pinen alfa plus	NA	NA	2,99 (1,85 - 4,57)
<i>Lavandula angustifolia</i>	32,25 (24,78 - 42,31)	129,40 (97,53 - 179,00)	2,11 (1,57 - 2,74)
· linalol	NA	NA	2,72 (1,75 - 4,01)
· linalil acetat	NA	NA	3,21 (2,01 - 4,87)
<i>Thymus vulgaris</i>	0,85 (0,54 - 1,21)	4,93 (3,25 - 7,26)	0,29 (0,19 - 0,39)
· timol	7,14 (6,05 - 8,42)	NA	1,72 (1,40 - 2,08)

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina, te kao **95 %**-tina granica aritmetičke sredine za **IC<sub>50</sub>** (n = 32).

#### 4.3.5. Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*

Rezultati usporedbe izračunati su pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukeyeva testa i prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

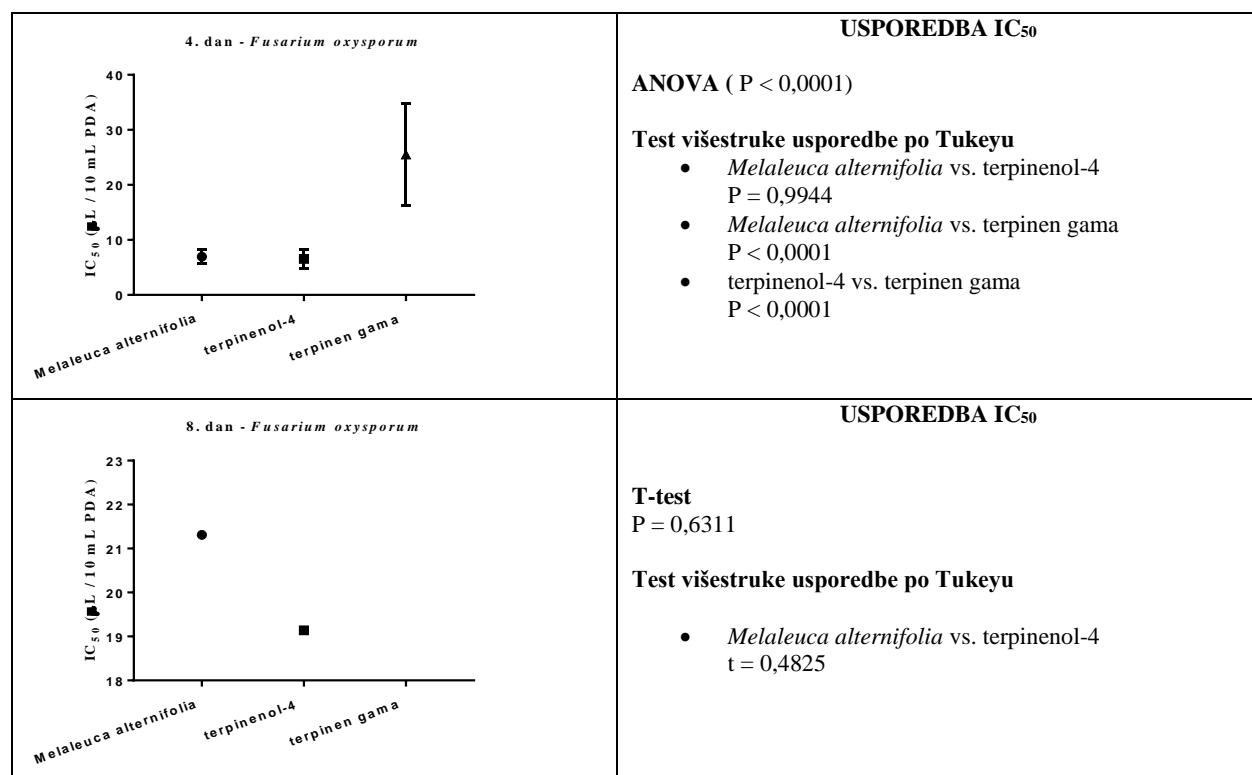
##### 4.3.5.1. Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za *Fusarium oxysporum*

###### *Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Fusarium oxysporum**

Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> (Slika 23) pokazuju kako četvrti dan nije bilo statistički značajne razlike između eteričnog ulja čajevca i njegove komponente terpinenol-4 (P = 0,9944).

Statistički značajna razlika (P<0,05) utvrđena je između eteričnog ulja čajevca i njegove komponente terpinen gama te između komponenata međusobno.

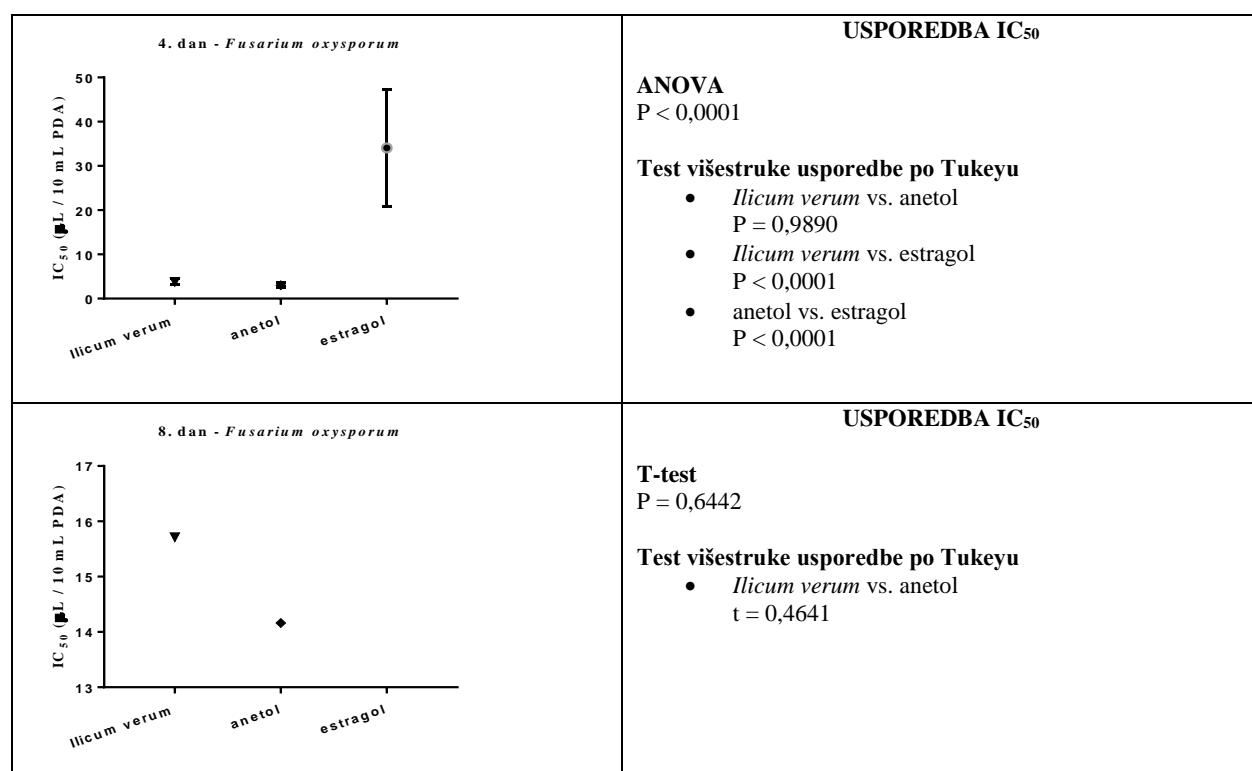
Temeljem navedenoga možemo zaključiti da je eterično ulje čajevca podjednako djelovalo kao i njegova komponenta terpinenol-4, dok je terpinen gama djelovao znatno slabije na inhibiciju rasta micelija *Fusarium oxysporum*. Osmi dan pomoću testa višestruke usporedbe po Tukeyu nije utvrđena statistički značajna razlika između eteričnog ulja čajevca i njegove komponente terpinenol-4. Komponenta terpinen gama nije uopće djelovala na inhibiciju rasta micelija.



**Slika 23.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

## **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Fusarium oxysporum***

Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) (Slika 24) pokazuju kako četvrti dan nije bilo statistički značajne razlike između djelovanja eteričnog ulja anisa i njegove komponente anetola. Statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) utvrđena je između eteričnog ulja anisa i komponente estragol, dok su se i komponente međusobno statistički značajno razlikovale. Možemo zaključiti da je eterično ulje anisa podjednako djelovalo kao i njegova komponenta anetol dok je estragol djelovao znatno slabije na inhibiciju rasta micelija *Fusarium oxysporum*. Rezultati za osmi dan pokazuju da pomoću t-testa nije ustanovljena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja anisa i njegove komponente anetola. Estragol nije inhibirao rast micelija ispitivane fitopatogene gljivice.

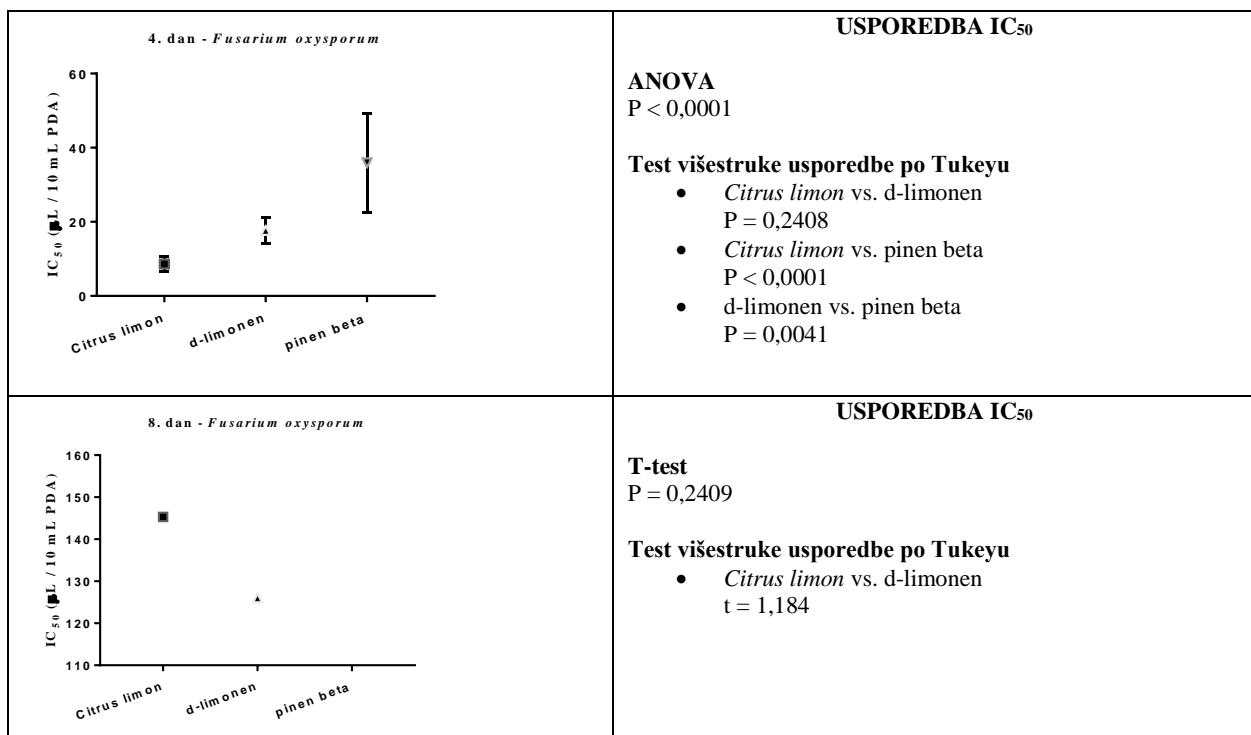


**Slika 24.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

## **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Fusarium oxysporum***

Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) (Slika 25) pokazuju kako četvrti dan nije bilo statistički značajne razlike u djelovanju između eteričnog ulja limuna i komponente d-limonen. Statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) u djelovanju utvrđena je između eteričnog ulja limuna i njegove komponente pinen beta te između komponenti d-limonen i pinen beta. Na ovu je gljivicu eterično ulje limuna podjednako djelovalo kao i d-limonen, dok je pinen beta djelovao znatno slabije na inhibiciju

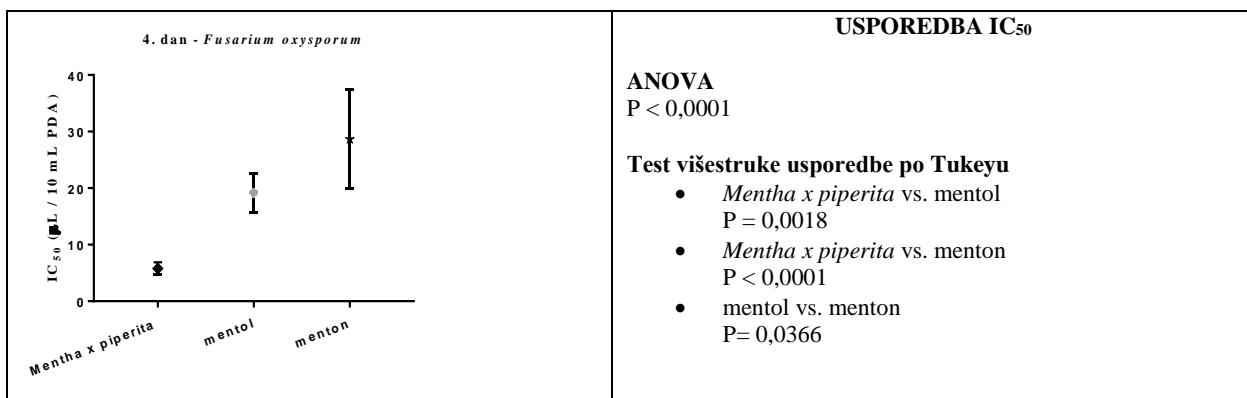
rasta micelija *Fusarium oxysporum*. Rezultati za osmi dan pokazuju da nije utvrđena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja limuna i d-limonena. Estragol nije djelovao inhibitorno na rast micelija.



**Slika 25.** Usپoredba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### **Usپoredba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Fusarium oxysporum***

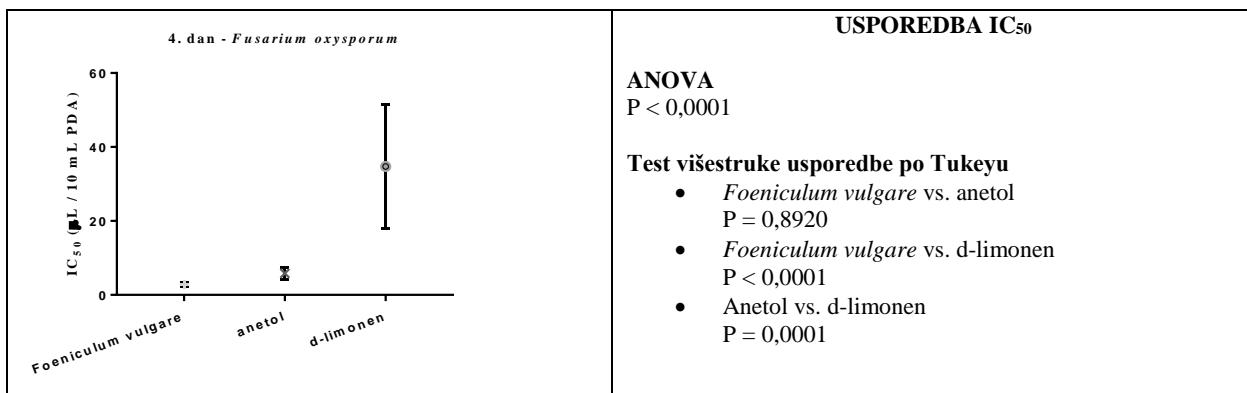
Prikazani rezultati usпoredbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i ispitivanih komponenti mentol i menton (Slika 26) pokazuju kako je četvrti dan utvrđena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja paprene metvice i njegovih komponenti mentola i mentona. Statistički signifikantna razlika ( $P<0,05$ ) utvrđena je i između komponenata mentol i menton. Učinak na rast micelija bio je jači kod mentola nego kod mentona. Usپoredbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i komponenti (mentol i menton) nisu izračunate za osmi dan jer niti jedna komponenta nije djelovala inhibitorno na rast micelija gljivice *F. oxysporum*.



**Slika 26.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Fusarium oxysporum***

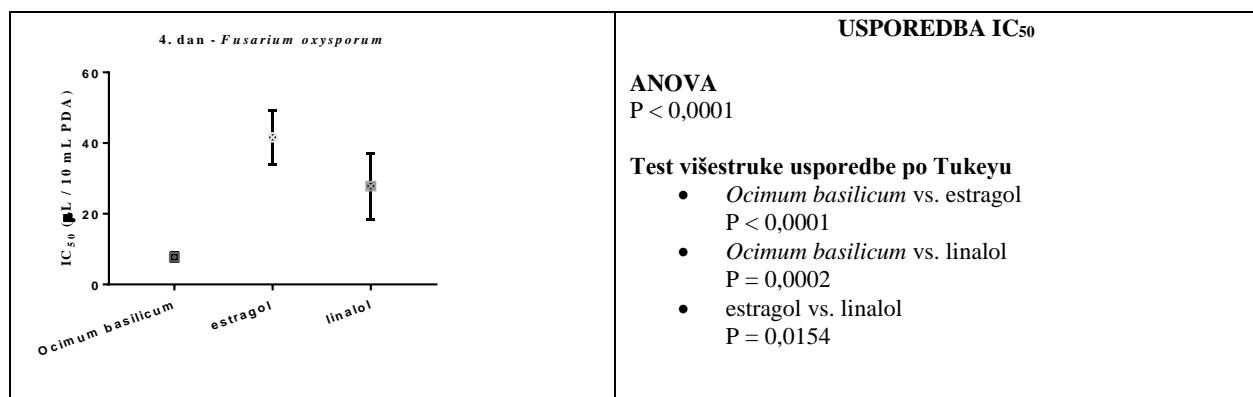
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i komponenti (anetol i d-limonen) (Slika 27) pokazuju kako četvrti dan nije utvrđena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja komorača i njegove komponente anetol. Eterično ulje komorača statistički je značajno različito djelovalo u odnosu na d-limonen. Statistički signifikantna razlika (P<0,05) u djelovanju utvrđena je između komponenti anetol i d-limonen. Anetol je imao snažniji inhibitorni učinak (P=0,0001) na rast micelija *F. oxysporum* u odnosu na d-limonen. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača i komponenti anetol i d-limonen osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale inhibitorno na rast micelija.



**Slika 27.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti (estragol i linalol) za *Fusarium oxysporum***

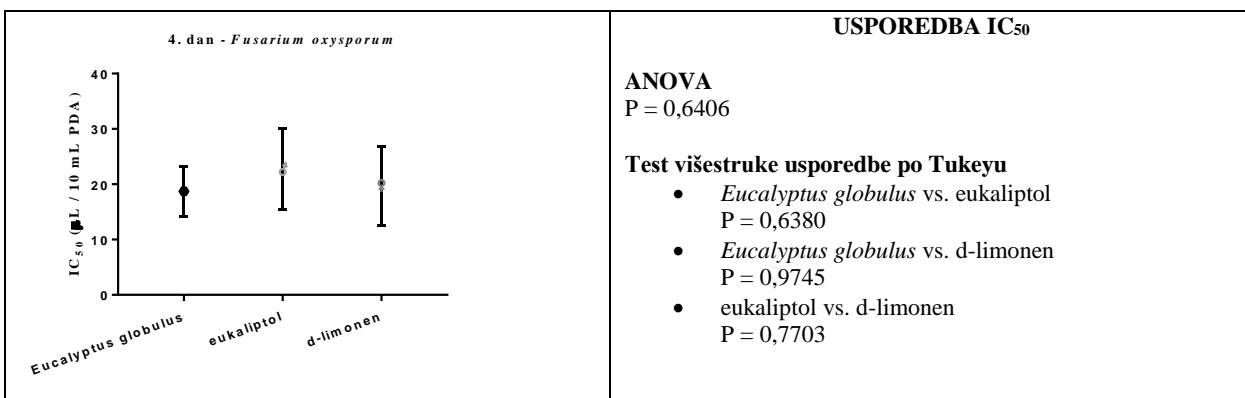
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti estragol i linalol za *Fusarium oxysporum* (Slika 28) pokazuju kako je četvrti dan utvrđena statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) u inhibiciji rasta micelija između eteričnog ulja bosiljka i njegovih komponenti estragol i linalol. Eterično ulje imalo je snažniji učinak od estragola ( $P < 0,0001$ ) i linalola ( $P = 0,0002$ ). Komponenta linalol snažnije je djelovala na inhibiciju rasta micelija *F. oxysporum* u odnosu na estragol ( $P = 0,0154$ ). Usporedbe IC<sub>50</sub> između eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti za osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale na inhibiciju rasta micelija *F. oxysporum*.



**Slika 28.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti (estragol i linalol) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za *Fusarium oxysporum***

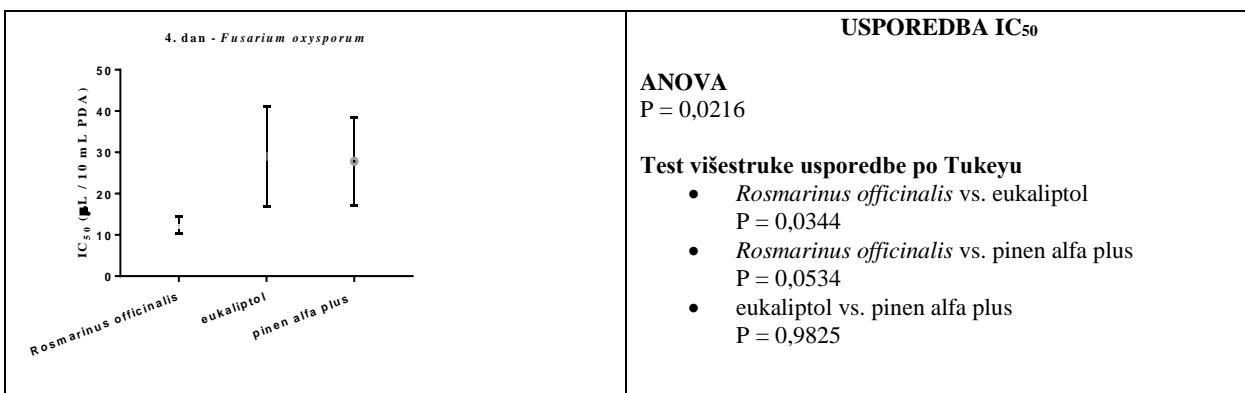
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> između eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti eukaliptol i d-limonen (Slika 29) pokazuju kako četvrti dan eterično ulje eukaliptusa nije imalo statistički signifikantan učinak u odnosu na učinak komponenti eukaliptol i d-limonen. Djelovanje eukaliptola i d-limonena nije se statistički značajno razlikovalo. Osmi dan nakon inokulacije niti eterično ulje eukaliptusa, niti njegove komponente, nisu inhibirale rast micelija gljivice *F. oxysporum*.



**Slika 29.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za *Fusarium oxysporum*

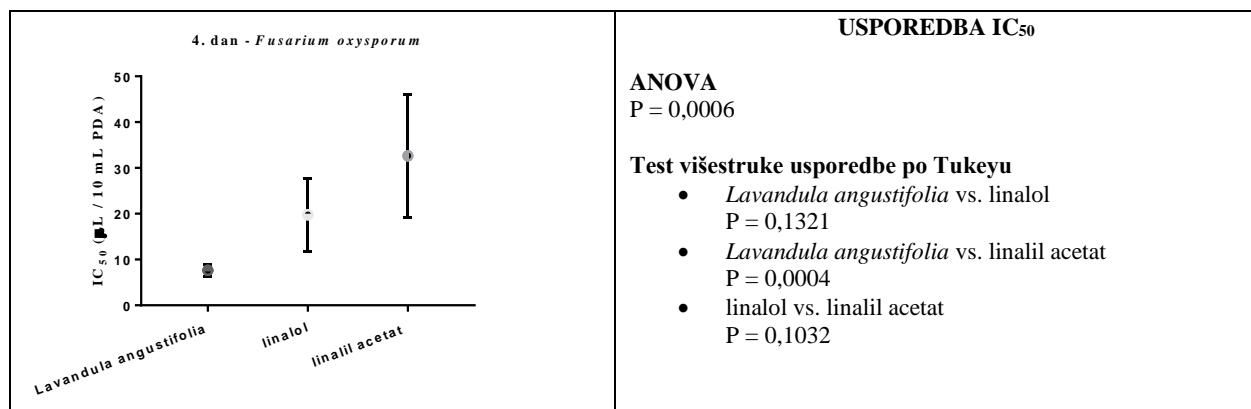
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti eukaliptol i pinen alfa plus (Slika 30) pokazuju kako je četvrti dan eterično ulje ružmarina imalo jači inhibitorni učinak u odnosu na njegovu komponentu eukaliptol (P = 0,0344), ali ne i u odnosu na pinen alfa plus (P = 0,0534). Djelovanje komponenti eukaliptola i pinen alfa plus nije se statistički značajno razlikovalo. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i komponenti eukaliptol i pinen alfa plus za osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale na inhibiciju rasta micelija.



**Slika 30.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

## **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavanda prave (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za *Fusarium oxysporum***

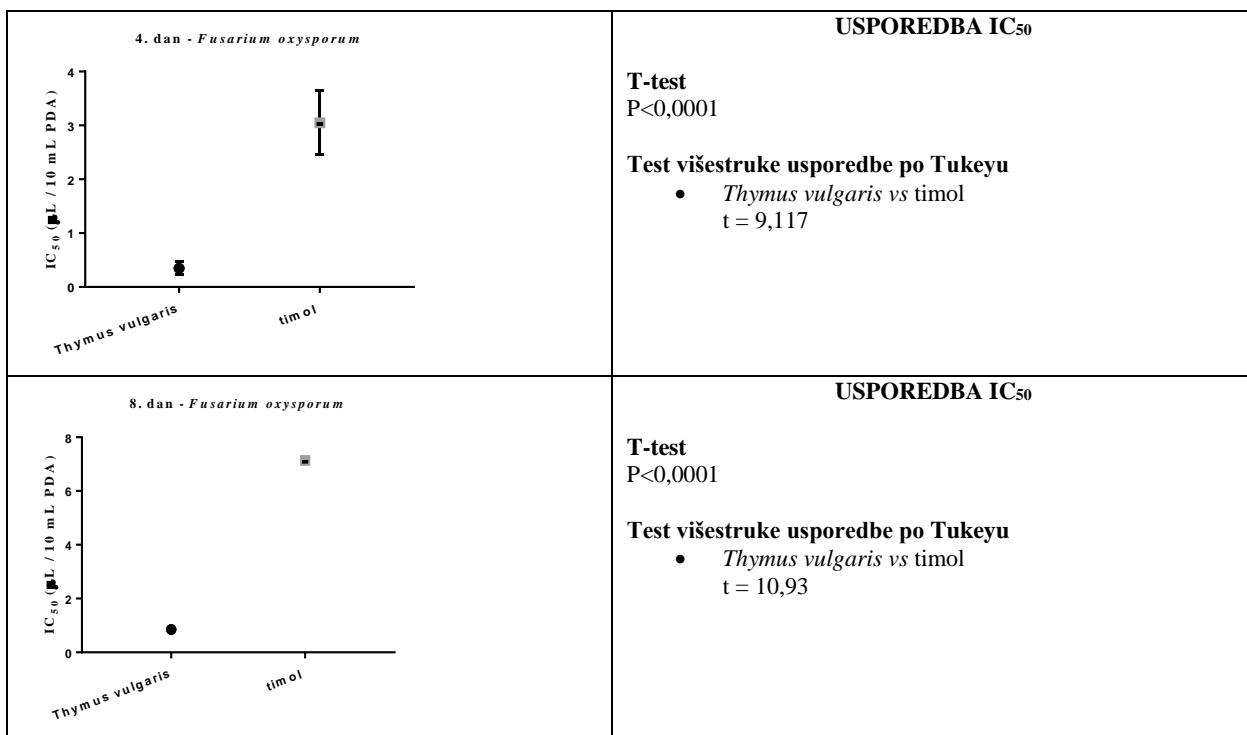
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavande prave (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti linalol i linalil acetat (Slika 31) pokazuju kako je četvrti dan eterično ulje lavande imalo jači učinak u odnosu komponentu linalil acetat ( $P = 0,0004$ ), ali ne i u odnosu na komponentu linalol ( $P = 0,1321$ ). Djelovanje komponenti linalol i linalil acetat nije se statistički značajno razlikovalo. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavande prave (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti linalol i linalil acetat za osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale na inhibiciju rasta micelija *F. oxysporum*.



**Slika 31.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavanda prave (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za *Fusarium oxysporum* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

## **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Fusarium oxysporum***

Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola (Slika 32) izračunati pomoću t-testa pokazuju kako je četvrti dan eterično ulje timijana imalo jači inhibitorni učinak na rast micelija *F. oxysporum* od njegove komponente timola ( $P < 0,0001$ ). Statistički značajna razlika između eteričnog ulja timijana i komponente timola utvrđena je i osmi dan nakon inokulacije.

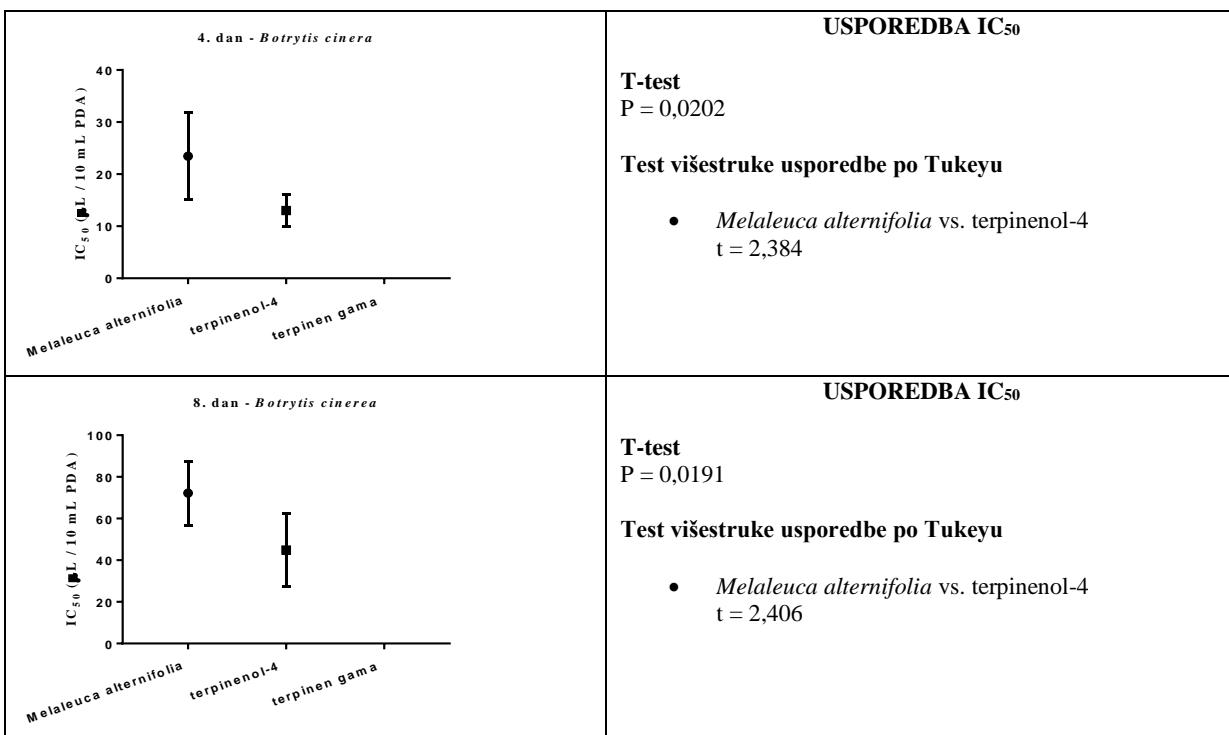


**Slika 32.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Fusarium oxysporum* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tina granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### 4.3.5.2. Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za *Botrytis cinerea*

##### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Botrytis cinerea***

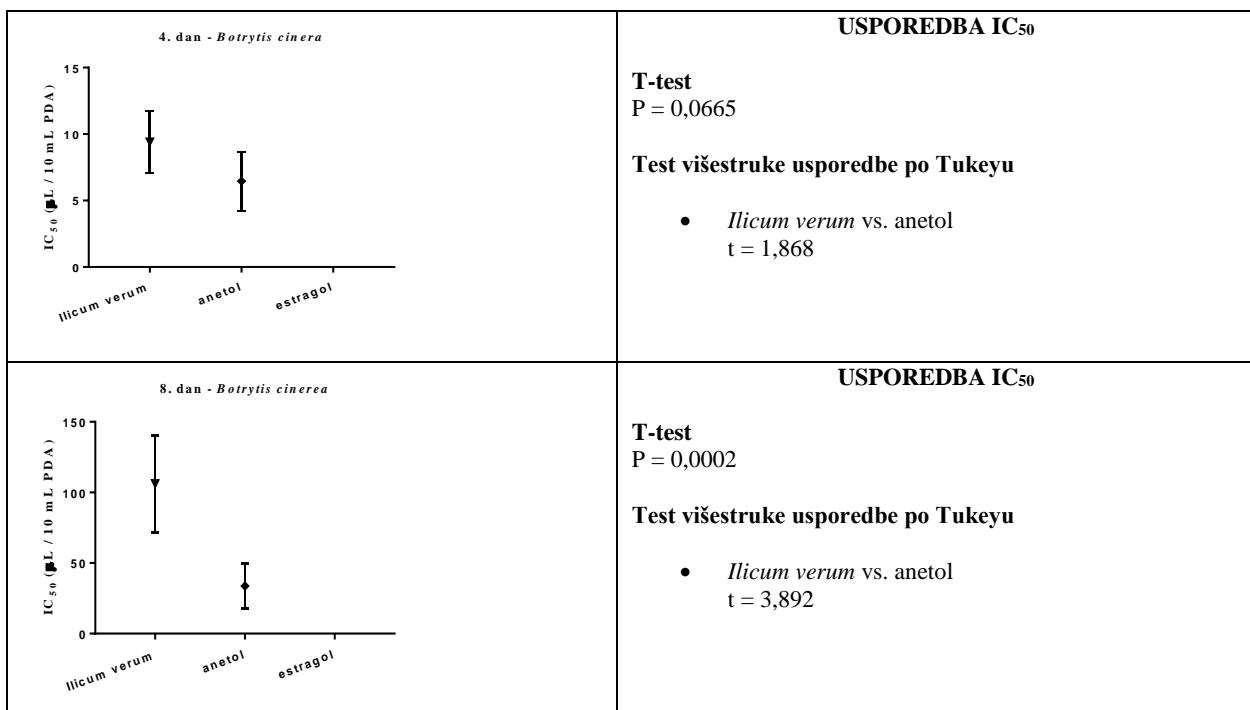
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti terpinenol-4 i terpinen gama za *Botrytis cinerea* (Slika 33) izračunati pomoću t- testa pokazuju za četvrti dan statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) u inhibitornom djelovanju između eteričnog ulja čajevca i njegove komponente terpinenol-4. Komponenta terpinenol-4 bolje je djelovala na inhibiciju micelija nego eterično ulje. Statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja čajevca i njegove komponente terpinenol-4 utvrđena je i nakon osam dana od nacjepljivanja gljive.



**Slika 33.** Usporedba  $IC_{50}$  eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Botrytis cinerea* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao **95 %**-tna granica pouzdanosti za  $IC_{50}$ .

#### *Usporedba $IC_{50}$ eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Botrytis cinerea**

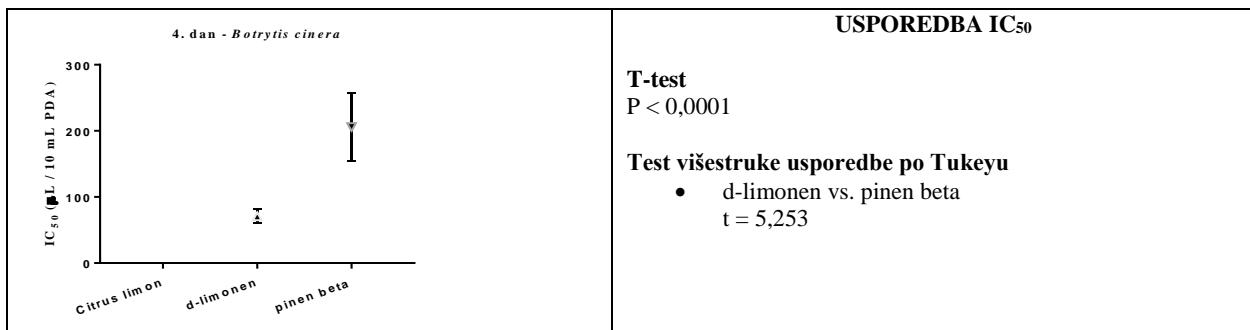
Rezultati usporedbe  $IC_{50}$  eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti anetol i estragol za *Botrytis cinerea* (Slika 34) izračunati pomoću t-testa nisu pokazali za četvrti dan statistički značajnu razliku u djelovanju na rast gljivice između eteričnog ulja anisa i njegove komponente anetola. Statistički značajna razlika između eteričnog ulja anisa i njegove komponente anetola utvrđena je osmi dan ispitivanja gdje je anetol bolje inhibirao rast micelija *B. cinerea* nego eterično ulje. Komponenta estragol nije inhibirala rast micelija niti četvrti niti osmi dan nakon inokulacije.



**Slika 34.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Botrytis cinerea* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Botrytis cinerea***

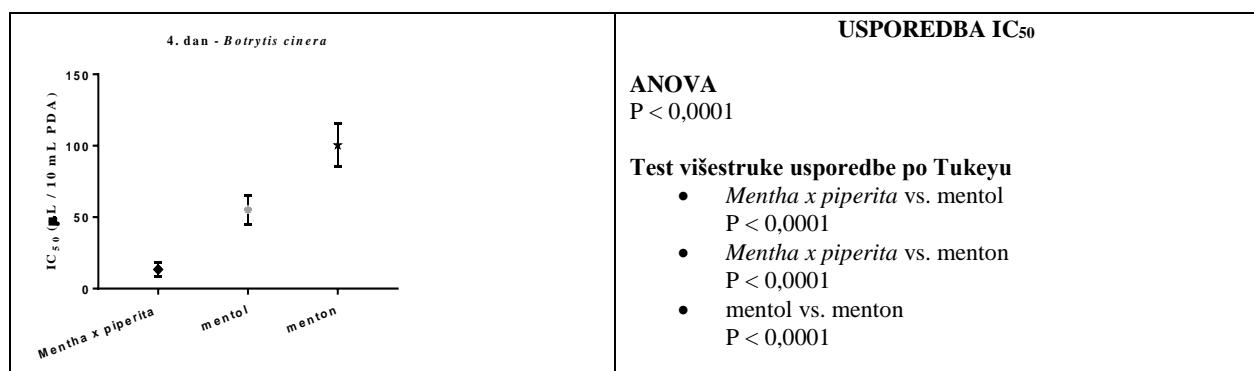
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti d-limonen i pinen beta za *Botrytis cinerea* (Slika 35) pokazuju kako četvrti dan eterično ulje limuna nije djelovalo na inhibiciju rasta micelija. Djelovanje komponenti d-limonen i pinen beta bilo je statistički značajno različito. Komponenta d-limonen imala je jači učinak ( $P < 0,0001$ ) na inhibiciju micelija od komponente pinen beta. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti d-limonen i pinen beta za osmi dan nisu izračunate jer eterično ulje i obje komponente nisu djelovali na inhibiciju rasta micelija.



**Slika 35.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Botrytis cinerea* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Botrytis cinerea***

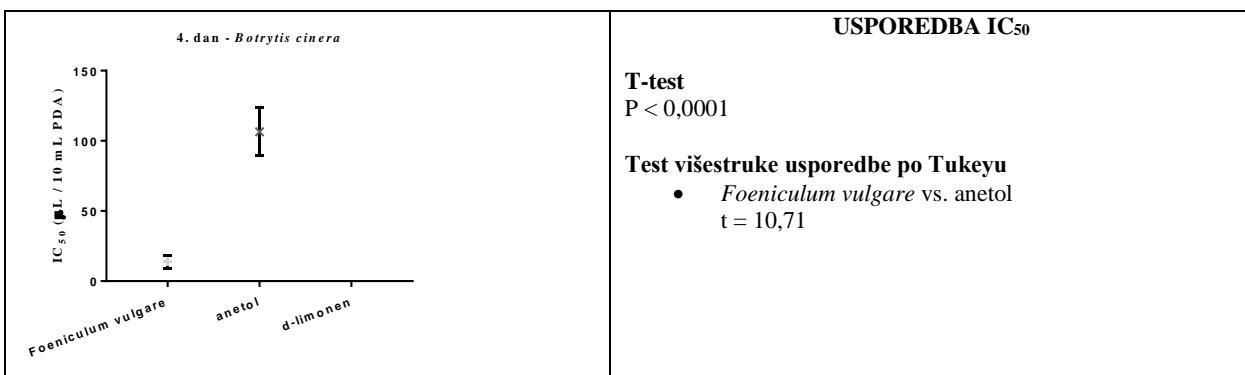
Prikazani rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti mentol i menton za *Botrytis cinerea* (Slika 36) pokazuju kako je četvrti dan utvrđena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja paprene metvice i komponenti mentol i menton. Eterično ulje paprene metvice imalo je jači inhibitorni učinak ( $P < 0,0001$ ) na rast micelija nego obje komponente. Između komponenti mentol i menton također je utvrđena statistički značajna razlika. Slabije inhibitorno djelovanje imala je komponenta menton. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice i komponenti mentol i menton za osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale na inhibiciju rasta micelija gljivice *B. cinerea*.



**Slika 36.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Botrytis cinerea* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Botrytis cinerea***

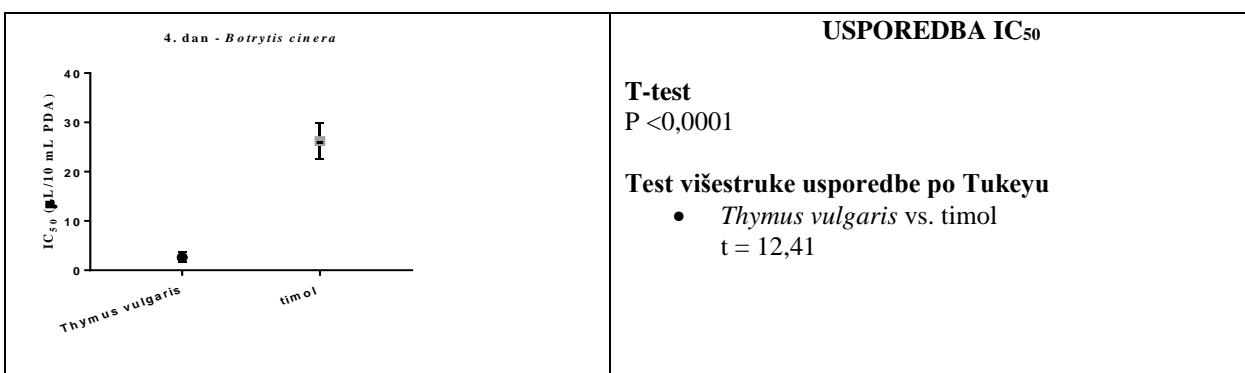
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti anetol i d-limonen (Slika 37) pokazuju kako je četvrti dan utvrđena statistički značajna razlika između eteričnog ulja komorača i njegove komponente anetola dok komponenta d-limonen nije inhibirala rast micelija *B. cinerea*. Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača i komponenti anetol i d-limonen za osmi dan nisu izračunate jer komponente nisu djelovale inhibitorno na ispitivanu fitopatogenu gljivicu.



**Slika 37.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Botrytis cinerea* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

#### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Botrytis cinerea***

Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Botrytis cinerea* (Slika 38) pokazuju kako je četvrti dan utvrđena statistički značajna razlika između eteričnog ulja timijana i njegove komponente timola. Eterično ulje timijana imalo je jači učinak na inhibiciju micelija (P <0,0001) u odnosu na komponentu timol. Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana i komponente timola za osmi dan nije izračunata jer timol nije djelovao na inhibiciju rasta micelija.



**Slika 38.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Botrytis cinerea* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

Usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnih ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*), eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*), ružmarina (*Rosmarinus officinalis*), lavande prave (*Lavandula angustifolia*) i njihovih komponenti nisu izračunate jer komponente tih eteričnih ulja nisu inhibitivne rast micelija gljivice *Botrytis cinerea*.

#### **4.3.5.3. Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za *Colletotrichum coccodes***

##### ***Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Colletotrichum coccodes****

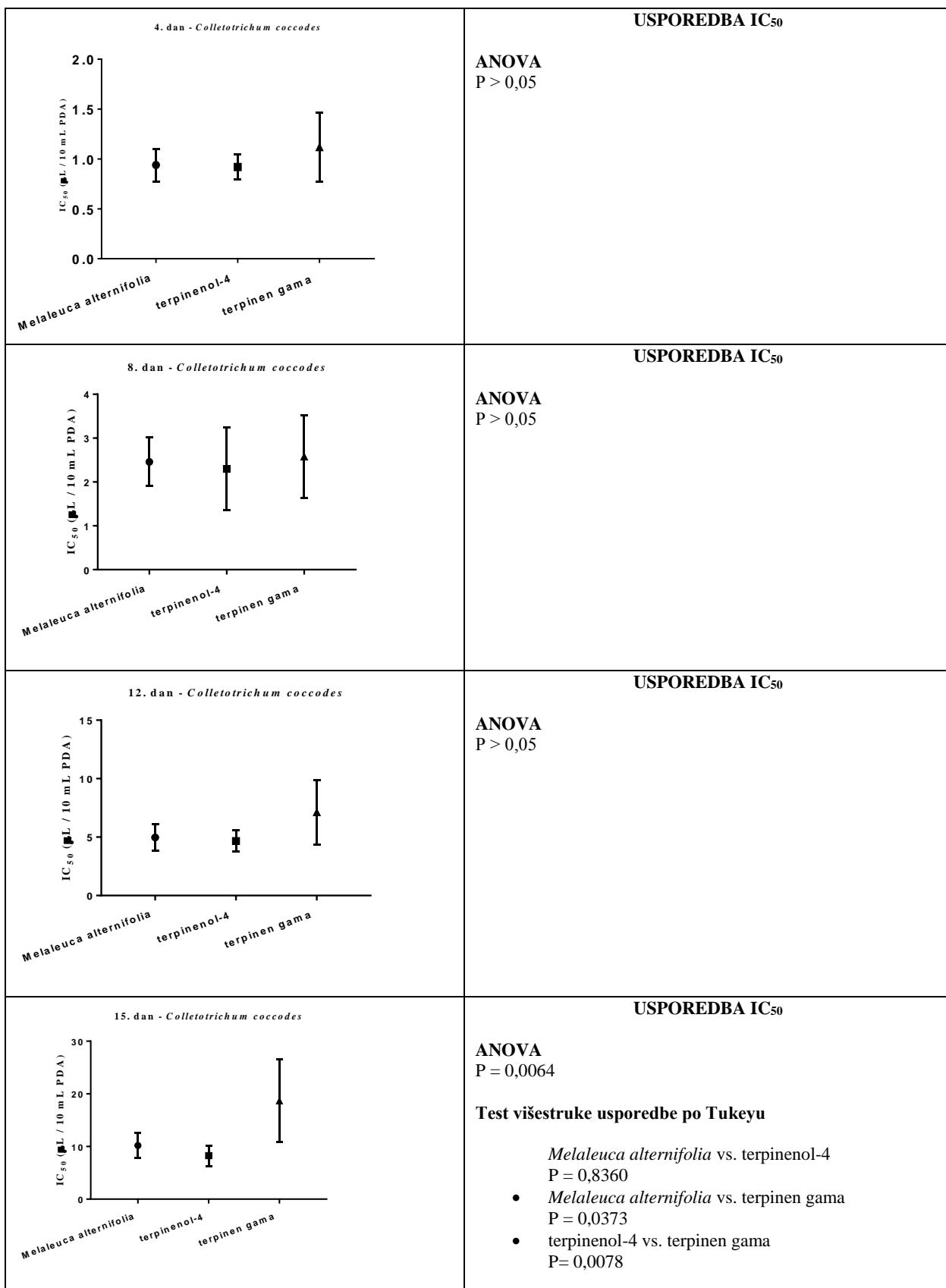
Prikazani rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> (Slika 39) izračunati pomoću ANOVA pokazuju da četvrtog, osmog i dvanaestog dana nije bilo statistički značajnih razlika ( $P>0,05$ ) u djelovanju između eteričnog ulja čajevca i njegovih komponenti terpinenol-4 i terpinen gama kao niti među komponentama. Petnaestoga dana ispitivanja utvrđena je statistički značajna razlika između eteričnog ulja čajevca i komponente terpinen gama kao i među komponentama.

##### ***Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Colletotrichum coccodes****

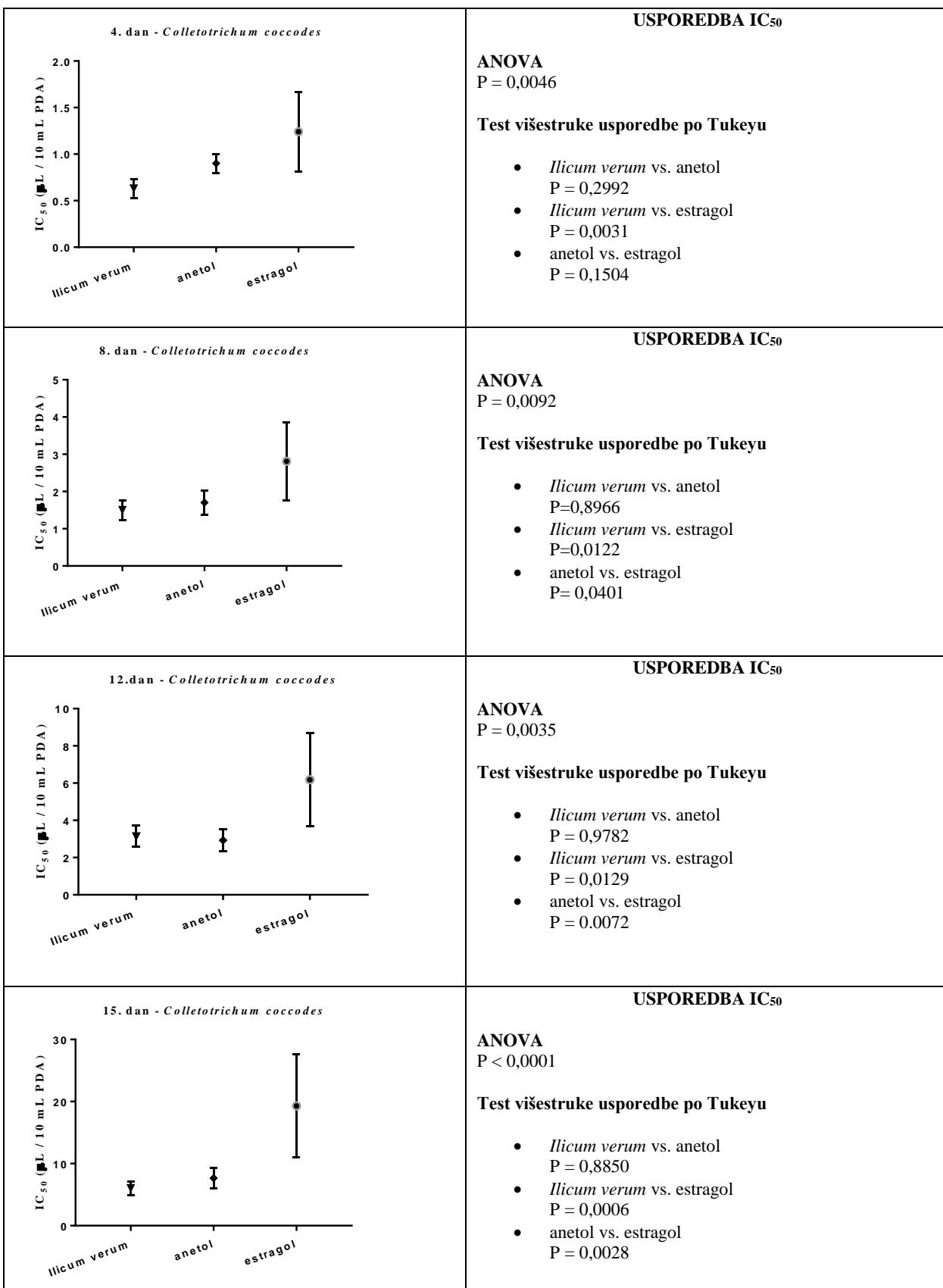
Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti anetol i estragol za *C. coccodes* (Slika 40) pokazuje da četvrti dan nije utvrđena statistički značajna razlika u djelovanju između eteričnog ulja anisa i komponente anetol, ali je statistički značajna razlika utvrđena u odnosu na estragol. Komponente anetol i estragol nisu se statistički značajno razlikovale u inhibiciji rasta micelija. Osmi, dvanaesti i petnaesti dan statistički značajna razlika utvrđena je između eteričnog ulja anisa i komponente estragol kao i između komponenata anetol i estragol. Najslabije djelovanje imala je komponenta estragol.

##### ***Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Colletotrichum coccodes****

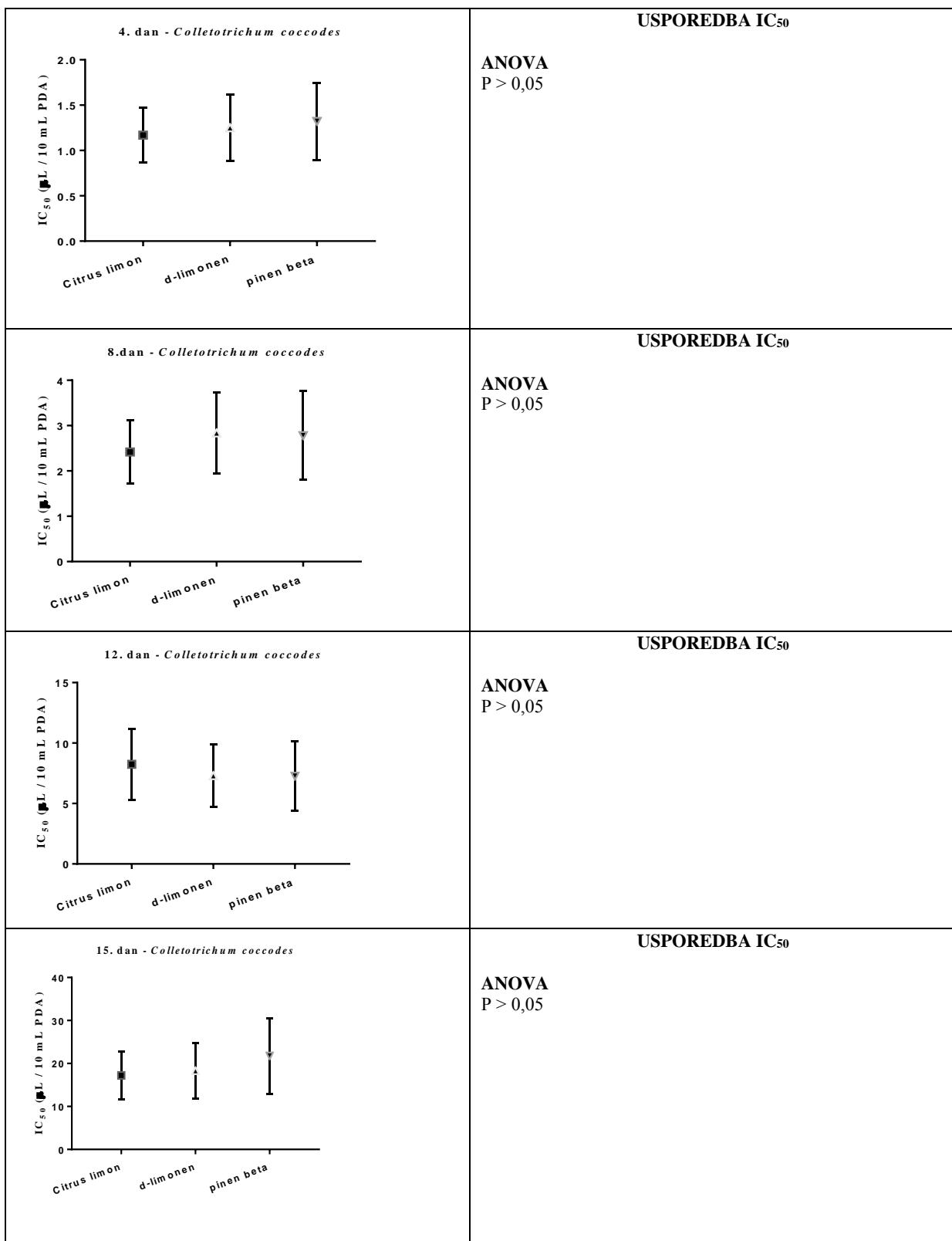
Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti d-limonen i pinen beta za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) (Slika 41) pokazuje da ne postoje statistički značajne razlike između eteričnog ulja i njegovih komponenti, kao niti između ispitivanih komponenti.



**Slika 39.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja čajevca (*Melaleuca alternifolia*) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 40.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja anisa (*Ilicum verum*) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 41.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja limuna (*Citrus limon*) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tina granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Colletotrichum coccodes***

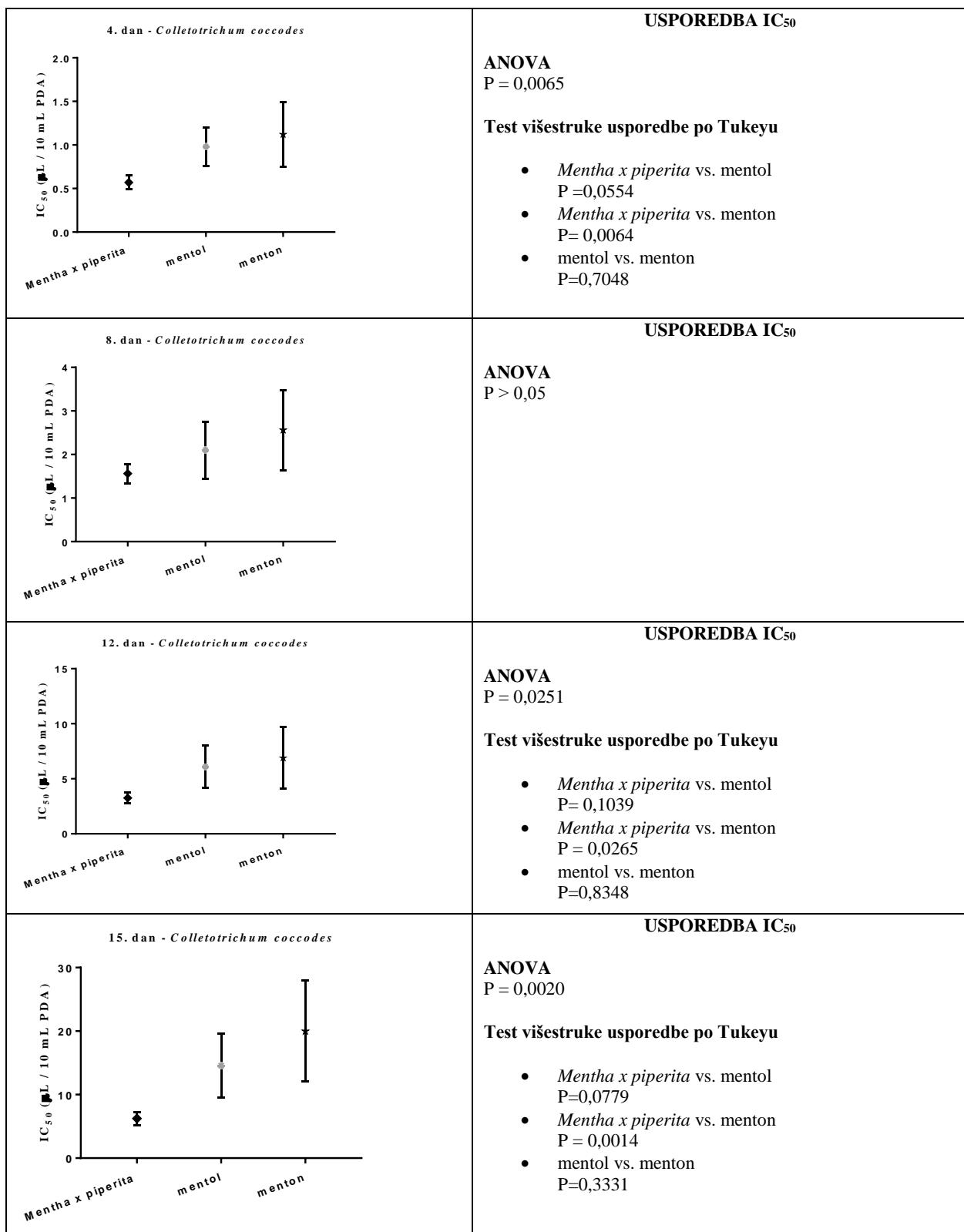
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti mentol i menton (Slika 42) pokazuju da je četvrti dan ispitivanja utvrđena statistički značajna razlika između eteričnog ulja paprene metvice i komponente menton. Statistički značajne razlike nije bilo između eteričnog ulja paprene metvice i mentola te između komponenti mentol i menton. Osmi dan nije bilo statistički značajne razlike ( $P>0,05$ ) između eteričnog ulja i njegovih komponenti niti između samih komponenti. Statistički značajna razlika utvrđena je dvanaesti i petnaesti dan samo između eteričnog ulja paprene metvice i komponente menton. Eterično ulje paprene metvice polučilo je jači učinak od mentona i dvanaestog ( $P = 0,0265$ ) te petnaestog dana ispitivanja ( $P = 0,0014$ ). Između komponenata nisu utvrđene statistički značajne razlike.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Colletotrichum coccodes***

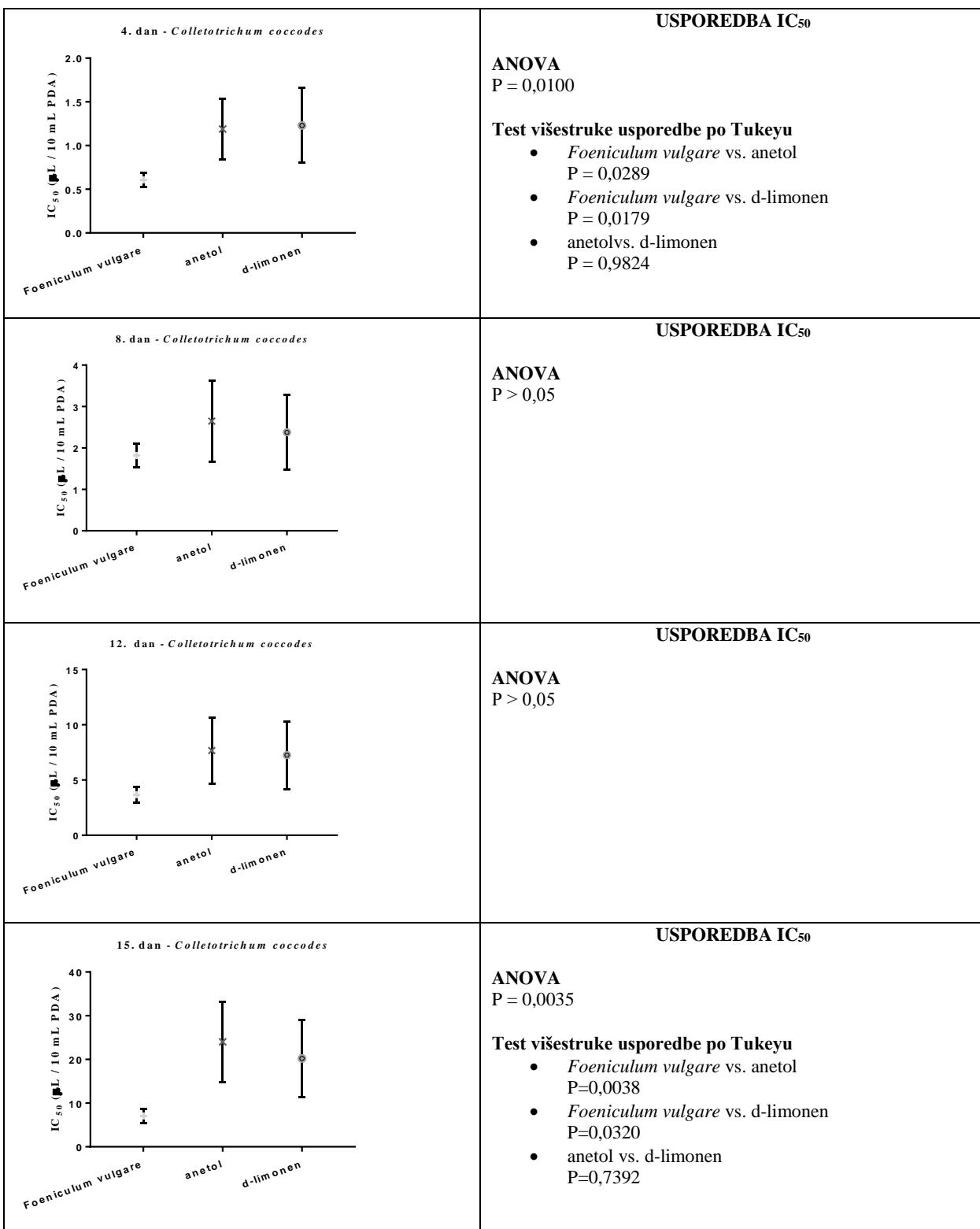
Izračunate vrijednosti IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti anetol i d-limonen (Slika 43) pokazuju za četvrti dan statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između ulja komorača i komponenata anetol i d-limonen. Između komponenata nije bilo statistički značajne razlike. Osmi i dvanaesti dan nije bilo statistički značajnih razlika ( $P>0,05$ ) između eteričnog ulja i njegovih komponenti kao niti među komponentama. Statistički značajne razlike između eteričnog ulja komorača i njegovih komponenti utvrđene su za petnaesti dan. Eterično ulje imalo je jači učinak na inhibiciju rasta micelija od komponenti anetol ( $P=0,0038$ ) i d-limonen ( $P=0,0320$ ). Između anetola i d-limonena nije utvrđena statistički značajna razlika.

### **Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti (estrangol i linalol) za *Colletotrichum coccodes***

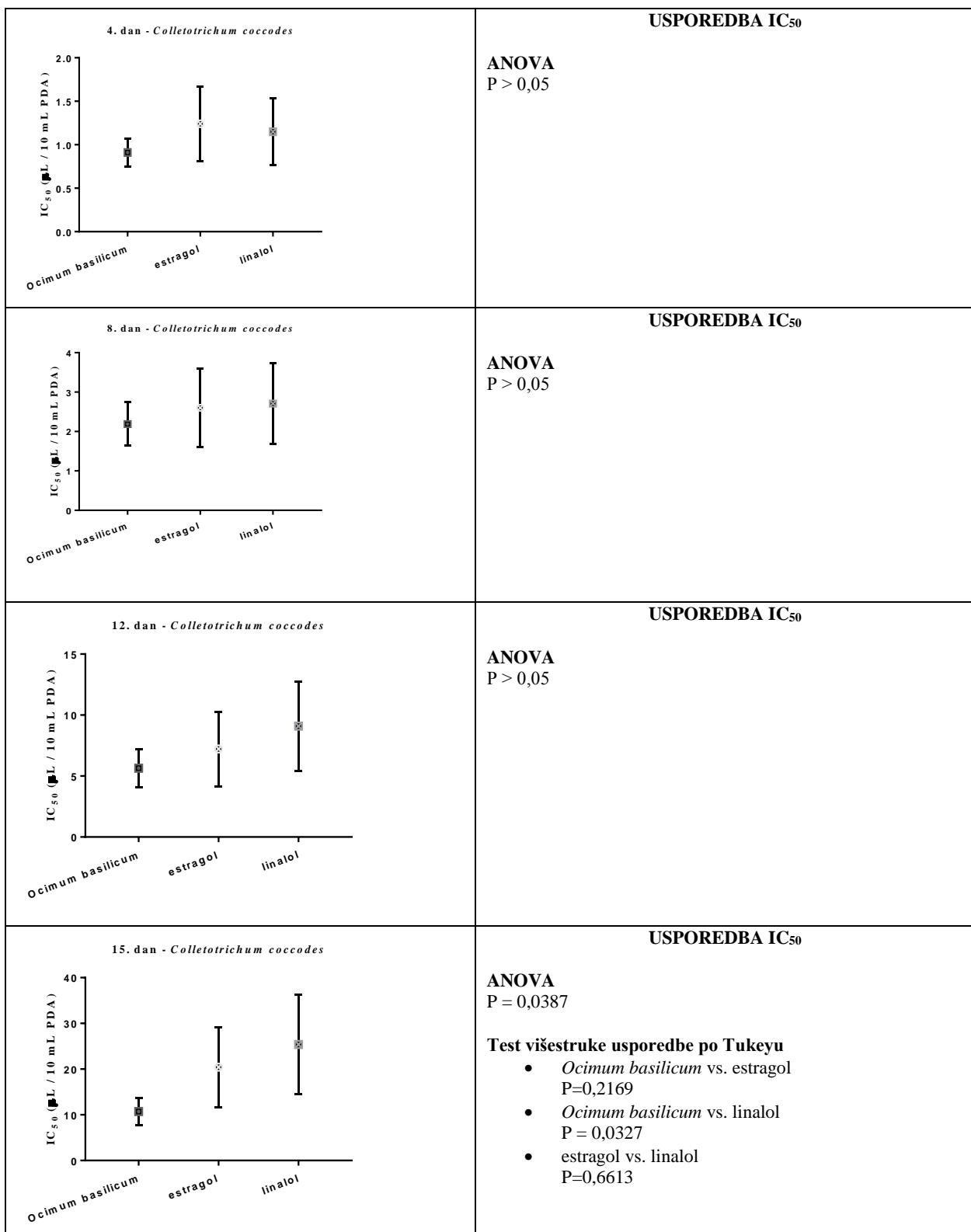
Usporedba vrijednosti IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti estrangol i linalol za *C. coccodes* četvrti, osmi i dvanaesti dan nije pokazala statistički značajne razlike ( $P>0,05$ ) između ulja i njegovih komponenti kao niti među komponentama (Slika 44). Petnaestoga dana utvrđen je jači učinak ( $P = 0,0327$ ) eteričnog ulja bosiljka u odnosu na komponentu linalol. Između eteričnog ulja i estrangola kao i između komponenti estrangol i linalol nije bilo statistički značajnih razlika.



**Slika 42.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja paprene metvice (*Mentha x piperita*) i njegovih komponenti (mentol i menton) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 43.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare*) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tina granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 44.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja bosiljka (*Ocimum basilicum*) i njegovih komponenti (estragol i linalol) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.

**Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za *Colletotrichum coccodes***

Usporedbom IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti eukaliptol i d-limonen za *Colletotrichum coccodes* (Slika 45.) nisu utvrđene statistički značajne razlike ( $P > 0,05$ ) između eteričnog ulja i njegovih komponenti te niti među komponentama.

**Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za *Colletotrichum coccodes***

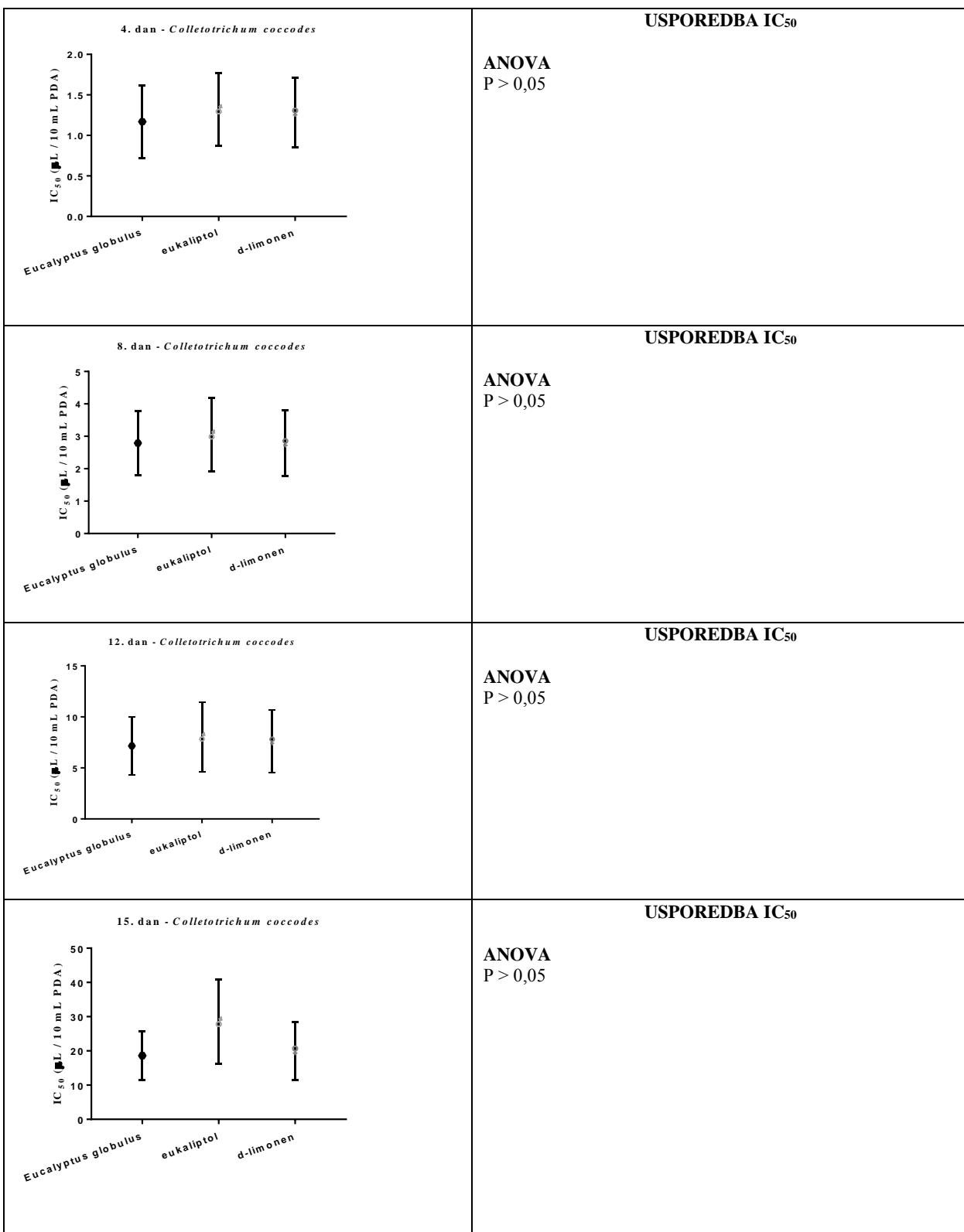
Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti eukaliptol i pinen alfa plus za *C. coccodes* četvrti, osmi i dvanaesti dan nije pokazala statistički značajne razlike ( $P > 0,05$ ) (Slika 46). Petnaestoga dana utvrđen je jači učinak ( $P=0,0277$ ) eteričnog ulja ružmarina u odnosu na komponentu pinen alfa plus. Između komponenti eukaliptol i pinen alfa plus nije bilo statistički značajnih razlika.

**Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavanda prava (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za *Colletotrichum coccodes***

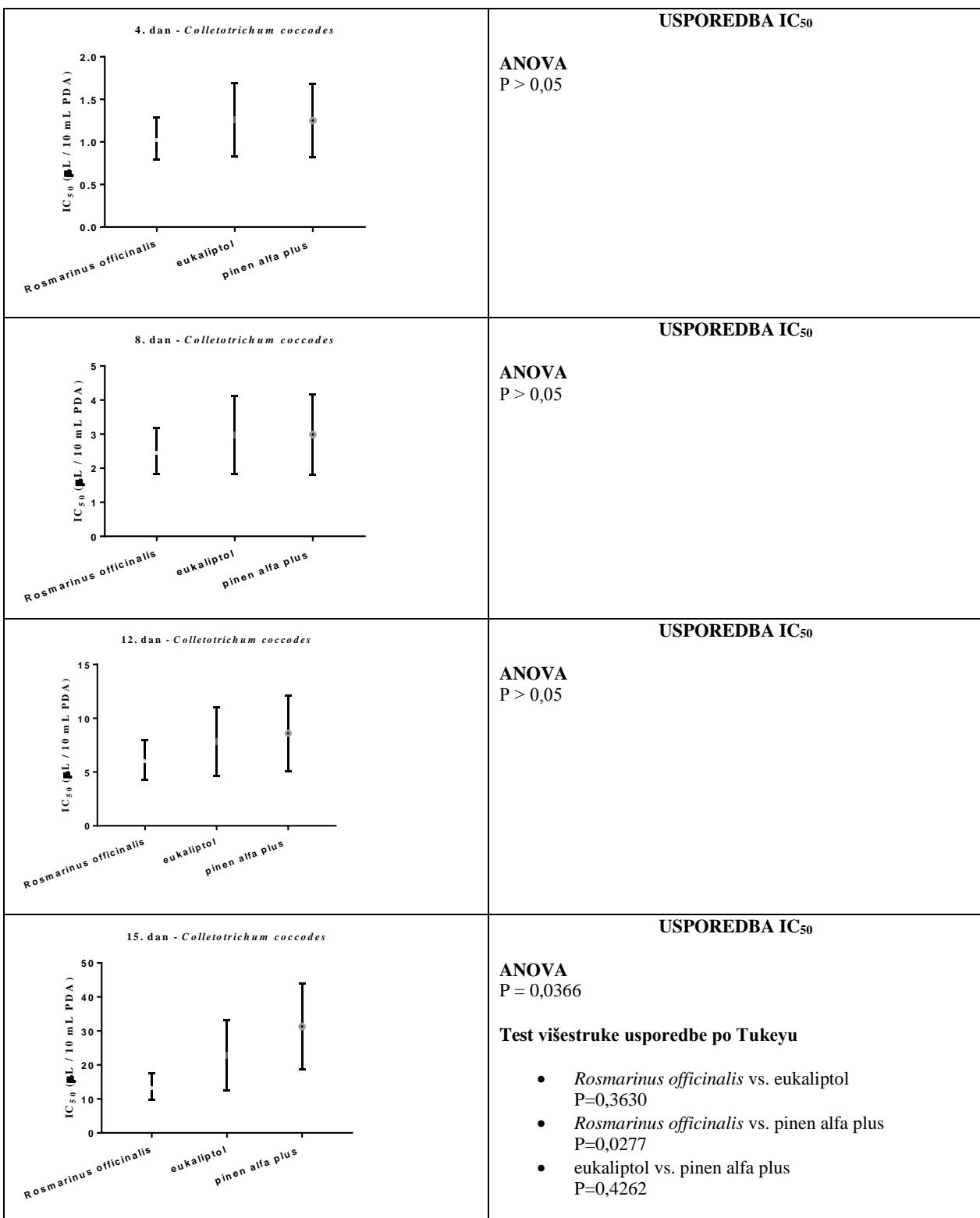
Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavanda prava (*Lavandula angustifolia*) i komponenti ulja linalol i linalil acetat za *C. coccodes* pokazuje da četvrti, osmi i dvanaesti dan nisu utvrđene statistički značajne razlike ( $P>0,05$ ) u njihovom djelovanju (Slika 47). Isto tako, nisu utvrđene statistički značajne razlike u djelovanju između komponenti linalol i linalil acetat. Petnaestoga dana utvrđen je jači učinak ( $P = 0,0041$ ) eteričnog ulja lavande prave u odnosu na komponentu linalil acetat. Između eteričnog ulja i linalola te između komponenti linalol i linalil acetat nije bilo statistički značajnih razlika.

**Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Colletotrichum coccodes***

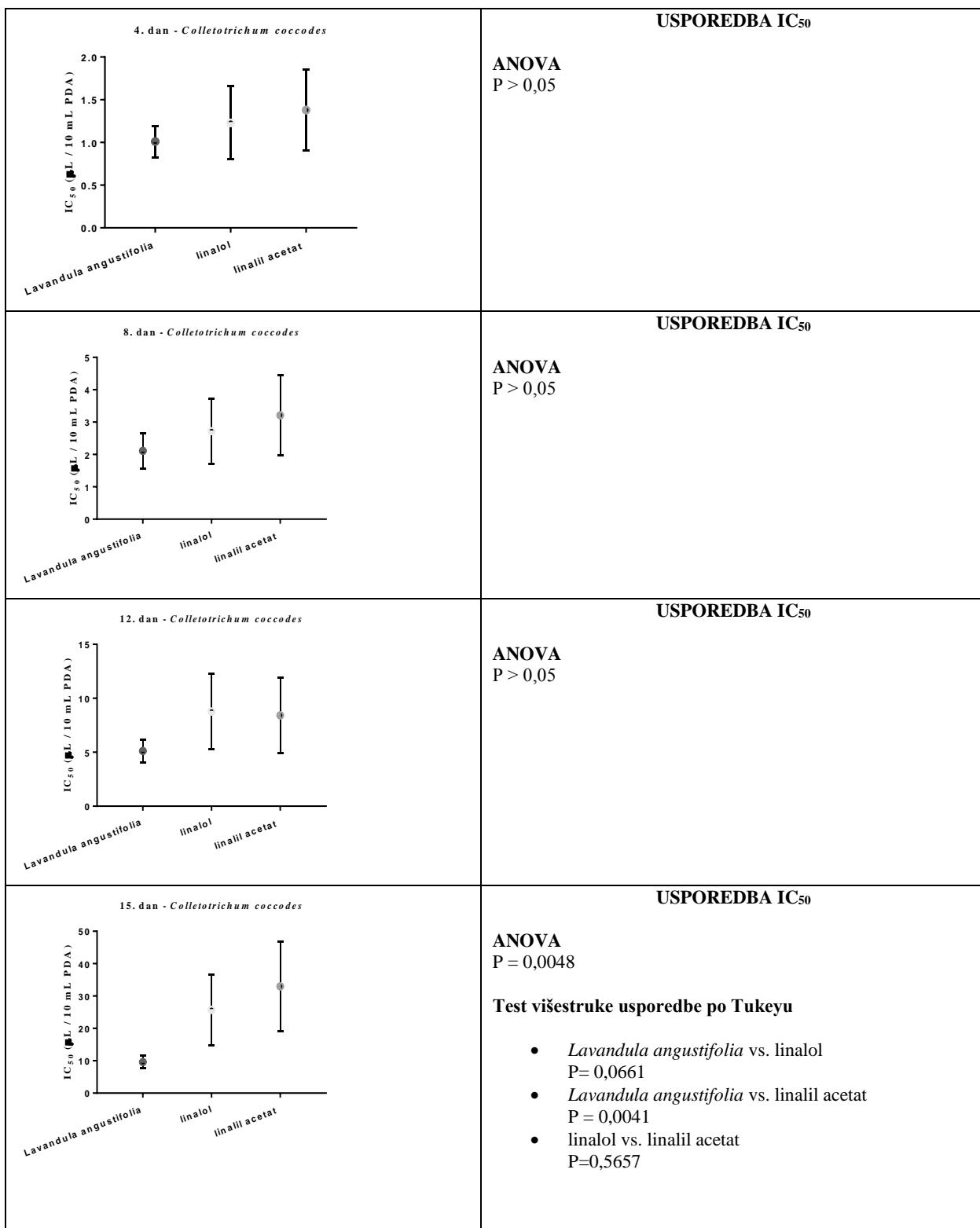
Rezultati usporedbe IC<sub>50</sub> eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *C. coccodes* (Slika 48) pokazuju statistički značajne razlike u djelovanju između eteričnog ulja i njegove komponente. Eterično ulje timijana polučilo je jači negativni učinak ( $P < 0,0001$ ) na rast micelija *C. coccodes* u odnosu na komponentu timol.



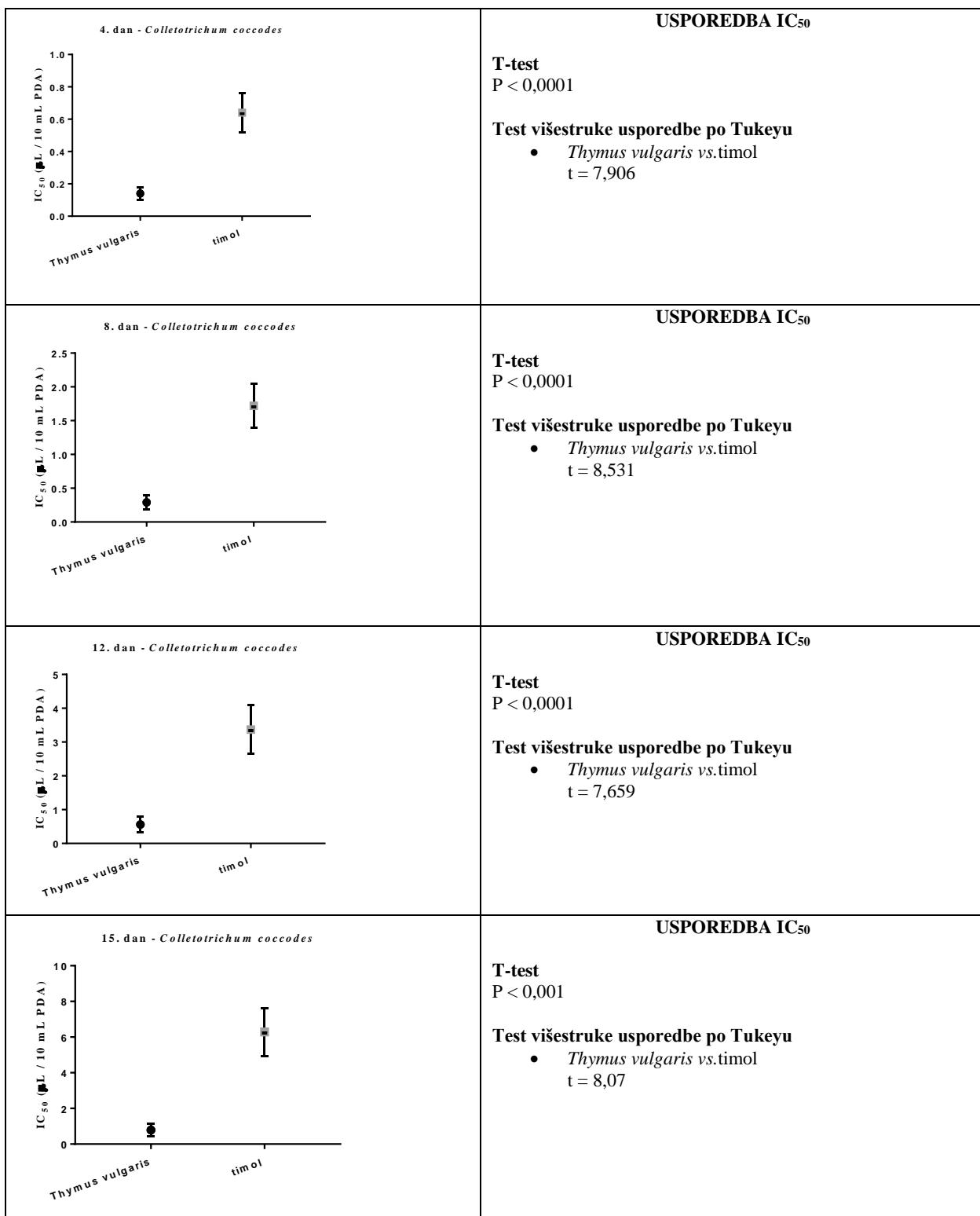
**Slika 45.** Usپoredba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 46.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 47.** Usporedba IC<sub>50</sub> eteričnog ulja lavanda prava (*Lavandula angustifolia*) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za *Colletotrichum coccodes* pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za IC<sub>50</sub>.



**Slika 48.** Usporedba  $IC_{50}$  eteričnog ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i njegove komponente timola za *Colletotrichum coccodes* pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao 95 %-tna granica pouzdanosti za  $IC_{50}$ .

## **5. Rasprava**

Uporaba sredstava za zaštitu bilja omogućila je poljoprivrednim proizvođačima da mijenjaju proizvodne sustave i povećavaju produktivnost proizvodnje bez većih gubitaka nastalih zbog povećane osjetljivosti na štetne organizme. Međutim, unatoč izraženom povećanju uporabe sredstava za zaštitu bilja gubici u proizvodnji nisu značajno smanjeni tijekom posljednjih 40 godina (Oerke, 2006).

Iako su zabilježeni mnogi napor i studije za postizanje učinkovitije zaštite poljoprivrednih kultura i prilagodbe količine pesticida stvarnoj potrebi, s manje negativnim utjecajem na okoliš, poput uporabe molekula (Villalobos i Fereres, 2016) i kombiniranja biocidnih efekata fungicida s peroksiostenom kiselinom (PAA) te minimaliziranje količine primijenjenih fungicida za više od 95% (Ayoub i sur. 2017), nije u potpunosti riješena mogućnost izostanka uporabe sredstava za zaštitu bilja pa tako ni njihova štetnog utjecaja na zdravlje ljudi, na zagađenje prirode i okoliša. Osim toga, zamjena sintetičkih fungicida anorganskim i organskim solima, koje su netoksične za potrošače i za okoliš, također dobiva sve veću pažnju (Youssef i sur. 2017).

Ekosustavi su često izloženi primjeni kombinacija sredstava za zaštitu bilja koji ciljaju različite skupine štetnih organizama. U tim su slučajevima, između ostalog, negativni utjecaji posljedica potencijalnih izravnih interakcija među sredstvima za zaštitu bilja (Dawoud i sur. 2017). Mjere u poljoprivredi kao što je navodnjavanje otpadnim vodama i primjena mulja, također mogu utjecati na sudbinu pesticida, a time i na rizik od ostataka pesticida koji se nalaze u okolišu (Jing i sur. 2017). Naročito je teška situacija onečišćenja od pesticida povezana s primjenom, skladištenjem i odlaganjem pesticida te poznavanjem načina postupanja s pesticidima u zemljama trećeg svijeta. Najzastupljeniji pesticidi u pregledanim istraživanjima su organo-kloridi kao što su diklorodifeniltrikloretan (DDT), endosulfan i heksaklorocikloheksan (HCH) te su potrebna dodatna ulaganja u kontinuirano praćenje primjene pesticida i edukaciju poljoprivrednika o pravilnom postupanju s pesticidima (Elibariki i Maguta, 2017).

Iako su mnoge studije pokazale da izloženost ljudi pesticidima, naročito neonikotinoidima, rezultira nepovoljnim razvojnim ili neurološkim ishodima (Cimino i sur. 2017) i drugim anomalijama, još uvijek je nedovoljna pozornost posvećena smanjenju prekomjerne uporabe sintetičkih pesticida. Podizanje svijesti o zdravstvenim i okolišnim rizicima pri uporabi sintetičkih pesticida, potaknulo je potragu za novim i sigurnijim alternativama. Korištenje prirodnih biljnih proizvoda uključujući eterična ulja, obećavajuća je alternativa nastojanjima da se spasi prirodni okoliš i zdravlje ljudi.

Iako su provedena mnoga ispitivanja o utjecaju eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice, ovdje opisana kombinacija eteričnih ulja i njihovih komponenti primijenjena u tim volumenima na istraživane gljivice, nije se pojavila u dosadašnjim istraživanjima.

### **5.1. Odnos primijenjenih doza fungicida s kontrolom**

Da bi se utvrdio porast micelija fitopatogenih gljivica *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* kao i djelovanje fungicida na patogene ispitani je odnos primijenjenih doza fungicida s kontrolom.

Mjerenja su pokazala potpunu inhibiciju rasta gljivice *Fusarium oxysporum* četvrtog i osmog dana nakon promjene fungicida Prosaro EC 250 u svim primijenjenim dozama, dok je kod kontrole porast micelija bio  $68\pm0,0$  mm četvrti, odnosno  $90\pm0,0$  mm osmi dan. Iako fungicid Prosaro EC 250 nije registriran za primjenu na rajčici, rezultati su u skladu s očekivanjima budući da je registriran za suzbijanje gljivice *Fusarium* spp. u kukuruzu i pšenici (Fitosanitarni informacijski sustav, 2017).

Fungicid Switch 62,5 WG četvrtog dana ispitivanja potpuno je inhibirao rast gljivice *Botrytis cinerea*. Osmi dan nakon inokulacije promjer rasta micelija iznosio je  $24\pm3,1$  mm, odnosno  $23\pm2,9$  mm, ovisno o primijenenoj dozi. U kontrolnoj varijanti porast micelija je iznosio  $90\pm0,0$  mm već četvrti dan nakon inokulacije. Switch 62,5 WG je kombinirani fungicid za suzbijanje bolesti u voćarstvu i vrtlarstvu. Primjenjuje se protiv sive (*Botrytis cinerea*) i bijele truleži (*Sclerotinia* spp.) na rajčici i paprici u dozi od 60 - 100 g na 100 l vode. Dozvoljene su tri primjene tijekom vegetacije u razmacima od 10 do 14 dana između primjena (Fitosanitarni informacijski sustav, 2017). Rezultati ispitivanja pokazuju da fungicid Switch 62,5 WG ima djelovanje u skladu s proizvođačkom specifikacijom nakon četvrtog dana ispitivanja. Međutim, djelotvornost na gljivicu *Botrytis cinerea* u *in vitro* uvjetima mu opada i već osmi dan ju ne suzbija u potpunosti kako očekujemo. Prema dozvoljenim razmacima primjene, trebao bi djelovati najmanje desetak dana.

Promjer rasta micelija *Colletotrichum coccodes* kod primjene fungicida Dithane M45 iznosio je od  $8\pm0,0$  mm četvrti dan, do  $31\pm1,0$  mm petnaesti dan nakon inokulacije. Kod fungicida Ortiva Top izmjerene vrijednosti promjera micelija bile su od  $6\pm0,0$  mm četvrti dan, do  $11\pm0,6$  mm petnaesti dan nakon inokulacije. U kontroli je izmjerena porast micelija od  $18\pm0,5$  mm četvrti dan, do  $55\pm0,5$  mm petnaesti dan.

Dithane M45 primjenjuje se za suzbijanje velikog broja uzročnika bolesti kao što su plamenjača krumpira i rajčice (*Phytophthora infestans*), crna koncentrična pjegavost lišća krumpira i rajčice (*Alternaria solani*), krastavost jabuka i krušaka (*Venturia inaequalis*, *Venturia pirina*), kožičavost trešnja i višanja (*Blumeriella jaapii*), ali i antraknoze jagoda čiji su uzročnici vrste iz roda *Colletotrichum* (Fitosanitarni informacijski sustav, 2017).

Ortiva Top je kombinirani sistemični fungicid koji je u Hrvatskoj registriran za suzbijanje bolesti u povrću i šećernoj repi. Sredstvo se primjenjuje preventivno ili kada se primijete prvi simptomi bolesti. Dozvoljene su najviše tri primjene tijekom jedne vegetacije, uz razmak od 8 dana između primjena (Fitosanitarni informacijski sustav, 2017).

Iako fungicidi Dithane M45 i Ortiva Top nisu registrirani za suzbijanje *Colletotrichum coccodes* u rajčici iz koje je izolirana gljivica, rezultati pokazuju da postoji izvjesno fungicidno djelovanje i na tu gljivicu u odnosu na ne tretiranu kontrolu. U nedostatku adekvatnog fungicida za suzbijanje *Colletotrichum coccodes* u rajčici, a prema rezultatima ovog ispitivanja, ovi bi se fungicidi mogli primijeniti i za zaštitu od uzročnika antraknoze budući da su registrirani za ovu povrtnu kulturu.

Rezultati mjerjenja promjera micelija tri fitopatogene gljivice *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* su pokazali da fungicidi imaju različito djelovanje na fitopatogene gljivice, ali su u odnosu na ne tretiranu kontrolu uvijek pokazali bolji učinak, a to je u skladu s očekivanjima.

## **5.2. Odnos primjenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti s promjerom rasta micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

Rezultati mjerenja promjera micelija ispitivanih fitopatogenih gljivica pokazali su smanjenje rasta micelija ovisno o primjenjenom volumenu eteričnih ulja, i to u odnosu na kontrolu i/ili u odnosu na njihove glavne komponente. Najslabije djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti pokazalo se kod najmanjih primjenjenih volumena, a najbolje u primjenjenom volumenu 70 µL / 10 mL PDA.

Dobiveni rezultati ispitivanja u skladu su s rezultatima brojnih znanstvenika koji su ispitivali antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice i koji navode da njihova aktivnost ovisi o primijenenoj količini odnosno koncentraciji (Duduk i sur. 2015; Elshafie i sur. 2015; Adabay i sur. 2013, Van Hung i sur. 2013; Lu i sur. 2013; Moghaddam i sur. 2013; Viuda-Martos i sur. 2008; Edris i Farrag, 2003). Međutim, antifungalna svojstva eteričnih ulja ovise i o svojstvima biljaka iz kojih su ekstrahirana, koncentraciji ispitivanih eteričnih ulja i uvjetima ispitivanja (Piyo i sur. 2009). Karimi i sur. (2016) također navode da je inhibitorni potencijal eteričnih ulja protiv različitih mikroorganizama ovisan o različitim čimbenicima kao što su vrsta eteričnog ulja, vrsta patogena i vrsta domaćina.

Četvrti dan od inokulacije uz primjenu 7 µL ulja / 10 mL PDA samo je eterično ulje timijana potpuno inhibiralo rast micelija i to samo jedne gljivice (*Fusarium oxysporum*). Prema učinkovitosti za njim slijede eterična ulja komorača, anisa, paprene metvice, komponenta anetol, eterično ulje čajevca, lavande prave, komponenta terpinonol-4 i eterično ulje bosiljka. Ostala eterična ulja i komponente nisu potpuno inhibirale rast micelija niti u najvećim primjenjenim volumenima.

Osmi dan ispitivanja eterična ulja timijana, paprene metvice, čajevca, bosiljka i komponenta terpinenol-4 potpuno su inhibirali rast micelija *Fusarium oxysporum* u istom volumenu kao i četvrti dan. Eterična ulja komorača, lavande prave, anisa i komponente anetol potpuno su inhibirale rast micelija pri većim volumenima nego četvrti dan. Rezultati su pokazali da su ta eterična ulja i komponente, primjenjeni u volumenu u kojem su potpuno inhibirali rast micelija *F. oxysporum*, imala isti učinak u odnosu na kontrolu kao fungicid Prosaro EC 250.

Dobiveni rezultati su u skladu s ispitivanjima El-Mohamedy i sur. (2013) koji su ispitujući inhibitornu aktivnost nekim alternativama fungicida na rast nekih gljivica iz tla (*Fusarium oxysporum radicis-lycopersici*, *F. oxysporum lycopersici*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium sp.* i *Phytophthora sp.*) utvrdili da je znatno smanjen rast micelija s povećanjem primjenjenih koncentracija eteričnih ulja. Minimalni rast micelija utvrdili su pri najvišoj primjenenoj koncentraciji, a kompletna inhibicija rasta gljivica uočena je pri 1,5 %-tnoj koncentraciji svih testiranih eteričnih ulja. Dobro djelovanje eteričnog ulja timijana u ovom ispitivanju u skladu je i s ispitivanjima Alam i sur. (2014) koji navode da je eterično ulje *Thymus capitatus* L. u količini 2 µg / mL u potpunosti inhibiralo rast gljivica uzročnika truleži (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1* i *Penicillium sp2*). Osim toga, Elshafie i sur. (2015) su u *in vivo* uvjetima

testirali potencijalno fungistatično odnosno fungicidno djelovanje eteričnih ulja timijana (*Thymus vulgaris*) i verbene (*Verbena officinalis*) u različitim koncentracijama protiv *Monilinia laxa*, *Monilinia fructigena* i *Monilinia fructicola*. Utvrđili su da su najveći primjenjeni volumeni eteričnog ulja verbene (1000 µL / L) i timijana (500 µL / L) značajno smanjili promjer smeđih lezija dok su manji volumeni eteričnog ulja verbene (500 µL / L) i timijana (250 µL / L) polučili nisku učinkovitost.

Moghaddam i sur. (2013) navode da su u *in vitro* uvjetima minimalne djelotvorne količine eteričnog ulja *Mentha piperita* različite ovisno o vrsti patogena. Utvrđili su da volumeni ulja 800 µL / L i 1600 µL / L mogu potpuno inhibirati rast micelija *Dreschlera spicifera*, a primjena 1600 µL / L potpuno inhibira rast micelija *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*.

Rezultati naših ispitivanja učinka eteričnih ulja na rast micelija *Botrytis cinerea* pokazali su da četvrti dan od inokulacije eterična ulja timijana, paprene metvice, komorača, čajevca, bosiljka i ružmarina te komponente anetol i terpinenol-4, primjenjeni u određenom manjem ili većem volumenu, imaju isti učinak u odnosu na kontrolu kao fungicid Switch 62,5 WG i potpuno inhibiraju rast gljivice. Najbolji učinak imalo je eterično ulje timijana koje je potpuno inhibiralo rast micelija u volumenu 9 µL / 10 mL PDA.

Međutim, osmi dan ispitivanja eterična ulja timijana, paprene metvice, komorača i bosiljka te komponente anetol i terpinenol-4 imaju bolje djelovanje od fungicida Switch 62,5 WG. Osmog dana fungicid nije potpuno inhibirao rast micelija *B. cinerea*, dok su navedena ulja i komponente potpuno inhibirala njegov rast. Najmanji volumen pri kojem je utvrđena potpuna inhibicija rasta micelija iznosio je 15 µL / 10 mL PDA i to za eterično ulje timijana. Naši rezultati su u skladu s rezultatima drugih istraživača koji navode da antifungalna aktivnost eteričnih ulja ovisi o primjenjenoj količini odnosno koncentraciji. Tako su Li i sur. (2017) utvrđili da učinak eteričnog ulja čajevca na rast micelija *B. cinerea* i *Penicillium expansum* ovisi o količini eteričnog ulja. Pri 1,00 mL / L, eterično ulje čajevca inhibiralo je rast *B. cinerea* 77,16 % i *P. expansum* 27,77 %. Inhibicija rasta micelija se povećava s povećanjem količine eteričnog ulja. U količini 1,5 mL ulja / L, inhibicija *B. cinerea* je 99,02 %, dok je za *P. expansum* količina 4,0 mL / L rezultirala 98,62 %-tnom inhibicijom rasta micelija. Rast micelija u potpunosti je inhibiran s 2,0 i 6,5 mL ulja / L za *B. cinerea* odnosno *P. expansum*. Marandi i sur. (2011) su utvrđili da je *Thymus kotschyanus* imao najjaču antifungalnu aktivnost u *in vitro* uvjetima i potpuno inhibirao rast gljivica u volumenima iznad 200 µL / L. Adabay i sur. (2013) su pak u svojem ispitivanju djelovanja eteričnih ulja *Origanum vulgare* i *Monarda didyma* te komercijalne formulacije ulja timijana (Gloves Off®) protiv uzročnika sive pljesni jagoda (*B. cinerea*) utvrđili da su učinci različitih volumena eteričnih ulja i komercijalne formulacije ovisni o primjenjenim dozama. Znatno smanjenje rasta micelija u tretmanu s eteričnim uljima bilo je pri 51,2 µg ulja / mL, a pri 200 µg / mL komercijalna formulacija eteričnog ulja timijana potpuno je inhibirala rast micelija. Isto tako, Aminifard i Mohammadi (2013) navode da je rast *B. cinerea* u *in vitro* uvjetima potpuno inhibiran primjenom ulja crnog kima i komorača u volumenima 400 i 600 µL / L.

Eterično ulje eukaliptusa u našem ispitivanju nije potpuno inhibiralo rast micelija niti u najvećem primjenjenom volumenu od 70 µL / 10 mL PDA premda Lee i sur. (2007) navode da ulje eukaliptusa (*Eucalyptus citriodora*) ima jako fungistatično djelovanje na porast micelija gljive *B. cinerea*, ali i da inhibicija raste s povećanjem primjenjene količine eteričnih ulja.

Mjerenjem promjera micelija *Colletotrichum coccodes* u našem istraživanju, utvrđeno je da se povećanjem primijenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti usporava rast micelija, odnosno da postoji međuodnos između primijenjenog volumena i učinka. Potpunu inhibiciju rasta micelija četvrti dan imala su eterična ulja timijana, anisa, paprene metvice, komorača, lavande prave, čajevca, bosiljka, ružmarina te komponente terpineol-4, anetol i timol. Osmog dana eterično ulje ružmarina i komponenta timol niti u najvećem primijenjenom volumenu više nisu u potpunosti inhibirali rast micelija *C. coccodes*, isto kao niti eterična ulja lavande prave i čajevca dvanaestog dana. Komponente anetol i timol petnaestog dana ispitivanja nisu potpuno inhibirale rast micelija, ali je izmjerен manji promjer micelija nego kod fungicida Dithane M45 i Ortiva Top. Rezultati mjerenja za petnaesti dan su pokazali da eterična ulja timijana, komorača, paprene metvice, anisa i bosiljka te komponente terpinenol-4, anetol i timol djeluju u određenim volumenima bolje od fungicida Dithane M45 i Ortiva Top u svim primijenjenim dozama. Naši rezultati istraživanja djelovanja eteričnih ulja i njihovih komponenti na rast micelija *C. coccodes* u skladu su s istraživanjima Lu i sur. (2013) koji su u ispitivanju antimikrobne aktivnosti 29 eteričnih ulja iz kineskog autohtonog bilja na *Alternaria alternata*, *Colletotrichum destructivum* i *Phytophthora parasitica* utvrdili da jačina inhibicije ovisi o koncentraciji pripravka i eteričnih ulja. Dobro djelovanje eteričnog ulja timijana *in vitro* utvrdili su i Zambonelli i sur. (1996). U njihovom istraživanju najučinkovitije je bilo ulje timijana, a fungicidna aktivnost pripisana je timolu, koji je u testiranom ulju bio zastupljen s 50,06 %. Duduk i sur. (2015) su utvrdili da su hlapljivi dijelovi timijana i kore cimeta učinkoviti protiv *C. acutatum* u *in vitro* i *in vivo* uvjetima. Testirana eterična ulja inhibirala su rast micelija *C. acutatum* pri primijenjenom volumenu 667 µL ulja / L agara. Katooli i sur. (2012) su pak utvrdili dobar fungistatični učinak eteričnih ulja timijana i eukaliptusa na rast patogenih gljivica *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum gleosporoides*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* i *Bipolaris sorokiniana*. Koncentracije eteričnog ulja timijana od 50, 75 i 100 % potpuno su inhibirale rast micelija. Slabo djelovanje eteričnog ulja eukaliptusa u našem istraživanju nije u skladu s rezultatima navedenog istraživanjem. Smatramo da su razlike u učinku ulja povezane, prije svega, s vrstama ispitivanih gljivica.

Dobro antifungalno djelovanje eteričnog ulja timijana i anisa na porast micelija dvanaest fitopatogenih gljiva (*Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *Diaporthe helianthi*, *D. caulincola*, *D. longicolla*, *P. viticola*, *Helminthosporium sativum*, *Colletotrichum coccodes*, *Thanatephorus cucumeris*) utvrdili su i Ćosić i sur. (2010). Antifungalno djelovanje eteričnog ulja anisa i komponente anetol u našim istraživanjima u skladu je s ispitivanjima De i sur. (2002) koji su utvrdili jaka antifungalna svojstva zvjezdolikog anisa (*Illicium verum*) te navode da se ona u najvećoj mjeri mogu pripisati anetolu.

Naši rezultati nisu u skladu s istraživanjima Viuda-Martos i sur. (2008) koji navode da eterična ulja citrusa pokazuju određenu antifungalnu aktivnost. Međutim, naša istraživanja su u skladu s njihovim zaključkom da se povećanjem primijenjene koncentracije eteričnih ulja povećava jačina inhibicije. U njihovom ispitivanju potpunu inhibiciju svih ispitivanih gljivica uzrokovala su sva eterična ulja u koncentraciji 0,94 %. Ovisnost inhibicije rasta gljivica o primijenjenoj dozi eteričnih ulja paprene metvice i bosiljka i njihovih najzastupljenijih komponenti (mentol, menton, linalol i eugenol) utvrdili su i Edris i Farrag (2003). Također, Moghaddam i sur. (2013) su utvrdili da se antifungalno djelovanje eteričnog ulja *Mentha piperita* povećava s povećanjem

konzentracije te da su minimalne djelotvorne koncentracije eteričnog ulja različite i ovise o vrsti patogena.

Smanjena antifungalna aktivnost nekih eteričnih ulja i njihovih komponenti u ovom radu, a koja je utvrđena u zadnjem mjerenu, u skladu je s rezultatima Nosrati i sur. (2011) koji navode da inhibitorni učinak ovisi o količini eteričnog ulja, ali i dužini inkubacije. Uzorci tretirani s 1 µL eteričnog ulja metvice pokazivali su lagano smanjenje inhibicije rasta micelija *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* kroz inkubacijsko vrijeme. Sumalan i sur. (2013) također navode da je najveći inhibicijski učinak eteričnih ulja *Melissa officinalis*, *Salvia officinalis*, *Coriandrum sativum*, *Thymus vulgaris*, *Mentha piperita* i *Cinnamomum zeylanicum* utvrđen nakon pet dana od tretmana, dok Adabay i sur. (2013) navode da je potpuna inhibicija rasta micelija *B. cinerea* bila tijekom 24 h od primjene uz primjenu 51,2 µg ulja / mL.

Smanjenu inhibitornu aktivnost eteričnog ulja eukaliptusa utvrdili su Hossain i sur. (2016) koji navode da su eterična ulja eukaliptusa i mandarine pokazala najmanju učinkovitost i nisu inhibirala rast gljivica *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus* i *Penicillium chrysogenum* niti pri uporabi 10.000 µL ulja / L. Rezultati naših istraživanja u skladu su s prethodno navedenim rezultatima.

Jako antifungalno djelovanje komponenti timol, terpinenol-4 i anetol, koje smo utvrdili u ovom istraživanju, u skladu je s rezultatima Wang i sur. 2010; El-Shiekh i sur. 2012; Marei i sur. 2012 koji također navode jako antifungalno djelovanje navedenih komponenti eteričnih ulja. Isto tako, Yu i sur. (2015) su utvrdili da terpinen-4-ol, komponenta eteričnog ulja čajevca, ima najjače negativno djelovanje na rast micelija *B. cinerea*. Naši rezultati u skladu su s prethodno navedenim rezultatima.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da većina ispitivanih komponenti eteričnih ulja nije u potpunosti inhibirala rast micelija niti jedne ispitivane fitopatogene gljivice što je u skladu s rezultatima Özak i sur. (2010) i Dev i sur. (2004) koji su utvrdili da komponente eteričnog ulja lavande linalol odnosno linalil acetat nisu pokazale značajan inhibitorni učinak. Međutim, naši rezultati o djelovanju limonena, za koji smo utvrdili slab antifungalni učinak, nisu u skladu s ispitivanjem Marei i sur. (2012) koji navode jaki antifungalni učinak limonena na gljivice *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *Penecillium digitatum* i *Aspergillus niger*. Kishore i sur. (2007) navode da limonen nema antifungalni učinak na uzročnike pjegavosti i truleži krune korijena kikirikija, a Kirbaşlar i sur. (2009) da linalol i limonen, glavne komponente ulja lavande i gorke naranče, ne inhibiraju rast gljivica iz roda *Alternaria*. Slabije djelovanje d-limonena u ovom istraživanju može se objasniti time da eterična ulja koja sadrže ne fenolne hlapljive spojeve (citral i limonen) najbolje djeluju kada je gljiva izložena isparavanjima eteričnog ulja (Suhar i Nielsen, 2003), a u ovom ispitivanju eterična ulja i njihove komponente bila su u direktnom kontaktu s micelijem fitopatogenih gljivica.

Uspoređujući djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti s kemijskim fungicidima može se zaključiti da u određenim volumenima ulja i njihove komponente mogu imati isti ili bolji inhibitorni učinak na rast micelija nego fungicidi što je u skladu s rezultatima drugih istraživača. Tako su Moghtader i sur. (2011) dokazali da je eterično ulje ružmarina pokazalo snažnije antifungalno djelovanje od antibiotika gentamicina (8 mg / mL) na *A. flavus* dok 10 %-tни fungicid Benomil nije imao inhibitorni učinak na *A. flavus*. Marei i sur. (2012) su u svojim istraživanjima antifungalnog djelovanja dvanaest monoterpena na gljivice *Rhizoctonia solani*, *F.*

*oxysporum*, *Penecillium digitatum* i *Aspergillus niger* utvrdili da je antifungalno djelovanje timola bilo usporedivo s referentnim fungicidom karbendazimom. Sitara i sur. (2008) su pak u svojem ispitivanju antifungalne aktivnosti eteričnih ulja na *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. semitectum*, *Microdochium nivale*, *Drechslera hawiinesis* i *Alternaria altaernata* utvrdili da su eterična ulja *Ferula assafoetida*, *Nigella sativa* i *Azodriachta indica* u određenim koncentracijama imala bolje djelovanje od fungicida Ridomil gold MZ 68 WP.

### **5.3. Procijenjene vrijednosti IC<sub>50</sub> za eterična ulja i njihove komponente prema učinku na *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

Polovina maksimalne inhibitorne koncentracije (IC<sub>50</sub>) je mjera učinkovitosti tvari u inhibiranju specifične biološke ili biokemijske funkcije. IC<sub>50</sub> predstavlja koncentraciju lijeka ili neke aktivne tvari koja je potrebna za inhibiciju 50% ispitivanih mikroorganizama *in vitro*. Viši IC<sub>50</sub> u ovom istraživanju znači da treba primijeniti veću količinu eteričnih ulja ili njihovih komponenti za postizanje učinka, dok manji IC<sub>50</sub> znači snažniji učinak eteričnog ulja ili komponente.

#### ***Fusarium oxysporum***

Četvrti dan ispitivanja utvrđeno je da najmanji IC<sub>50</sub> imaju eterična ulja timijana, komorača i anisa, a najveću vrijednost eterična ulja eukaliptusa i ružmarina. Od komponenti najmanji IC<sub>50</sub> ima timol iz eteričnog ulja timijana i anetol iz eteričnog ulja anisa, a najveći IC<sub>50</sub> ima estragol iz bosiljka, pinen beta iz limuna te d-limonen iz komorača (Tablica 2).

Osmi dan najmanju vrijednost IC<sub>50</sub> imaju eterična ulja timijana, anisa, komorača i paprene metvice. Eterično ulje limuna ima najveću vrijednost IC<sub>50</sub>, dok za eterično ulje eukaliptusa nije bilo moguće izračunati analizu varijance (ANOVA). Od komponenti najmanji IC<sub>50</sub> ima timol iz eteričnog ulja timijana (Tablica 2). Najbolje djelovanje eteričnog ulja timijana i njegove komponente timola u skladu je s ispitivanjima Zambonelli i sur. (1996). Bi i sur.(2012) navode da su između četrnaest testiranih komercijalnih eteričnih ulja origano, palmarosa i crveni timjan imali najniže vrijednosti EC<sub>50</sub> (< 0,15 µg / mL). Perez-Sanchez i sur. (2007) su testiranjem antifungalnih svojstava eteričnih ulja iz šest populacija *Thymus zygis* Loefl. ex L. na fitopatogene gljivice *Phytiun irregularare*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium oxysporum* i *Sclerotinia sclerotiorum* utvrdili da se EC<sub>50</sub> kreće u rasponu od 86 µL / L do 577 µL / L.

Osmog dana komponente anetol iz anisa, terpineol-4 iz čajevca i d-limonen iz limuna imaju manji IC<sub>50</sub> od njihovih eteričnih ulja (Tablica 2) što je u skladu s ispitivanjima Huang (2010). Autor navodi da je u ispitivanju antifungalne aktivnosti eteričnog ulja zvjezdastog anisa (*Illicium verum*) i njegove glavne komponente trans-anetola IC<sub>50</sub> za sve ispitivane gljivice *F. oxysporum* iznosio od 0,14 do 0,20 mg / mL kod trans-anetola, a kod ulja 0,16, do 0,25 mg / mL.

Rezultati našeg istraživanja su pokazali da eterično ulje eukaliptusa ima najveći IC<sub>50</sub> što je u skladu s ispitivanjima Sharma i sur. (2017) koji navode da je IC<sub>50</sub> za eterično ulje metvice 60,05 µL / L i 207,86 µL / L za eterično ulje eukaliptusa. Autori su utvrdili da eterično ulje eukaliptusa pokazuje inhibitornu aktivnost pri relativno višim koncentracijama. Međutim, Derwich i sur. (2013) navode da eterično ulje *Eucalyptus globulus* ima dobro antifungalno djelovanje na gljivicu *Penicillium citrinum*. Minimalna inhibitorna koncentracija u njihovom ispitivanju

kretala se od 3,07 do 96,14  $\mu\text{L}$  / mL. Gakuubi i sur. (2017) su utvrdili da je za pet *Fusarium* vrsta minimalna inhibitorna koncentracija za eterično ulje *Eucalyptus camaldulensis* 7-8  $\mu\text{L}$  / mL, dok je minimalna fungicidna koncentracija 8-10  $\mu\text{L}$  / mL. Nadalje, Fonseca i sur. (2015) navode da eterična ulja *Mentha piperita* i *Rosmarinus officinalis* imaju  $\text{MIC}_{50}$  0,44 mg/ L, dok je minimalna inhibitorna koncentracija koja inhibira rast 90% izolata iznosila ( $\text{MIC}_{90}$ ) 3,5 mg/ L. Osim toga, Moghaddam i sur. (2013) su utvrdili da je eterično ulje paprene metvice *M. piperita* u *in vitro* uvjetima u koncentraciji od 800  $\mu\text{L}$  / L i 1600  $\mu\text{L}$  / L potpuno inhibiralo rast micelija *Dreschlera spicifera*, a *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* u koncentraciji od 1600  $\mu\text{L}$  / L, dok Sharma i sur. (2017) za eterično ulje metvice navode vrijednosti  $\text{IC}_{50}$  od 60,05  $\mu\text{L}$  / L. Autori navode da eterična ulja mente pokazuju inhibitornu aktivnost pri relativno višim koncentracijama. Prema Outaleb i sur. (2015) minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) za *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* bila je 6  $\mu\text{L}$  / mL kod primjene eteričnog ulja *Rosmarinus officinalis* iz kultiviranih uzoraka ružmarina te 20  $\mu\text{L}$  / mL kod primjene eteričnog ulja divljeg ružmarina iz područja Tablat, dok je kod etanol ekstrakta iznosila 6  $\mu\text{L}$  / mL odnosno 10  $\mu\text{L}$  / mL.

López-Meneses i sur. (2017) su izračunali minimalnu i polovinu maksimalne inhibitorne koncentracije (CMI i  $\text{CI}_{50}$ ) 96 sati nakon primjene. Za *Fusarium verticilliodes* najučinkovitija komponenta bio je geraniol s vrijednostima CMI 1000  $\mu\text{L}$  / L i  $\text{CI}_{50}$  250  $\mu\text{L}$  / L).

Dobro djelovanje timola na gljivicu *Fusarium oxysporum*, kao i u našem ispitivanju, utvrdili su također Marei i sur. (2012). Timol je imao najbolje antifungalno djelovanje s vrijednosti  $\text{EC}_{50}$  50,35 mg / L.

### ***Botrytis cinerea***

Četvrti dan nakon inokulacije najmanji  $\text{IC}_{50}$  imaju eterična ulja timijana, anisa, paprene metvice i komorača (Tablica 3). Kod eteričnih ulja limuna i eukaliptusa nije bilo moguće izračunati analizu varijance (ANOVA). Od komponenti najmanji  $\text{IC}_{50}$  ima anetol iz eteričnog ulja anisa, manji nego samo eterično ulje. Kod obje komponente lavande prave, eteričnih ulja ružmarina, eukaliptusa i bosiljka te komponenti d-limonena iz komorača, estragol iz anisa kao i terpinen gama iz čajevca, nije bilo moguće izračunati analizu varijance (ANOVA).

Osmi dan ispitivanja najmanji  $\text{IC}_{50}$  imaju eterična ulja timijana, paprene metvice i komorača, a najveći eterična ulja ružmarina i lavande prave. Kod eteričnog ulja limuna i eukaliptusa nije bilo moguće izračunati analizu varijance (ANOVA). Od komponenti osmi dan samo je kod anetola iz eteričnog ulja anisa i terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca bilo moguće izračunati  $\text{IC}_{50}$  (Tablica 3).

Dobro antifungalno djelovanje eteričnog ulja *Thymus vulgaris* na *B. cinerea* u razrjeđenju od 500  $\mu\text{L}$  / mL utvrdili su i Gebel i Magurno (2014). Autori navode da je ulje timijana inhibiralo rast gljivice u plodovima jagode kroz period od 7 dana. Amini i sur. (2012) su ispitivanjem djelotvornosti eteričnih ulja *Thymus vulgaris*, *Thymus kotschyanus* i *Zataria multiflora* na gljivice *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium graminearum* i *Sclerotinia sclerotiorum* utvrdili 100 %-tnu inhibiciju rasta pri koncentraciji 200  $\mu\text{L}$  / L. Međutim, MIC i MFC ispitivanih ulja razlikovala se ovisno o vrsti gljivice. Iako eterično ulje timijana pokazuje najbolje djelovanje na gljivicu *B. cinerea*, ono se može i poboljšati tretmanom topлом vodom na 50°C u trajanju 20 s (Eguchi i sur, 2016).

U našim istraživanjima eterično ulje eukaliptusa nije imalo dobro inhibitorno djelovanje dok Derwich i sur. (2013) navode da eterično ulje iz cvjetova *Eucalyptus globulus* ima dobro

antifungalno djelovanje na gljivicu *Penicillium citrinum* i minimalna inhibitorna koncentracija se kretala u rasponu 3,07 do 96,14 µL / mL.

U istraživanjima Bajpai i Kang (2012) utvrđena je minimalna inhibitorna koncentracija i minimalna fungicidna koncentracija eteričnog ulja *Magnolia liliiflora* koja je potpuno inhibirala rast *Botrytis cinerea* u rasponu od 125 do 500 µg / mL.

Niske vrijednosti IC<sub>50</sub> komponenti anetol i timol (Tablica 3) u skladu su s ispitivanjima drugih istraživača (Marei i sur. 2012; De i sur. 2002). Timol je u količini 150 i 250 µL / L zaustavio rast *B. cinerea* u ispitivanju Camela i sur. (2012). Prema El-Shiekh i sur. (2012) timol i eugenol (fenolni spoj) imaju najjače antifungalno djelovanje na ispitane gljivice, nakon toga slijedi metil cinamat (kao dio keto spoja), a najslabiju antifungalnu aktivnost imali su linalol i 1,8-cineol (tercijarni alkohol i eter). Ipak komponente eteričnog ulja *Melaleuca alternifolia* terpinen-4-ol i 1,8-cineol pokazale su sinergističku antifungalnu aktivnost te je njihovo djelovanje bilo znatno jače od bilo koje komponente zasebno (Yu i sur. 2015).

### **Colletotrichum coccodes**

Rezultati usporedbe vrijednosti IC<sub>50</sub> eteričnih ulja i njihovih komponenti za gljivicu *C. coccodes* pokazuju povećanje vrijednosti od četvrtog do petnaestog dana ispitivanja (Tablica 4) što je bilo i za očekivati jer se antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti vremenom smanjuje. Tezu da inhibitorni učinak eteričnog ulja ovisi o vremenu inkubacije potvrdili su Nosrati i sur. (2011) koji su utvrdili lagano smanjenje djelotvornosti eteričnih ulja kroz inkubacijsko vrijeme.

Najmanji IC<sub>50</sub> tijekom cijelog inkubacijskog perioda imalo je eterično ulje timijana. Za njim slijede eterična ulja paprene metvice i anisa, a od komponenti anetol iz eteričnog ulja anisa i timol iz eteričnog ulja timijana. Petnaestog dana ispitivanja komponenta terpineol-4 iz čajevca imala je manji IC<sub>50</sub> nego eterično ulje (Tablica 4).

Najniže vrijednosti IC<sub>50</sub> timola i anetola te njihov dobar antimikrobni učinak navode i Marei i sur. (2012) i De i sur. (2002).

Procijenjene vrijednosti parametra IC<sub>50</sub> eteričnih ulja paprene metvice (Tablica 4) pokazuju njegov dobar inhibitorni učinak. Antimikrobni učinak *Mentha piperita* i *Rosmarinus officinalis* utvrdili su i Fonseca i sur. 2015. Autori navode da *Mentha piperita* i *Rosmarinus officinalis* imaju MIC<sub>50</sub> 0,44 mg / L, dok im je MIC<sub>90</sub> 3,5 mg / L.

Najveće vrijednosti IC<sub>50</sub> tijekom ovog ispitivanja imala su eterična ulja eukaliptusa i limuna, a od komponenti linalil acetat, pinen alfa plus i eukaliptol što nije u skladu s istraživanjima Hung i sur. (2013) koji navode da eterična ulja citrusa imaju značajno antifungalno djelovanje. Međutim, Sharma i sur. (2017) navode da eterično ulje eukaliptusa (IC<sub>50</sub> = 207,86) pokazuje inhibitornu aktivnost pri relativno višim koncentracijama što potvrđuju i visoke vrijednosti IC<sub>50</sub> eteričnog ulja eukaliptusa u ovom istraživanju (Tablica 4).

#### **5.4. Usporedba procijenjenih vrijednosti IC<sub>50</sub> između eteričnih ulja i njihovih komponenti za *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

Vrijednosti IC<sub>50</sub> za sporo rastuću fitopatogenu gljivici *C. coccodes* su manje i različite nego za ostale dvije ispitivane fitopatogene gljivice. Zbog toga su uspoređivane vrijednosti IC<sub>50</sub> pojedinih eteričnih ulja i njihovih komponenti samo između gljivica *F. oxysporum* i *B. cinerea* za četvrti i osmi dan nakon nacjepljivanja micelija. Rezultati vrijednosti IC<sub>50</sub> za četvrti i osmi dan pokazuju da su kod svih ispitivanih eteričnih ulja ili njihovih komponenti vrijednosti IC<sub>50</sub> veće za *B. cinerea* nego za *F. oxysporum*. Eterična ulja timijana, anisa, paprene metvice i komorača te komponente anetol, terpineol-4 i timol, koji su najbolje djelovali na *F. oxysporum*, pokazali su dobro djelovanje i na *B. cinerea*. Eterična ulja eukaliptusa i limuna, koja su uz eterično ulje ružmarina imala najslabije djelovanje na *F. oxysporum* nisu uopće negativno djelovala na rast micelija *B. cinerea*. Komponente eteričnih ulja lavande, ružmarina, eukaliptusa, bosiljka te d-limonen iz komorača, estragol iz anisa i terpinen gama iz čajevca nisu djelovali na gljivicu *B. cinerea* (Tablica 5 i 6).

Rezultati ovog istraživanja su u skladu s istraživanjima autora koji navode da različita eterična ulja pokazuju različito djelovanje ovisno o vrsti fitopatogene gljivice (Türkölmez i Soylu, 2014; Moghaddam i sur. 2013; Bahraminejad i sur. 2011; Ćosić i sur. 2010) i vremenu inkubacije (Al-Reza i sur. 2010). Osim toga, biološka aktivnost eteričnih ulja ovisi o njihovom kemijskom sastavu koji je određen vrstom biljaka, zemljopisnim podrijetlom biljaka, primijenjenim koncentracijama, okolišnim uvjetima i agrotehničkom praksom (Ćosić i sur. 2014). Karimi i sur. (2016) također navode da inhibitorni potencijal eteričnih ulja protiv raznih mikroorganizama ovisi o različitim čimbenicima kao što su vrsta eteričnog ulja, vrsta patogena i vrsta domaćina. Amini i sur. (2012) su ispitivanjem djelotvornosti eteričnih ulja *Thymus vulgaris*, *Thymus kotschyanus* i *Zataria multiflora* na gljivice *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium graminearum* i *Sclerotinia sclerotiorum* utvrđili da su MIC i MFC ispitivanih ulja različiti ovisno o vrsti gljivica. *Pythium aphanidermatum* je najosjetljiviji s prosječnom inhibicijom rasta od 89,54 %, dok je *Sclerotinia sclerotiorum* pokazala najveću tolerantnost s prosječnom inhibicijom rasta od 75,35 %. Li i sur. (2017) pak navode da je u *in vitro* uvjetima gljivca *B. cinerea* osjetljivija na eterično ulje čajevca od *P. expansum*. Isto tako, utvrđena je veća osjetljivost *B. cinerea* i u *in vivo* uvjetima pri umjetnoj infekciji. Različitu antifungalnu aktivnost na pojedine gljivice navode i Angioni i sur. (2006) koji su ispitivali djelovanje eteričnog ulja *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* i njegovih komponenti. Utvrđili su snažnu antifungalnu aktivnost eteričnog ulja na patogene gljivice *Rhizoctonia solani* i *Fusarium oxysporum*, a manju učinkovitost na *Aspergillus flavus*. Testiranjem komponenti utvrđeno je da su fenol, limonen, a posebno mirtenal bili učinkovitiji na inhibiciju rasta *R. solani* od drugih testiranih komponenti. Temeljem naših rezultata i rezultata drugih istraživača može se zaključiti da eterična ulja i njihove komponente djeluju različito ovisno o vrsti fitopatogene gljivice.

## **5.5. Usporedba IC<sub>50</sub> između eteričnih ulja i njihovih komponenti pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa za *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes***

Da bi se utvrdile razlike u djelovanju između eteričnih ulja i njihovih komponenti na inhibiciju rasta micelija fitopatogenih gljivica *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* napravljena je usporedba IC<sub>50</sub> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa.

Rezultati su pokazali da su četvrti dan ispitivanja utvrđene statistički značajne razlike između djelovanja eteričnog ulja timijana i komponente timola kod svih ispitivanih gljivaca. Eterično ulje timijana imalo je jaču antifungalnu aktivnost na inhibiciju rasta micelija od timola. Sadržaj timola u eteričnom ulju timijana općenito se kreće od 45 do 79,15 % (Soković i sur. 2009; Lis-Balchin 2006; Sartoratto i sur. 2004), a u ovom pokusu timol je u eteričnom ulju timijana bio zastupljen s 44,11 %. Naši rezultati sugeriraju da i druge komponente eteričnog ulja timijana doprinose njegovoj dobroj antifungalnoj aktivnosti što je u skladu s rezultatima Stefan i sur. (2013) koji smatraju da antimikrobni učinak eteričnih ulja ovisi o svim kemijskim komponentama i njihovom sinergističkom djelovanju. Međutim, brojni autori navode da upravo komponenta timol daje najznačajniji doprinos antifungalnom djelovanju eteričnog ulja timijana. To potvrđuju i istraživanja El-Shiekh i sur. (2012) koji su utvrdili da su timol i eugenol (fenolni spoj) imali najjače antifungalno djelovanje na *Scortium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* i *Alternaria solani*. Zambonelli i sur. (1996) su u svojem ispitivanju utvrdili da je eterično ulje timijana bilo najučinkovitije, a fungicidna aktivnost pripisana je timolu koji je u eteričnom ulju timijana zastupljen s 50,06 %. Prema Marei i sur. (2012) timol ima najbolje antifungalno djelovanje na *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penecillium digitatum* i *Aspergillus niger* koje je čak bilo usporedivo s referentnim fungicidom karbendazimom. Perina i sur. (2015) također navode da je timol zaslužan za antifungalno djelovanje eteričnog ulja timijana. Autori smatraju da je važno i ulje i njegov glavni sastojak za potencijalnu uporabu u razvoju novih fenolnih struktura. Mnoga ispitivanja su utvrdila dobro antifungalno djelovanje timijana (Lu i sur. 2013; Tanović i sur. 2005) u različitim načinima aplikacije *in vitro* što je potaknulo znanstvenike na ispitivanje antifungalnih svojstava toga ulja *in vivo*. Gebel i Magurno (2014) su ispitivali antifungalni potencijal eteričnog ulja *Thymus vulgaris* na jagodama umjetno inokuliranim gljivicom *Botrytis cinerea* i ustanovili da je rast gljivice u jagodama kroz period od 7 dana, više nego dvostruko manji od kontrolne skupine kad se ulje primijeni u razrjeđenju 500 µL / mL. Jagode su imale zdraviji oblik, čvrstoću i boju u usporedbi s kontrolom i tretmanom u koncentraciji 200 µL / mL. Nadalje, Elshafie i sur. (2015) su *in vivo* ispitivali antifungalni učinak eteričnih ulja na patogene breskve nakon berbe. Koncentracije eteričnog ulja timijana (500 µL / L) značajno su smanjile promjer lezija na plodovima breskve. Sarkhosh i sur. (2017) su utvrdili da eterično ulje timijana u koncentraciji 2000 µL / L pokazuje jaku antifungalnu aktivnost, smanjujući rast nekrotičnih lezija antraknoze avokada (*Colletotrichum gloeosporioides*) oko mjesta inokulacije na plodu za 58 do 64 %. Osim toga, zbog dobrih antifungalnih svojstava Tanović i sur. (2013) su razvili EC formulaciju eteričnog ulja timijana za uporabu u poljoprivredi. U našem ispitivanju eterično ulje paprene metvice imalo je jači učinak na inhibiciju rasta micelija *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea* od ispitivanih najzastupljenijih komponenti, mentola i mentona, dok je eterično ulje bosiljka imalo jači učinak od obje komponente na *F. oxysporum*. Jači učinak na *F. oxysporum* imalo je eterično

ulje ružmarina nego komponenta eukaliptol, a eterično ulja komorača imalo je jači negativni učinak na rast micelija *Botrytis cinerea* od anetola. Četvrti dan kod ispitivanja eteričnih ulja i njihovih komponenti na rast micelija *Colletotrichum coccodes* većina eteričnih ulja nije imala jači učinak od ispitanih komponenti izuzev eteričnih ulja komorača i već spomenutog timijana koja su imala jači učinak od komponenti timola odnosno anetola. Eterična ulja čajevca, anisa, limuna, komorača i lavande prave, imala su jači učinak na inhibiciju *F. oxysporum* nego njihove druge komponente po zastupljenosti.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je većina eteričnih ulja imala bolji učinak na fitopatogene gljivice nego njihove komponente, što je u skladu s ispitivanjima Stefan i sur. (2013). Može se zaključiti da i komponente, koje su manje zastupljene u eteričnim uljima, značajno utječu na antifungalnu aktivnost eteričnih ulja.

Četvrtog dana ispitivanja jači inhibitorni učinak imao je terpinenol-4 u odnosu na eterično ulje čajevca na rast micelija *Botrytis cinerea* što je u skladu s rezultatima El-Shiekh i sur. (2012), Marei i sur. (2012) i Wang i sur. (2010). Autori navode da su sve komponente eteričnih ulja odgovorne za njihovo antifungalno djelovanje. Istraživanje utjecaja terpinen-4-ola, eugenola, karvona, 1,8-cineola i timola na 10 različitih vrsta mikotoksikogenih gljiva (*Fusarium subglutinans*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Aspergillus tubingensis*, *Aspergillus carbonarius*, *Alternaria alternata* i *Penicillium sp.*) u *in vitro* uvjetima proveli su Morcia i sur. (2012). U njihovom istraživanju terpinen-4-ol nije pokazao najbolje antifungalno djelovanje. Najbolje rezultate polučili su timol, eugenol i karvon. Yu i sur. (2015) su u ispitivanju djelovanja eteričnog ulja *Melaleuca alternifolia* i njegovih komponenti protiv *Botrytis cinerea* utvrđili da komponente terpinen-4-ol i 1,8-cineol pokazuju sinergističku aktivnost. Antifungalna aktivnost komponenata koje su primijenjene zajedno bila je znatno jača od antifungalne aktivnosti komponenti zasebno. Isto tako, mnogi autori su utvrđili sinergistički učinak eteričnih ulja (Hossain i sur. 2016; Aguilar-González i sur. 2015; Sukatta i sur. 2008) kao i komponenti ulja (Guillén i sur. 2007; Edris i Farrag, 2003) i to u različitim omjerima i formulacijama, čime se povećava antifungalno djelovanje. Antifungalni učinak komponenti eteričnih ulja čajevca, anisa, limuna, paprene metvice, komorača i bosiljka na rast micelija *Fusarium oxysporum* nije isti i statistički su bili značajno različiti. Najjači učinak polučile su komponente koje su najzastupljenije u eteričnim uljima, osim komponente linalol eteričnog ulja bosiljka koja je imala jači učinak nego što je u ovom ima najzastupljenija komponenta estragol. Rezultati naših istraživanja nisu u skladu s istraživanjima El-Shiekh i sur. (2012), Özak i sur. (2010) i Edris i Farrag (2003) koji navode da estragol ima jače antifungalno djelovanje od linalola.

Statističke razlike utvrđene su i između komponenata eteričnog ulja limuna i paprene metvice na rast micelija *B. cinerea*. Komponente koje su zastupljenije u tim eteričnim uljima imale su jači učinak na inhibiciju rasta micelija. Kod *Colletotrichum coccodes* komponente eteričnog ulja anisa međusobno su se razlikovale, a jači učinak imao je anetol. Dobar učinak anetola utvrđili su De i sur. (2002) koji su ispitivali djelovanje ulja zvjezdolikog anisa i njegovih komponenti. Autori smatraju da je anetol u najvećoj mjeri odgovoran za jaka antifungalna svojstva anisa. Edris i Farrag (2003) su utvrđili da je mentol pojedinačno odgovoran za antifungalna svojstva eteričnog ulja paprene metvice, dok komponenta menton pojedinačno nije pokazala nikakav učinak pri svim ispitivanim dozama. Isto tako, kod eteričnog ulja bosiljka, linalol pojedinačno je

pokazao umjerenu antifungalnu aktivnost. U njihovom ispitivanju komponenta eugenol nije uopće pokazala antifungalnu aktivnost.

Osmi dan ispitivanja eterično ulje timijana imalo je, isto kao i četvrtog dana ispitivanja, jači učinak na inhibiciju rasta micelija *F. oxysporum*, *B. cinerea* i *Colletotrichum coccodes* od timola. Između eteričnih ulja čajevca, anisa i limuna te njihovih komponenti terpinenol-4, anetola i d-limonena, nije bilo statistički značajnih razlika u djelovanju na rast *F. oxysporum*. Različitu inhibiciju rasta micelija tijekom vremena inkubacije navode i Nosrati i sur. (2011), Sumalan i sur. (2013) i Adabayo i sur. (2013). Osim toga, antifungalni učinak eteričnih ulja ovisi o njihovom kemijskom sastavu (Suhar i Nielsen, 2003). Antifungalna aktivnost eteričnih ulja smanjuje se ovisno o kemijskom sastavu i to fenoli > alkoholi > aldehydi  $\geq$  ketoni > eteri > ugljikovodici (Kalemba i Kunicka, 2003). Eterična ulja koja se sastoje od velikih fenolnih spojeva kao što su timol i eugenol imaju bolji učinak pri direktnoj primjeni (Suhar i Nielsen, 2003). Yang i Clausen (2007) pretpostavljaju da je inhibitorno djelovanje pojedinog ulja rezultat djelovanja specifičnog ketona ili kombinacije komponenata koje se nalaze u eteričnom ulju.

U našim istraživanjima jači učinak nego pripadajuća eterična ulja na *B. cinerea* osmog dana od nacjepljivanja imale su komponente terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca i anetol iz eteričnog ulja anisa. Ostale komponente eteričnih ulja nisu djelovale na smanjenje rasta micelija ispitivane gljivice.

Osmog dana ispitivanja eterično ulje anisa imalo je jači učinak na *C. coccodes* nego njegova komponenta estragol, dok ostala eterična ulja nisu imala jači učinak od svojih komponenti. Komponente eteričnog ulja anisa statistički su se značajno razlikovale te je jači učinak imao anetol. Rezultati dobrog djelovanja anetola kod svih ispitivanih gljivica u skladu su s rezultatima De i sur. (2002).

Dvanaesti i petnaesti dan ispitivanja antifungalne aktivnosti eteričnih ulja i njihovih komponenti provedena su samo za spororastuću gljivicu *C. coccodes*. Rezultati su pokazali da su eterična ulja timijana, anisa i paprene metvice dvanaestog dana imala jači učinak od timola, estragola i mentona. Komponente eteričnog ulja anisa statistički su se razlikovale po jačini djelovanja i jači učinak od ulja imao je anetol. Petnaesti dan ispitivanja utvrđen je jači učinak eteričnih ulja nego njihovih komponenti koje su druge po postotnom udjelu, osim između eteričnih ulja limuna i eukaliptusa i njihovih komponenti. Jedino je eterično ulje komorača petnaesti dan imalo jači učinak od obje svoje komponente. Između komponenta eteričnog ulja anisa utvrđene su statistički značajne razlike i jači učinak imao je anetol u odnosu na estragol.

Rezultati našeg istraživanja kao i rezultati drugih istraživača potvrđuju tezu da eterična ulja i njihove komponente imaju antifungalnu aktivnost na određene fitopatogene gljivice. Iako je utvrđena antifungalna aktivnost pojedinačnih komponenti eteričnih ulja u mnogim ispitivanjima López-Meneses i sur. (2017), El-Shiekh i sur. (2012), Marei i sur. (2012) i De i sur. (2002) njihov ukupni inhibitorni učinak ovisi o svim njihovim komponentama (Stefan i sur. 2013; Angioni i sur. 2006) te o velikom broju drugih čimbenika poput primijenjene koncentracije (Lee i sur. 2007), vrste fitopatogene gljivice (Angioni i sur. 2006), okolišnim uvjetima, o agrotehničkoj praksi (Ćosić i sur. 2014) i drugim okolnostima u kojima se ispituju ili koriste eterična ulja ili njihove komponente. Osim toga, mnogi autori smatraju da i manje zastupljeni spojevi imaju utjecaj na antifungalnu aktivnost ili da je antifungalna aktivnost rezultat

sinergizma između različitih spojeva (Adeyinka i Richard, 2015; Angioni i sur. 2006; Edris i Farrag. 2003).

Snižavanje koncentracija eteričnih ulja bez ugrožavanja antimikrobnog djelovanja može se dobiti primjenom u kombinacijama s drugim antimikrobnim spojevima koji pružaju sinergistički učinak (Adeyinka i Richard, 2015), što bi bio važan doprinos zaštiti okoliša i zaštiti zdravlja potrošača.

Primjena eteričnih ulja ili njihovih komponenti u zaštiti poljoprivrednih proizvoda zbog njihove sigurnosti za zdravlje potrošača i pozitivnog učinaka na produljenje trajnosti svježih proizvoda (Camele i sur. 2012) trebala bi u budućnosti imati sve veću ulogu.

Kombinacija eteričnih ulja i njihovih komponenti može pronaći sve veću primjenu u kombinaciji s drugim biološkim sredstvima i inovativnim tretmanima ovisno o primijenjenim koncentracijama i vremenu, naročito za kontrolu patogena voća i povrća nakon berbe (Elshafie i sur. 2015) te smanjiti štetni utjecaj sintetičkih fungicida na zdravlje ljudi i okoliš.

Rezultati istraživanja s istim eteričnim uljima, biljnim vrstama i patogenim mikroorganizmima mogu biti vrlo različiti (Hyldgaard i sur. 2012) te je neophodno provoditi kontinuirana istraživanja ne bi li se uz antifungalna svojstva utvrdila i moguća dodatna pozitivna svojstva eteričnih ulja i njihovih komponenti na kvalitetu poljoprivrednih proizvoda.

Razlike između naših rezultata i prethodnih istraživanja mogu biti posljedica činjenice da sastav eteričnih ulja nije strogo definiran, već ovisi o zemljopisnom položaju i fazi rasta biljaka iz kojih se ekstrahiraju kao i o načinu ekstrakcije (Berka-Zougali i sur. 2012).

Iako se provedenim istraživanjima može utvrditi antifungalna aktivnost određenih eteričnih ulja i njihovih komponenti na fitopatogene gljivice, naročitu pažnju treba usmjeriti na istraživanja njihovog djelovanja ponajprije u *in vivo* uvjetima.

Isto tako, što nije manje važno, potrebno je provesti dodatna istraživanja senzorskih kvaliteta poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda nakon aplikacije eteričnih ulja ili njihovih komponenti, kako bi se rezultati tih istraživanja u budućnosti mogli koristiti i u prehrambenoj industriji (Palfi i sur. 2017), a sve u cilju zaštite zdravlja i okoliša.

## **6. Zaključci**

Na osnovu provedenih *in vitro* istraživanja antifungalnog djelovanja eteričnih ulja i njihovih komponenti na tri fitopatogene gljivice (*Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes*) u različitim volumenima primjene te dobivenih rezultata, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Neka eterična ulja i njihove komponente, primjenjeni u određenim volumenima, imala su isti negativni učinak na rast micelija *Fusarium oxysporum* u odnosu na kontrolu, kao fungicid Prosaro EC 250.
2. Neka eterična ulja i njihove komponente, primjenjeni u određenim volumenima, imala su isti negativni učinak na rast micelija *Botrytis cinerea*, kao fungicid Switch 62,5 WG.
3. Neka eterična ulja i njihove komponente, primjenjeni u određenim volumenima, imala su isti negativni učinak na rast micelija *Colletotrichum coccodes*, kao fungicidi Dithane M45 ili Ortiva Top.
4. Rezultati mjerena promjera micelija *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* i *Colletotrichum coccodes* pokazali su smanjenje rasta micelija ovisno o primjenjenom volumenu eteričnih ulja.
5. Povećanjem primjenjenih volumena eteričnih ulja i njihovih komponenti usporava se rast micelija. Najslabije djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti utvrđeno je kod najmanjih primjenjenih volumena, a najbolje u volumenu 70 µL / 10 mL PDA.
6. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti, smanjuje se s povećanjem duljine inkubacije.
7. Antifungalno djelovanje eteričnih ulja i njihovih komponenti različito je ovisno o vrsti fitopatogene gljivice. Tako je osam dana od naciepljivanja, eterično ulje timijana u količini 7 µL / 10 mL podloge, potpuno inhibiralo rast micelija *F. oxysporum* dok je potpuna inhibicija rasta micelija *B. cinerea* utvrđena kod primjene 15 µL / 10 mL.
8. Najbolje antifungalno djelovanje na sve ispitivane fitopatogene gljivice imala su eterična ulja timijana i komorača. Ta su ulja osmog (*F. oxysporum* i *B. cinerea*) odnosno petnaestog dana (*C. coccodes*) od naciepljivanja, potpuno inhibirala rast micelija.
9. Rezultati ispitivanja su pokazali da eterična ulja, u pravilu, imaju bolje djelovanje na fitopatogene gljivice od svojih komponenti. Vrijednost IC<sub>50</sub> za eterična ulja u najvećem broju slučajeva je jednaka ili manja od vrijednosti IC<sub>50</sub> za pojedine komponente ulja. Osmi dan ispitivanja eterično ulje timijana imalo je jači učinak na inhibiciju rasta micelija *F. oxysporum*, *B. cinerea* i *Colletotrichum coccodes* od timola. Jači inhibitorni učinak u odnosu na pripadajuća eterična ulja osmog dana od naciepljivanja imale su samo komponente terpinenol-4 iz eteričnog ulja čajevca te anetol iz eteričnog ulja anisa i to samo na gljivicu *B. cinerea*.

## 7. Literatura

1. Adebayo O, Dang T, Belenger A, Khanizadeh S. 2013. Antifungal Studies of Selected Essential Oils and Commercial Formulation against *Botrytis cinerea*. *J Food Res* 2(1):217-226.
2. Ademe A, Ayalew A, Woldetsadik K. 2014. *In Vitro* and *In Vivo* Activity of Selected Plant Extracts against Papaya (*Carica papaya L.*) Anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). *J Horticulture* 1:1.
3. Adeyinka A, Richard F. 2015. Application of phytochemical extracts and essential oils in food products: A review. *Int J Biotechnol Food Sci* 3(3):31-35.
4. Aguilar-González AE, Palou E, López-Malo A. 2015. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innov Food Sci Emerg Tech* 32:181-185.
5. Alam SB, Benyelles NG, Dib MEA, Djabou N, Tabiti N, Paolini J, Muselli A, Costa J. 2014. Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algéria against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *J App Bot Food Qual* 87:56-61.
6. Ali A, Noh NM, Mustafa MA. 2015. Antimicrobia lactivity of chitosanen riched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. *Food packaging and shelf life* 3:56-61.
7. Al-Reza SM, Rahman A, Ahmed Y, Kang SC. 2010. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pestic Biochem Physiol* 96(2):86-92.
8. Amini M, Safaie N, Salmani J, Shams-Bakhsh M. 2012. Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. *Trakia J Sci* 10(1):1-8.
9. Aminifard MH, Mohammadi S. 2013. Essential oils to control *Botrytis cinerea* *in vitro* and *in vivo* on plum fruits. *J Sci Food Agr* 93(2):348-353.
10. Angioni A, Barra A, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J Agric Food Chem* 54(12):4364-4370.

11. Arici SE, Sanli A. 2014. Effect of Some Essential Oils against *Rhizoctonia solani* and *Streptomyces scabies* on Potato Plants in Field Conditions. *Annu Res Rev Biol* 4(12):2027-2036.
12. Ayoub F, Chebli B, Ayoub M, Hafidi A, Salghi R, Jodeh S. 2017. Antifungal effectiveness of fungicide and peroxyacetic acid mixture on the growth of *Botrytis cinerea*. *Microbial Pathogenesis* 105:74-80.
13. Bahraminejad S, Abbasi S, Fazlali M. 2011. *In vitro* antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi. *Afr J Biotechnol* 10(72):16193-16201.
14. Bajpai VK, Kang SC. 2012. *In vitro* and *in vivo* inhibition of plant pathogenic fungi by essential oil and extracts of *Magnolia liliiflora* Desr. *J Agr Sci Tech* 14:845–856.
15. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food Chem Toxicol* 46(2):446-475.
16. Bassolé IHN, Juliani HR. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 17:3989–4006.
17. Begum J, Bhuiyan MNI, Chowdhury JU, Hoque MN, Anwar MN. 2008. Antimicrobial Activity of Essential Oil from Seeds od *Carum carvi* and Its Composition, *Bangladesh J Microbiol* 25(2):85-89.
18. Bennet JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 16(3):497-516.
19. Berka-Zougali B, Ferhat MA, Hassani A, Chemat F, Allaf KS. 2012. Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *Int J Mol Sci* 13(4):4673-4695.
20. Bhagwat MK, Datar AG. 2014. Antifungal activity of herbal extracts against plant pathogenic fungi. *Arch Phytopath Plant Protect* 47(8):959-965.
21. Bi Y, Jiang H, Hausbeck MK, Hao JJ. 2012. Inhibitory effects of essential oils for controlling *Phytophthora capsici*. *Plant disease* 96(6):797-803.
22. Boukhatem MN, Kameli A, Saidi F. 2013. Essential oil of Algerian rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical composition and antimicrobial activity against food spoilage pathogens. *Food Control* 34(1):208-213.
23. Bullón GG, Goggi AS. 2005. Use of Plant-Made Essential Oils as Biological Seed Treatment in Soybean, The ASA-CSSA-SSSA International Annual Meetings, Novembr 2005, Salt Lake City, UT.

24. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *Int J Food Microbiol* 94(3):223-253.
25. Camele I, Altieri L, De Martino L, De Feo V, Mancini E, Rana GL. 2012. *In vitro* control of post-harvest fruit rot fungi by some plant essential oil components. *Int J Mol Sci* 13(2):2290-2300.
26. Chakraborty S, Newton AC. 2011. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathol* 60(1):2-14.
27. 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.
28. Cimino AM, Boyles AL, Thayer KA, Perry MJ. 2017. Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review. *Environ Health Perspect* 125(2):155-162.
29. Combrinck S, Regnier T, Kamatou GPP. 2011. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Ind Crops Prod* 33(2):344–349.
30. Ćosić J, Vrandečić K, Jurkovic D. 2014. The Effect of Essential Oils on the Development of Phytopathogenic Fungi. *Biological Controls for Preventing Food Deterioration: Strategies for Pre-and Postharvest Management* 273-291.
31. 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(2):25-28.
32. Ćosić J, Vrandečić K, Svitlica B. 2004. Fusarium vrste izolirane s pšenice i kukuruza u istočnoj Hrvatskoj. *Poljoprivreda* 10(1):5-8.
33. da Cruz Cabral L, Pinto FV, Patriarca A. 2013. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *Int J Food Microbiol* 166:1-14.
34. da Silva Bomfim N, Nakassugi LP, Oliveira JFP, Kohiyama CY, Mossini SAG, Grespan R, Nerilo SB, Mallmann CA, Filho BAA, Machinski M. 2015. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chem* 166:330-336.
35. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J Agric Food Chem* 48(6):2576-2581.

36. Daniel CK, Lennox CL, Vries FA. 2015. In vivo application of garlic extracts in combination with clove oil to prevent postharvest decay caused by *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Neofabraea alba* on apples. *Postharvest Biol Technol* 99:88-92.
37. Dawoud M, Bundschuh M, Goedkoop W, McKie BG. 2017. Interactive effects of an insecticide and a fungicide on different organism groups and ecosystem function in a stream detrital food web. *Aquat Toxicol* 186:215-221.
38. De M, De AK, Sen P, Banerjee AB, 2002. Antimicrobial Properties of Star Anise (*Illicium verum* Hook f). *Phytother Res* 16(1):94–95.
39. Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol* 13(4):414-430.
40. Degraeve S, Madege RR, Audenaert K, Kamala A, Ortiz J, Kimanya M, Tiisekwa B, De Meulenaer B, Haesaert G. 2016. Impact of local pre-harvest management practices in maize on the occurrence of *Fusarium* species and associated mycotoxins in two agro-eco systems in Tanzania. *Food Control* 59:225-233.
41. Derwich E, Benziane Z, Chabir R, Bouseta A. 2013. Antifungal activity and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) leaf oil analysis of essential oils extracted from *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) of north centre region of Morocco. *Afr J Pharm Pharmacol* 7(19):1157-1162.
42. Dev U, Devakumar C, Mohan J, Agarwal PC. 2004. Antifungal activity of aroma chemicals against seed-borne fungi. *J Essent Oil Res* 16(5):496-499.
43. Diao WR, Hu QP, Zhang H, Xu JG. 2014. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control* 35(1):109-116.
44. Dillard HR, Cobb AC. 1998. Survival of *Colletotrichum coccodes* in Infected Tomato Tissue and in Soil. *Plant Dis* 82(2):235-238.
45. Dudoiu R, Fatu V, Lupu C, Popa D, Radu E, Popescu M. 2017. Antimycotic activity of *Ocimum basilicum* essential oil against stored fungi. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series* 46(1):154-158.
46. Duduk N, Markovic T, Vasic M, Duduk B, Vico I, Obradovic, A. 2015. Antifungal Activity of Thre Essential Oils against *Colletotrichum acutatum*, the Causal Agent of Strawberry Anthracnose. *Essent Oil Bear Pl* 18(3):529-537.

47. Dwivedi SK, Yadav U, Enespa. 2015. Efficacy of Some Medicinal Plant Extracts, Oil and Microbial Antagonists Against *Fusarium* spp. Affecting Brinjal and Guava Crops, Thomson, I. S. I. (2015). *Asian J Plant Pathol* 9(2):72-82.
48. Dzamic A, Sokovic M, Ristic MS, Grijic-Jovanovic S, Vukojevic J, Marin PD. 2009. Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. *Chem Nat Compd* 45(2):259-261.
49. Edris AE, Farrag ES. 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Mol Nutr Food Res* 47(2):117-121.
50. Eguchi Y, Widiastuti A, Odani H, Chinta YD, Shinohara M, Misu H, Kamoda H, Watanabe M, Hasegawa M, Sato, T. 2016. Identification of terpenoids volatilized from *Thymus vulgaris* L. by heat treatment and their in vitro antimicrobial activity. *Physiol Mol Plant Pathol* 94:83-89.
51. Elibariki R, Maguta MM. 2017. Status of pesticides pollution in Tanzania—A Review. *Chemosphere* 178:154-164.
52. El-Mohamedy RS, Abdel-Kader MM, Abd-El-Kareem F, El-Mougy NS. 2013. Essential oils, inorganic acids and potassium salts as control measures against the growth of tomato root rot pathogens *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology* 9(6):1507-1520.
53. Elshafie HS, Mancini E, Camele I, De Martino L, De Feo V. 2015. *In vivo* antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. *Ind Crops Prod* 66:11-15.
54. El-Shiekh YWA, El-Din NH, Shaymaa MAA, El-Din KAZ. 2012. Antifungal activity of some naturally occurring compounds against economically important phytopathogenic fungi. *Nat Sci* 10:114-123.
55. Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control* 22(6):896–902.
56. Etemadi NA, Behdad M, Zeinali H. 2012. Antifungal Effects of Three Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea* : The Cause of Gray Mold on Strawberry. *Journal of Research in Agricultural Science (JRAS)* 8(2):165-170.
57. Fitosanitarni informacijski sustav. Ministarstvo poljoprivrede (FIS) (pristupljeno 15.05.2017.)

58. Fonseca AOS, Pereira DIB, Jacob RG, Maia Filho FS, Oliveira DH, Maroneze BP, Valente S S, Osório LG, Botton SA, Meireles MCA. 2015. *In Vitro Susceptibility of Brazilian Pythium insidiosum Isolates to Essential Oils of Some Lamiaceae Family Species*. *Mycopathologia* 179(3-4):253-258.
59. Fornari T, Vicente G, Vázquez E, García-Risco MR, Reglero G. 2012. Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *J Chromatogr A* 1250:34-48.
60. Gakuubi MM, Maina AW, Wagacha JM. 2017. Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against Selected *Fusarium* spp. *Int J Food Microbiol* Article ID 8761610, 1-7.
61. Gatto MA, Ippolito A, Linsalata V, Cascarano NA, Nigro F, Vanadia S, Di Venere D. 2011. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol* 61(1):72-82.
62. Gebel MP, Magurno F. 2014. Assessment of the antifungal potential of the essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* causative agent of postharvest grey mould on strawberry fruits. Columella: *Journal of agricultural and environmental sciences (JEAS)* 1(2):17-24.
63. GraphPad Software, San Diego, CA, USA. Dostupno: <http://www.graphpad.com/> (pristupljeno 24 svibnja 2017).
64. Guillén F, Zapata PJ, Martínez-Romero D, Castillo S, Serrano M, Valero D. 2007. Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. *J Food Sci* 72(3):185-190.
65. Harkat-Madouri L, Asma B, Madani K, Said ZBOS, Rigou P, Grenier D, Allalou H, Remini H, Adjaoud A, Boulekbache-Makhlouf L. 2015. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind Crops Prod* 78:148-153.
66. Harris R. 2002. Progress with superficial mycoses using essential oils. *Int J Aromather* 12(2):83-91.
67. Hassiotis CN, Lazari DM, Vlachonasios KE. 2010. The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolia* Mill. *Fresen Environ Bull* 19(8):1491-1498.

68. Hong JK, Yang HJ, Jung H, Yoon DJ, Sang MK, Jeun YC. 2015. Application of volatile antifungal plant essential oils for controlling Pepper fruit anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Pathol J* 31(3):269-277.
69. Hossain F, Follett P, Vu KD, Harich M, Salmieri S, Lacroix M. 2016. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. *Food microbiol* 53:24-30.
70. Huang Y, Zhao J, Zhou L, Wang J, Gong Y, Chen X, Guo Z, Wang Q, Jiang W. 2010. Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component trans-anethole. *Molecules* 15(11):7558-7569.
71. Hung VP, Chi PTL, Phi NTL. 2013. Comparison of antifungal activities of Vietnamese citrus essential oils. *Nat Prod Res* 27(4-5):506-508.
72. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies and interactions with food matrix components. *Front Microbiol* 3(12):1-24.
73. Iacobelis NS, 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.
74. Ilboudo O, Bonzi S, Tapsoba I, Somda I, Bonzi-Coulibaly YL. 2016. In vitro antifungal activity of flavonoid diglycosides of *Mentha piperita* and their oxime derivatives against two cereals fungi. *C R Chim* 19(7):857-862.
75. Ismail MA, Moubasher AAH, El-Eraky AMI, El-Shaer AH, Gouda HA. 2017. Virulence of wilt pathogens against *Pepper* cultivars in Egypt. *IJTRS* 1(10):304-314.
76. Jamiołkowska A. 2008. Pathogenicity of some isolates of *Colletotrichum coccodes* and *Fusarium* spp. to sweet pepper (*Capsicum annuum*) seedlings. *Phytopathol Pol* 49:65-71.
77. Jing X, Yao G, Liu D, Liang Y, Luo M, Zhou Z, Wang P. 2017. Effects of waste water irrigation and sewagesludge application on soil residues of chiral fungicide benalaxyd. *Environ Pollut* 224:1-6.
78. Joshi M, Srivastava R, Sharma K, Prakash A. 2013. Isolation and characterization of *Fusarium oxysporum*, a wilt causing fungus, for its pathogenic and non-pathogenic nature in tomato (*Solanum lycopersicum*). *J App Nat Sci* 5(1):108-117.
79. Jurković D, Ćosić J, Vrandečić K. 2010. Bolesti cvijeća i ukrasnog bilja. *Poljoprivreda* 16(1):74-74.

80. Kalemba D, Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* 10(10):813-829.
81. Karimi K, Arzanlou M, Pertot I. 2016. Antifungal activity of the dill (*Anethum graveolens* L.) seed essential oil against strawberry anthracnose under *in vitro* and *in vivo* conditions. *Arch Phytopathology Plant Protect* 49(19-20):554-566.
82. Katooli N, Maghsodlo R, Honari H, Razavi SE. 2012. Fungistatic activity of Essential oil of *Thyme* and *Eucalyptus* against Postharvest and soilborne Plant Pathogenic fungi. *Global Journal of Medical Plant Research (GJMPR)* 1(1):1-4.
83. Kedia A, Jha DK, Dubey NK. 2015. Plant essential oils as natural fungicides against stored product fungi. The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, *Technological Advances and Educational Programs* (A. Mendez-Vilas, Ed.) 2:208-214.
84. Khalid S, Mohamed B, Mhamed R, Tariq BED, Fatima J, Laila N, Lhoussaine ER. 2015. Antifungal potential of the Seed and Leaf *Foeniculum vulgare* Mill essential Oil in liquid and vapor phase against phytopathogenic fungi. *J Appl Pharm Sci* 5(11):050-054.
85. Kishore GK, Pande S, Harish S. 2007. Evaluation of essential oils and their components for broad-spectrum antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut. *Plant Dis* 91(4):375-379.
86. Kishore GK, Pande S. 2004. Natural fungicides for management of phytopathogenic fungi. *Annu Rev Plant Pathol* 3:331-356.
87. Küçükbay FZ, Kuyumcu E, Çelen S, Azaz AD, Arabacı, T. 2014. Chemical Composition of the Essential Oils of Three *Thymus* Taxa from Turkey with Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Rec Nat Prod* 8(2):110-120.
88. Lee SO, Choi GJ, Jang KS, Lim HK, Cho KY, Kim JC. 2007. Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against post-harvest and soilborne plant pathogenic fungi. *Plant Pathol J* 23(2):97-102.
89. Li Y, Shao X, Xu J, Wei Y, Xu F, Wang H. 2017. Effects and possible mechanism of tea tree oil against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* *in vitro* and *in vivo* test. *Can J Microbiol* 63(3):219-227.
90. Lis-Balchin M. 2006. Aromatherapy Science: A guide for healthcare professionals, *Pharmaceutical Press, London, UK*, 297, 327 pp.

91. López-Malo A, Palou E, León-Cruz R, Alzamora SM. 2006. Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. In *Advances in food mycology*. Springer, US, 261-286 pp.
92. López-Meneses AK, Sánchez-Mariñez RI, Quintana-Obregón EA, Parra-Vergara NV, González-Aguilar GA, López-Saiz CM, Cortez-Rocha MO. 2017. *In vitro* Antifungal Activity of Essential oils and Major Components against Fungi Plant Pathogens. *J Phytopathol* 165(4):232-237.
93. Lu M, Han Z, Xu Y, Yao L. 2013. Effects of essential oils from Chinese indigenous aromatic plants on mycelial growth and morphogenesis of three phytopathogens. *Flavour Fragr J* 28(2):84-92.
94. Maceljski M, Cvjetković B, Ostojić Z, Barić B. 2006. Štetočinje vinove loze. *Zrinski d.d. Čakovec*.
95. Marandi RJ, Hassani A, Ghosta Y, Abdollahi A, Pirzad A, Sefidkon F. 2011. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on pear with *Thymus kotschyanus*, *Ocimum basilicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *J Med Plants Res* 5(4):626-634.
96. Marei GIK, Rasoul MAA, Abdelgaleil SAM. 2012. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pest Biochem Physiol* 103(1):56-61.
97. Marín S, Velluti A, Ramos AJ, Sanchis V. 2004. Effect of essential oils on zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in non-sterilized maize grain. *Food Microbiol* 21(3):313-318.
98. Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Tadesse S. 2016. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *Int J Microbiol Volume* 2016, 8 pages.
99. Moghaddam M, Pourbaige M, Tabar H K, Farhadi N, Hosseini SMA. 2013. Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil from Iran. *J Essent Oil Bear Pl* 16(4):506-512.
100. Moghtader M, Salari H, Farahm A. 2011. Evaluation of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of *Aspergillus flavus*. *J Ecol Nat Environ* 3(6):210-214.
101. Mohammadi A, Hashemi M, Hosseini SM. 2016. Postharvest treatment of nanochitosan-based coating loaded with *Zataria multiflora* essential oil improves antioxidant activity and extends shelf-life of cucumber. *Innov Food Sci Emerg Tech* 33:580-588.

102. Morcia C, Malnati M, Terzi V. 2012. *In vitro* antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxicogenic plant pathogens. *Food Addit Contam Part A* 29(3):415-422.
103. Moreira MR, Alvarez MV, Ponce AG. 2016. Essential Oils. In Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce. *Springer International Publishing* 113-124 pp.
104. Mugnaini L, Nardoni S, Pistelli L, Leonardi M, Giulietti L, Benvenuti MN, Pisseri F, Mancianti F. 2013. A herbal antifungal formulation of *Thymus serpillum*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* for treating ovine dermatophytosis due to *Trichophyton mentagrophytes*. *Mycoses* 56(3):333-337.
105. Nguefack LV, Amvam Zollo PH. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *Int J Food Microbiol* 94(3):329–334.
106. Nguyen PA, Strub C, Fontana A, Schorr-Galindo S. 2017. Crop molds and mycotoxins: Alternative management using biocontrol. *Biol Control* 104:10-27.
107. Nosrati S, Esmaeilzadeh-Hosseini SA, Sarpeleh A, Soflaei-Shahrabak M, Soflaei-Shahrabak Y. 2011. Antifungal activity of (*Mentha spicata* L.) essential oil on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* the causal agent of stem and crown rot of greenhouse cucumber in Yazd. Iran. *ICEAE* 15:52-56.
108. Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H, Trabelsi N, Ksouri R, Valentin E, Bakhrouf A. 2011. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *J Med Plants Res* 5(17):4147-4156.
109. Oerke E-C. 2006. Crop losses to pests. *J Agr Sci* 144(1):31–43.
110. Ogah CO, Coker HB, Adepoju-Bello AA. 2016. Organophosphate and carbamate pesticide residues in beans from markets in Lagos State, Nigeria. *Journal of Innovative Research in Engineering and Sciences (IJIRAE)* 2(1):50-61.
111. Oh SO, Kim JA, Jeon HS, Park JC, Koh YJ, Hur H, Hur JS. 2008. Antifungal activity of *Eucalyptus*-derived phenolics against post harvest pathogens of kiwifruits. *Plant Pathol J* 24(3):322-327.
112. Outaleb T, Hazzit M, Ferhat Z, Baaliouamer A, Yekkour A, Zitouni A, Sabaou N. 2015. Composition, antioxidant and antimicrobia activities of algerian *Rosmarinus officinalis* L. extracts. *J Essent Oil Bear Pl* 18(3):654-665.

113. Özek T, Tabanca N, Demirci F, Wedge DE, Bašer KHC. 2010. Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential Oils and Their Biological Activities. *Rec Nat Prod* 4(4):180-192.
114. Palfi M, Mihaljević-Herman V, Čosić J, Popijač V, Puhač Bogadi N. 2017. In vitro antibacterial activity of essential oils on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *16. Ružičkini dani: "DANAS ZNANOST - SUTRA INDUSTRIMA", Zbornik radova In press.*
115. Parađiković N, Baličević R, Vinković T, Parađiković D, Karlić J. 2007. Biološke mjere zaštite u proizvodnji gerbera i presadnica rajčice. *Agronomski glasnik* 69(5):355-364.
116. Pedrotti C, Ribeiro RTS, Schwambach J. 2017. Control of Postharvest Fungal Rots on Grapes Using Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. *J Agr Sci* 9(4):205-216.
117. Pereira TS, de Sant'Anna JR, Silva EL, Pinheiro AL, de Castro-Prado MAA. 2014. In vitro genotoxicity of *Melaleuca alternifolia* essential oil in human lymphocytes. *J ethnopharmacol* 151(2):852-857.
118. Perez-Sanchez R, Inflante F, Galvez C, Ubera JL. 2007. Fungitoxic Activity Against Phytopathogenic Fungi and the Chemical Composition of *Thymus zygis* Essential Oils. *Food Sci Tech Int* 13(5):341-347.
119. Perina FJ, Amaral DC, Fernandes RS, Labory CRG, Teixeira GA, Alves E. 2015. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: effects on growth, viability, early infection and cellular mode of action. *Pest Manag Sci* 71(10):1371-1378.
120. Piyo A, Udomsilp J, Khang-Khun P, Thobunluepop P. 2009. Antifungal activity of essential oils basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and sweet fennel (*Ocimum gratissimum* Linn.): Alternative strategies to control pathogenic fungi in organic rice. *As J Food Ag-Ind Special Issue:S2-S9.*
121. Roselló J, Sempere F, Sanz-Berzosa I, Chiralt A, Santamarina MP. 2015. Antifungal activity and potential use of essential oils against *Fusarium culmorum* and *Fusarium verticillioides*. *J Essent Oil Bear Pl* 18(2):359-367.
122. Rowe P. 2016. *Essential Statistics for the Pharmaceutical Sciences*. 2nd ed. Chichester: Wiley.
123. Saharkhiz M J, Motamedi M, Zomorodian K, Pakshir K, Miri R, Hemyari K. 2012. Chemical composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharm* 2012:1-6.

124. Saharkhiz MJ, Goudarzi T. 2014. Foliar application of salicylic acid changes essential oil content and chemical compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.). *J Essent Oil Bear Pl Plants* 17(3):435-440.
125. Sarkhosh A, Vargas AI, Schaffer B, Palmateer AJ, Lopez P, Soleymani A, Farzaneh M. 2017. Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. *Food Packaging and Shelf Life* 12:16–22.
126. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol* 35(4):275-280.
127. Şesan TE, Enache E, Iacomi BM, Oprea M, Oancea F, Iacomi C. 2015. Antifungal activity of some plant extracts against *Botrytis cinerea* Pers. in the blackcurrant crop (*Ribes nigrum* L.). *Acta Sci Pol, Hortorum Cultus* 14(1):29-43.
128. Shao X, Cao B, Wang H, Cheng S. 2013a. Bioactivity of tea tree oil and application in the prawn preservation. *Jiangsu J Agri Sci* 29(1):172-177.
129. Shao X, Wang H, Xu F, Cheng S. 2013b. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 77:94-101.
130. Sharma A, Rajendran S, Srivastava A, Sharma S, Kundu B. 2017. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *J Biosci Bioeng* 123(3):308-313.
131. Siripornvisal S, Rungprom W, Sawatdikarn S. 2009. Antifungal activity of essential oils derived from some medicinal plants against grey mould (*Botrytis cinerea*). *As J Food Ag-Ind Special Issue* S229-S233.
132. Sitara U, Niaz I, Naseem J, Sultana N. 2008. Antifungal effect of Esential oils on *in vitro* growth of pathogenic fungi. *Pak J Bot* 40(1):409-414.
133. Soković MD, Vukojević J, Marin PD, Brkić DD, Vajs V, van Griensven LJLD. 2009. Chemical Composition of Essential Oils of Thymus and *Mentha* Species and Their Antifungal Activities. *Molecules* 14(1):238-249.
134. Soylu EM, Kurt Ş, Soylu S. 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int J Food Microbiol* 143(3):183-189.
135. Stefan M, Zamfirache M, Padurariu C, Truta E, Gostin I. 2013. The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. *Cent Eur J Biol* 8(6):600–608.

136. Suhr KI, Nielsen PV 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *J Appl Microbiol* 94(4):665-674.
137. Sukatta U, Haruthaithasan V, Chantarapanont W, Dilokkunanan U, Suppakul P. 2008. Antifungal activity of clove and cinnamon oil and their synergistic against postharvest decay fungi of grape *in vitro*. *Kasetsart J (Nat Sci)* 42:169-174.
138. Sumalan RM, Alexa E, Poiana MA. 2013. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chem Cent J* 7(1):32.
139. Tahmasebi A, Andi SA, Ahmadi MR, Ghods Alavi BS, Tahmasebi A. 2012. Inhibitory effect of essential oils of *Sclerorhachis platyrachis* and *Sclerorhachis leptoclada* on phytopathogenic fungi. *Int J of AgriScience* 2(1):48-53.
140. Tajkarimi MM, Ibrahima SA, Cliver DO. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* 21(9):1199–1218.
141. Tanović B, Gašić S, Hrustić J, Mihajlović M, Grahovac M, Delibašić, Stevanović M. 2013. Development of Thyme Essential Oil Formulation and Its Effect on *Monilinia fructigena*. *Pestc Phytomed* 28(4):273-280.
142. Tanović B, Milijašević S, Todorović B, Potočnik I, Rekanović E. 2005. Toxicity of essential oils to *Botrytis cinerea* Pers. *in vitro*. *Pesticidi i fitomedicina* 20(2):109-114.
143. Tavares AC, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Lopes MC, Canhoto J, Salgueiro LR. 2008. Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity. *J Ethnopharmacol* 119(1):129-134.
144. Tešević V, Milosavljević S, Vajs V, Đorđević I, Soković M, Lavadinović V, Novaković M. 2009. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Douglas fir (*Pseudosuga menziesii* Mirb. Franco) from Serbia. *J Serb Chem Soc* 74(10):1035-1040.
145. Theron MM, Lues JFR. 2007. "Organic acids and meat preservation: a review." *Food Rev Int* 23(2):141-158.
146. Tian J, Ban X, Zeng H, He J, Chen Y, Wang Y. 2012. The Mechanism of Antifungal Action of Essential Oil from Dill (*Anethum graveolens* L.) on *Aspergillus flavus*. *PLoS ONE* 7(1):e30147.

147. Topolovec-Pintarić S. 2000. Urođena i stečena otpornost *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. na botriticide u vinogradima i suodnos rezistentnih patotipova. Doktorska disertacija. *Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*.
148. Tripathi P, Dubey NK, Shukla AK. 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World J Microbiol Biotechnol* 24(1):39-46.
149. Türkölmez S, Soylu EM. 2014. Antifungal efficacies of plant essential oils and main constituents against soil-borne fungal disease agents of bean. *J Essent Oil Bear Pl* 17(2):203-211.
150. Velluti A, Sanchis V, Ramos AJ, Egido J, Marín S. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *Int J Food Microbiol* 89(2-3):145-154.
151. Velluti A, Sanchis V, Ramos AJ, Marín S. 2004.b. Effects of essential oils of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarosa on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium verticillioides* in maize grain. *J Sci Food Agr* 84(10):1141-1146.
152. Velluti A, Sanchis V, Ramos AJ, Turon C, Marín S. 2004.a. Impact of essential oils on growth rate, zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* under different temperature and water activity conditions in maize grain. *J Appl Microbiol* 96(4):716-724.
153. Verma RS, Rahman LU, Chanotiya CS, Verma RK, Chauhan A, Yadav A, Singh A, Yadav AK. 2010. Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhandn, India. *J Serb Chem Soc* 75(3):343-348.
154. Vieira PRN, de Morais SM, Bezerra FHQ, Ferreira PAT, Oliveira ÍR, Silva MGV. 2014. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Ocimum species*. *Ind Crops Prod* 55:267-271.
155. Villalobos FJ, Fereres E. 2016. Application of Herbicides and Other Biotic Control Agents." In Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture. *Springer International Publishing* 471-485 pp.
156. Vitoratos A, Bilalis D, Karkanis A, Efthimiadou A. 2013. Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Not Bot Horti Agrobo* 41(1):86-92.
157. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez J. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.),

- grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control* 19(12):1130-1138.
158. Wang CY, Wang SY, Chen C. 2008. Increasing Antioxidant Activity and Reducing Decay of *Blueberries* by Essential Oils. *J Agric Food Chem* 56(10):3587-3592.
159. Yang VW, Clausen CA. 2007. Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *Int Biodeter Biodegr* 59:302-306.
160. Yilmaz A, Ermis E, Boyraz N. 2016. Investigation of in vitro and in vivo anti-fungal activities of different plant essential oils against postharvest applerot deseases *Colletotrichum gleosporioides*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Arch Lebensmittelhyg* 67(1):122-131.
161. Yohalem D, Passey T. 2011. Amendment of soils with fresh and post-extraction lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula × intermedia*) reduce inoculum of *Verticillium dahliae* and inhibit wilt in strawberry. *Appl Soil Ecol* 49:187-196.
162. Youssef K, Abd-Elsalam KA, Hussien A, Sanzani SM, Ippolito A. 2017. Organic and Inorganic Salts as Postharvest Alternative Control Means of Citrus. *In Citrus Pathology* 161- 177 pp. InTech.
163. Yu D, Wang J, Shao X, Xu F, Wang H. 2015. Antifungal modes of action of tea tree oil and its two characteristic components against *Botrytis cinerea*. *J Appl Microbiol* 119(5):1253-1262.
164. Zambonelli A, D'Aulerio AZ, Bianchi A, Albasini A. 1996. Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi *In Vitro*. *J Phytopathol* 144(9-10):491-494.
165. Ziedan EHE, Farrag ES. 2008. Fumigation of peach fruits with essential oils to control postharvest decay. *Res J Agric Biol Sci* 4(5):512-519.
166. Zohra HF, Rachida A, Malika M, Benali S, Samir AA, Meriem B. 2015. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of Algerian citrus. *Afr J Biotechnol* 14(12):1048-1055.

## 8. Prilozi

**Tablica A1.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Fusarium oxysporum* – četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primijenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	59±2,4	60±4,0	52 ±3,1	52±6,8	45±4,2	9±2,7	0±0,0	0±0,0
· terpinenol-4	58±1,5	55±0,8	62±5,8	61±2,1	19±2,5	12±1,4	0±0,0	0±0,0
· terpinen gama	61±0,8	60±1,4	65±1,0	62±4,6	59±1,9	55±0,5	53±1,0	53±3,7
<i>Ilicum verum</i>	60±3,3	55±3,7	30±1,7	35±2,1	8±2,4	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	49±6,9	43±7,6	39±3,7	24±2,5	9±12,3	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· estragol	64±2,2	64±2,0	66±0,6	65±1,0	58±2,1	59±1,3	60±0,0	60±4,2
<i>Citrus limon</i>	51±1,7	51±2,5	52±1,7	49±3,3	53±2,5	32±1,8	27±2,4	23±3,4
· d-limonen	69±1,3	69±0,8	76±14,7	67±0,5	45±7,4	44±3,7	33±4,9	30±4,2
· pinen beta	67±1,0	67±1,3	68±1,0	66±1,4	56±7,6	60±1,6	59±1,8	60±1,7
<i>Mentha x piperita</i>	58±4,0	60±6,0	49±3,4	47±9,9	36±3,8	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· mentol	69±0,5	68±0,5	68±1,2	66±3,2	60±0,5	42±3,4	35±3,4	35±4,0
· menton	68±1,3	67±0,6	67±1,3	67±0,8	61±2,2	51±1,2	55±0,5	50±5,9
<i>Foeniculum vulgare</i>	42±2,6	49±2,9	31±0,8	30±1,7	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	56±10,3	49±7,1	34±5,7	31±7,3	41±8,4	40±3,2	19±3,9	30±6,9
· d-limonen	65±1,6	59±1,7	58±4,5	53±3,4	57±3,2	66±1,4	67±2,4	62±4,4
<i>Ocimum basilicum</i>	55±0,8	56±2,6	61±1,3	53±1,3	37±3,4	20±4,0	24±5,7	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	76±2,2	74±1,6	61±2,8	56±1,4	53±1,5	53±1,3
· linalol	65±2,5	67±1,3	66±1,0	64±1,5	56±2,7	56±2,5	53±1,7	54±1,7
<i>Eucalyptus globulus</i>	67±2,4	64±0,8	61±1,8	64±1,3	58±5,3	47±1,5	39±6,8	40±3,3
· eukaliptol	67±2,6	63±1,9	59±0,8	59±1,0	60±0,5	54±1,0	50±0,5	47±10,4
· d-limonen	58±1,3	59±1,3	57±4,1	60±1,3	55±3,6	55±4,3	50±6,5	47±2,4
<i>Rosmarinus officinalis</i>	66±1,0	66±1,4	62±1,3	63±1,9	61±1,2	26±0,5	23±1,3	6±4,2
· eukaliptol	57±2,7	59±1,5	61±1,2	61±1,0	62±1,7	60±4,2	57±1,3	57±3,2
· pinen alfa plus	59±1,4	61±1,0	63±1,2	60±0,6	63±2,8	58±1,7	55±1,7	55±2,1
<i>Lavandula angustifolia</i>	61±1,0	65±4,0	59±4,8	54±7,0	34±13,2	18±5,7	0±0,0	0±0,0
· linalol	58±1,4	56±4,1	60±1,5	52±4,1	55±3,2	54±3,9	52±4,9	54±5,9
· linalil acetat	65±2,9	62±1,3	61±1,0	63±1,5	56±2,1	62±2,4	60±0,8	60±1,3
<i>Thymus vulgaris</i>	19±2,4	2±3,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	38±1,3	33±3,3	36±4,7	27±8,7	27±0,8	19±3,1	18±2,9	7±0,8

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A2.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Fusarium oxysporum* – osmi dan nakon nacjepljivanja micelija

<b>Eterična ulja</b>	<b>Primijenjeni volumeni</b>							
	<b>3 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>5 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>7 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>9 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>15 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>30 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>50 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>70 <math>\mu\text{L}</math></b>
<i>Melaleuca alternifolia</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	72±11,5	36±4,1	0±0,0	0±0,0
· terpinenol-4	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	47±4,1	44±2,9	0±0,0	0±0,0
· terpinen gama	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ilicum verum</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	47±6,4	8±2,6	0±0,0	0±0,0
· anetol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	62±6,7	42±16,1	20±2,4	0±0,0	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Citrus limon</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	76±2,4	66±3,9
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	82±9,3	90±0,0	73±1,9	64±5,1
· pinen beta	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Mentha x piperita</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	64±4,9	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· mentol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· menton	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Foeniculum vulgare</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	35±2,2	19±11,3	6±4,9	0±0,0
· anetol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ocimum basilicum</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	78±8,9	65±5,0	55±7,6	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Eucalyptus globulus</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	67±1,7	55±2,5	31±4,0
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· pinen alfa plus	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Lavandula angustifolia</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	76±16,0	65±9,4	33±8,7	0±0,0
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalil acetat	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Thymus vulgaris</i>	42±6,2	4±8,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	58±2,8	55±7,1	53±3,9	39±9,6	37±3,3	28±1,7	23±1,3	15±1,4

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A3.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Botrytis cinerea* - četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija

<b>Eterična ulja</b>	<b>Primijenjeni volumeni</b>							
	<b>3 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>5 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>7 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>9 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>15 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>30 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>50 <math>\mu\text{L}</math></b>	<b>70 <math>\mu\text{L}</math></b>
<i>Melaleuca alternifolia</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	21±5,1	16±3,2	0±0,0
· terpinenol-4	90±0,0	90±0,0	64±3,8	51±5,0	37±2,2	48±7,6	11±13,0	0±0,0
· terpinen gama	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ilicum verum</i>	90±0,0	90±0,0	49±7,8	52±5,4	32±13,0	8±0,5	7±1,0	7±1,0
· anetol	90±0,0	90±0,0	40±11,1	25±4,9	10±3,6	11±6,0	0±0,0	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Citrus limon</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	58±2,5	57±3,1	60±0,8
· pinen beta	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	80±3,3	82±1,7	83±2,2
<i>Mentha x piperita</i>	90±0,0	90±0,0	82±15,5	68±20,5	50±27,0	7±1,4	0±0,0	0±0,0
· mentol	90±0,0	90±0,0	75±1,7	75±2,7	71±6,6	68±1,7	57±4,7	55±6,2
· menton	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	69±4,0	69±6,5	65±4,8
<i>Foeniculum vulgare</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	55±19,6	59±9,5	8±1,2	0±0,0	0±0,0
· anetol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	68±2,5	55±3,3
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ocimum basilicum</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	22±15,2	12±5,0	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Eucalyptus globulus</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	50±4,9	19±2,9	0±0,0
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· pinen alfa plus	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Lavandula angustifolia</i>	90±0,0	90±0,0	81±11,8	90±0,0	90±0,0	23±3,1	29±9,0	16±8,3
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalil acetat	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Thymus vulgaris</i>	58±6,4	68±3,3	10±3,6	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	78±14,0	65±2,2	44±3,0	29±2,5	19±2,6

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4)

**Tablica A4.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Botrytis cinerea* - osmi dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primijenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	53±3,4	39±4,9
· terpinenol-4	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	39±11,0	0±0,0
· terpinen gama	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ilicum verum</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	87±6,5	37±8,1
· anetol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	0±0,0	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Citrus limon</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· pinen beta	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Mentha x piperita</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	47±12,8	0±0,0	0±0,0
· mentol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· menton	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Foeniculum vulgare</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	7±1,0	0±0,0
· anetol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Ocimum basilicum</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	59±9,2	0±0,0
· estragol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Eucalyptus globulus</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· d-limonen	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	56±17,4
· eukaliptol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· pinen alfa plus	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Lavandula angustifolia</i>	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	47±8,7
· linalol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
· linalil acetat	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0
<i>Thymus vulgaris</i>	90±0,0	90±0,0	27±15,8	10±4,1	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0	90±0,0

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A5.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Colletotrichum coccodes* - četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primijenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	18±1,3	17±1,0	15±0,5	11±1,3	12±1,0	12±1,4	1±2,5	0±0,0
· terpinenol-4	18±0,8	18±0,6	15±0,6	16±0,6	6±1,2	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· terpinen gama	17±1,0	17±1,0	16±1,0	16±1,4	16±0,8	15±1,6	15±2,4	13±1,7
<i>Ilicum verum</i>	19±1,3	14±1,7	10±1,5	0±0,0	2±3,2	2±3,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	19±0,8	17±1,4	15±1,8	9±1,9	8±1,0	6±0,0	0±0,0	0±0,0
· estragol	18±1,0	17±1,5	17±1,0	18±0,6	18±0,5	17±0,5	18±0,6	18±1,0
<i>Citrus limon</i>	16±1,0	19±1,0	18±0,8	19±1,7	17±1,0	13±1,4	10±0,8	8±1,0
· d-limonen	18±1,0	18±0,5	19±1,0	18±0,8	17±0,8	15±0,5	15±0,8	13±0,5
· pinen beta	19±1,3	19±1,7	19±1,3	18±0,5	18±0,8	18±1,7	19±2,1	15±0,5
<i>Mentha x piperita</i>	14±2,1	12±1,3	8±0,5	9±2,1	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· mentol	17±1,3	16±1,0	15±0,8	15±1,5	12±1,4	12±1,0	10±0,0	8±1,7
· menton	17±0,8	17±1,3	17±1,0	16±1,2	16±0,8	15±0,5	16±1,0	15±0,5
<i>Foeniculum vulgare</i>	17±1,3	11±3,2	5±3,8	10±1,5	4±4,5	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	18±0,8	17±1,2	18±1,0	17±1,0	16±0,8	17±0,6	13±0,5	12±0,8
· d-limonen	18±1,0	17±1,0	16±2,1	18±1,7	18±0,6	18±1,0	16±0,8	17±1,3
<i>Ocimum basilicum</i>	18±0,5	15±1,5	15±0,6	12±1,0	10±1,0	11±5,3	2±4,5	0±0,0
· estragol	18±0,8	18±1,0	17±0,8	17±1,0	17±1,0	19±0,8	17±0,5	16±0,5
· linalol	18±0,8	17±1,3	16±1,0	16±0,8	17±1,4	17±1,0	16±0,6	15±1,2
<i>Eucalyptus globulus</i>	17±1,3	16±2,2	16±1,8	17±0,5	17±2,1	19±2,2	18±2,8	18±3,0
· eukaliptol	19±0,5	19±1,3	19±1,5	18±1,5	18±0,8	19±1,4	18±1,0	16±1,0
· d-limonen	19±1,3	18±0,8	18±1,5	18±1,3	17±1,5	17±2,1	18±0,8	18±1,0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	15±2,7	18±1,0	17±1,5	17±0,8	15±1,5	11±1,0	8±0,6	0±0,0
· eukaliptol	18±0,8	18±0,6	18±1,0	18±1,3	18±1,4	19±1,0	17±1,7	16±1,8
· pinen alfa plus	19±0,5	17±2,2	18±0,6	17±1,3	18±0,5	18±0,8	16±1,0	17±0,5
<i>Lavandula angustifolia</i>	18±1,0	18±1,0	16±0,8	15±1,3	15±0,5	2±3,0	0±0,0	0±0,0
· linalol	18±1,2	18±0,5	17±0,5	17±0,5	17±1,7	18±1,0	17±1,6	17±0,8
· linalil acetat	20±1,3	20±1,9	19±0,6	18±1,2	18±1,4	20±1,3	18±0,5	18±0,0
<i>Thymus vulgaris</i>	8±1,5	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	13±2,2	11±1,9	12±1,7	9±1,0	9±0,8	9±1,0	0±0,0	0±0,0

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A6.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Colletotrichum coccodes* - osmi dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primijenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	31±0,6	34±0,6	29±2,2	23±1,3	27±1,7	23±2,1	10±7,2	0±0,0
· terpinenol-4	31±1,0	32±1,7	29±1,7	29±2,2	15±6,0	15±1,3	9±1,5	0±0,0
· terpinen gama	28±1,3	28±0,6	28±1,3	28±0,6	27±1,0	28±1,0	28±1,2	27±2,1
<i>Ilicum verum</i>	27±1,5	25±1,4	23±4,2	15±2,7	7±1,0	18±2,9	0±0,0	0±0,0
· anetol	25±1,0	26±0,6	24±0,8	20±1,7	17±1,7	18±2,5	6±0,0	0±0,0
· estragol	31±2,9	29±1,2	27±1,3	28±1,3	28±1,0	30±1,3	30±0,0	30±1,4
<i>Citrus limon</i>	30±0,8	27±1,5	26±1,0	28±1,6	25±1,8	27±1,6	19±2,9	18±1,7
· d-limonen	31±1,0	30±0,6	30±1,7	30±1,3	28±1,7	27±0,6	24±2,9	23±1,5
· pinen beta	29±2,2	28±0,8	30±1,3	29±1,5	29±1,3	29±1,7	27±1,9	26±4,2
<i>Mentha x piperita</i>	28±1,4	23±1,5	20±1,0	20±1,4	19±5,5	5±3,2	0±0,0	0±0,0
· mentol	26±1,7	25±1,0	26±2,5	24±2,2	24±1,0	23±1,0	21±1,7	19±4,0
· menton	26±1,3	29±1,0	30±2,8	27±1,3	26±2,1	26±3,3	27±0,8	28±0,5
<i>Foeniculum vulgare</i>	30±0,8	28±2,6	20±1,4	26±1,3	21±2,2	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	29±0,8	28±1,0	29±1,3	29±2,1	26±1,4	26±2,6	29±1,5	29±0,8
· d-limonen	27±1,0	26±1,0	24±4,0	28±1,0	27±1,0	27±1,0	27±0,6	27±1,7
<i>Ocimum basilicum</i>	28±0,5	27±0,0	26±0,5	27±0,5	25±2,0	25±4,4	11±7,6	0±0,0
· estragol	28±0,5	28±1,3	27±1,5	27±1,3	27±1,3	29±0,8	30±1,7	29±1,3
· linalol	29±0,8	27±1,0	28±1,4	29±0,6	30±2,5	29±1,0	29±1,3	28±1,8
<i>Eucalyptus globulus</i>	30±2,2	29±1,3	28±0,8	29±0,8	31±2,5	27±4,0	26±4,3	29±1,8
· eukaliptol	31±0,8	29±2,9	31±1,0	30±1,3	29±1,0	32±2,5	31±1,0	30±1,4
· d-limonen	30±2,1	29±1,0	30±1,5	29±1,3	28±1,3	28±0,6	28±1,0	30±1,3
<i>Rosmarinus officinalis</i>	29±1,3	31±1,3	26±1,5	27±2,1	29±1,7	21±0,5	17±1,3	19±4,6
· eukaliptol	30±1,5	28±0,5	31±1,5	30±2,5	31±2,2	32±2,2	29±3,0	29±1,5
· pinen alfa plus	33±0,6	24±14,1	32±0,6	31±1,3	32±1,0	31±1,3	30±1,0	30±0,5
<i>Lavandula angustifolia</i>	23±13,7	32±1,4	28±2,2	27±2,4	27±1,4	15±2,2	0±0,0	0±0,0
· linalol	30±2,1	28±0,8	28±1,3	28±0,0	29±2,9	29±1,3	28±2,9	28±1,4
· linalil acetat	31±1,0	32±2,2	30±1,8	30±1,7	29±3,2	32±1,3	32±0,8	33±1,0
<i>Thymus vulgaris</i>	16±1,41	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	27±4,0	24±3,1	24±3,1	20±0,8	18±1,4	18±2,2	6±0,0	3±3,5

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A7.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Colletotrichum coccodes* - dvanaesti dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primijenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	44±1,3	44±1,5	43±2,2	35±5,0	35±4,2	31±5,5	23±6,3	17±4,0
· terpinenol-4	45±0,8	46±1,4	42±1,0	41±0,6	25±12,1	28±1,9	20±4,8	0±0,0
· terpinen gama	44±1,0	44±0,5	43±2,1	43±0,6	43±0,8	39±2,2	42±1,0	44±2,9
<i>Ilicum verum</i>	40±2,2	38±2,9	37±4,5	27±3,2	20±2,6	27±3,8	0±0,0	0±0,0
· anetol	34±1,0	36±1,7	34±1,2	27±2,6	25±1,5	27±2,4	7±0,6	0±0,0
· estragol	43±1,8	41±1,0	39±1,3	39±1,3	40±0,8	43±1,7	41±1,0	42±1,4
<i>Citrus limon</i>	45±2,4	46±0,6	47±1,8	48±2,7	45±3,3	47±1,7	36±3,7	36±2,9
· d-limonen	44±1,0	43±2,2	44±1,0	47±1,3	43±2,6	43±0,6	38±1,7	35±0,8
· pinen beta	44±2,2	42±1,7	42±2,5	45±1,7	44±1,5	43±3,0	43±3,1	40±4,6
<i>Mentha x piperita</i>	43±1,0	36±1,2	32±1,0	34±2,8	28±8,3	16±4,6	0±0,0	0±0,0
· mentol	43±1,5	44±0,5	45±1,3	40±1,7	37±2,2	38±0,6	35±1,0	30±5,5
· menton	41±1,3	42±1,7	43±1,6	43±2,2	43±2,8	41±3,1	43±0,6	44±1,0
<i>Foeniculum vulgare</i>	45±0,5	42±2,4	33±1,5	39±1,3	37±2,6	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	44±1,3	44±1,7	45±2,2	43±2,6	44±0,8	46±2,7	43±1,0	39±1,4
· d-limonen	42±1,0	41±0,8	41±2,6	44±1,7	43±1,4	46±1,0	44±1,4	44±2,6
<i>Ocimum basilicum</i>	43±1,0	43±0,6	42±1,7	45±0,6	45±0,5	40±1,4	18±8,3	0±0,0
· estragol	42±0,6	42±1,4	42±1,3	43±1,8	43±1,7	45±1,3	45±1,0	44±2,5
· linalol	46±1,3	46±1,4	46±1,4	46±0,8	47±3,7	48±0,8	43±0,1	44±1,4
<i>Eucalyptus globulus</i>	43±1,7	42±1,3	43±1,9	43±1,8	46±2,4	41±1,0	39±3,3	44±1,9
· eukaliptol	46±0,8	43±3,2	44±1,4	42±1,0	43±0,8	49±2,2	47±1,0	44±2,5
· d-limonen	45±2,2	44±1,4	43±1,3	43±2,2	43±2,1	43±0,5	44±1,9	44±1,8
<i>Rosmarinus officinalis</i>	42±1,4	43±1,7	43±1,0	43±2,4	43±1,8	36±0,8	30±1,0	28±3,0
· eukaliptol	45±1,3	43±1,7	43±2,5	43±1,7	46±2,2	47±3,1	43±2,8	42±2,2
· pinen alfa plus	47±0,5	44±3,6	45±1,0	44±1,7	45±1,5	47±1,7	47±1,3	44±1,5
<i>Lavandula angustifolia</i>	45±2,6	45±0,5	42±2,6	40±1,7	38±2,4	28±3,6	14±4,4	18±2,4
· linalol	45±1,4	44±1,4	46±1,2	46±1,0	48±2,6	47±1,3	43±3,9	43±1,0
· linalil acetat	45±1,0	46±3,1	44±1,4	44±2,6	43±3,2	48±1,0	46±0,6	46±0,8
<i>Thymus vulgaris</i>	30±2,6	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	38±3,9	35±4,5	35±3,1	32±1,0	30±1,5	29±1,9	9±1,9	6±0,0

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

**Tablica A8.** Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$  / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija *Colletotrichum coccodes* - petnaesti dan nakon nacjepljivanja micelija

Eterična ulja	Primjenjeni volumeni							
	3 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	7 $\mu\text{L}$	9 $\mu\text{L}$	15 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	70 $\mu\text{L}$
<i>Melaleuca alternifolia</i>	56±1,4	56±2,2	54±2,2	50±1,7	49±2,8	42±5,2	31±6,5	23±3,8
· terpinenol-4	56±0,6	58±0,6	53±5,1	54±1,0	33±15,3	40±1,7	31±4,0	0±0,0
· terpinen gama	55±0,8	56±0,5	54±2,2	54±1,0	55±1,3	53±2,6	55±1,0	55±1,4
<i>Ilicum verum</i>	53±1,4	53±0,5	49±4,2	43±1,7	35±3,7	35±3,4	0±0,0	0±0,0
· anetol	56±1,7	56±1,7	53±1,8	44±4,6	40±0,8	45±3,9	13±4,0	2±3,5
· estragol	56±1,9	55±0,5	53±1,4	54±0,6	56±1,3	56±1,3	56±0,6	54±2,2
<i>Citrus limon</i>	58±1,7	58±2,2	58±0,8	59±2,7	56±4,4	53±2,2	44±2,4	40±1,5
· d-limonen	57±0,8	57±1,0	56±2,1	60±1,7	57±3,1	52±2,9	47±2,5	47±2,8
· pinen beta	56±1,7	58±1,3	56±2,1	58±3,1	57±1,8	55±2,2	56±2,1	52±2,9
<i>Mentha x piperita</i>	56±0,6	54±1,3	47±2,4	50±2,1	36±8,2	28±4,7	0±0,0	0±0,0
· mentol	56±0,8	56±1,3	56±2,6	53±1,9	51±1,3	50±0,8	47±1,7	44±6,0
· menton	56±2,5	56±2,4	57±3,7	59±2,7	57±1,9	52±2,9	54±1,3	52±0,8
<i>Foeniculum vulgare</i>	59±0,6	57±2,3	55±2,1	55±0,5	51±1,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· anetol	58±2,4	59±2,7	62±0,8	62±2,5	56±2,5	57±2,5	54±1,5	52±3,0
· d-limonen	55±1,0	54±1,4	55±2,6	57±2,1	54±1,0	57±1,0	55±1,0	56±2,6
<i>Ocimum basilicum</i>	56±1,3	56±0,6	55±1,6	55±1,3	54±2,1	52±5,0	29±8,5	0±0,0
· estragol	55±1,3	56±2,7	56±1,6	55±3,8	55±3,8	56±1,0	55±1,6	56±1,4
· linalol	58±1,8	57±1,5	58±1,3	58±0,6	58±2,7	59±2,5	58±2,1	58±2,7
<i>Eucalyptus globulus</i>	56±2,1	57±1,3	54±2,7	58±2,1	60±1,7	49±1,5	48±2,9	52±2,2
· eukaliptol	58±1,0	58±1,0	62±1,0	58±0,8	58±1,6	60±2,8	59±0,8	59±2,1
· d-limonen	58±1,7	56±2,1	54±2,6	55±1,7	55±2,1	54±3,3	57±2,5	55±2,5
<i>Rosmarinus officinalis</i>	56±1,4	57±1,7	57±1,8	56±1,3	55±2,6	44±2,1	37±1,0	36±3,4
· eukaliptol	58±1,6	54±1,7	53±2,9	53±2,2	59±1,4	62±3,2	56±2,9	57±2,5
· pinen alfa plus	62±1,3	62±1,3	61±2,2	61±1,9	61±1,8	60±1,9	59±1,5	58±2,2
<i>Lavandula angustifolia</i>	59±0,5	54±2,2	55±2,4	51±2,5	46±5,5	38±5,3	29±6,9	21±1,4
· linalol	60±1,3	57±1,8	57±1,8	57±1,3	60±4,5	60±2,6	56±1,6	57±1,3
· linalil acetat	61±0,8	61±2,2	61±1,9	62±2,4	61±1,7	62±0,8	58±0,5	61±1,3
<i>Thymus vulgaris</i>	42±2,9	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0	0±0,0
· timol	51±3,3	47±3,3	45±2,5	45±1,7	40±1,7	40±5,4	12±4,1	6±0,0

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  SD (n = 4).

## **8.1. Popis slika**

<b>Slika 1.</b>	Eterična ulja korištena u pokusu (Foto: Marina Palfi).....	<b>25</b>
<b>Slika 2.</b>	Komponente eteričnih ulja korištene u pokusu (Foto: Marina Palfi).....	<b>27</b>
<b>Slika 3.</b>	Fitopatogena gljivica <i>Fusarium oxysporum</i> korištena u pokusu (Foto: Marina Palfi).....	<b>29</b>
<b>Slika 4.</b>	Fitopatogena gljivica <i>Botrytis cinerea</i> korištena u pokusu (Foto: Marina Palfi).....	<b>29</b>
<b>Slika 5.</b>	Fitopatogena gljivica <i>Colletotrichum coccodes</i> korištena u pokusu (Foto: Marina Palfi).....	<b>30</b>
<b>Slika 6.</b>	Stavljanje kružnih isječaka fitopatogenih gljivica u Petrijevu zdjelicu (Foto: Marina Palfi).....	<b>31</b>
<b>Slika 7.</b>	Inkubacija fitopatogenih gljivica u termostat komori (Foto: Marina Palfi).....	<b>32</b>
<b>Slika 8.</b>	Promjeri rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> (Foto: Marina Palfi).....	<b>32</b>
<b>Slika 9.</b>	Promjeri rasta micelija <i>Botrytis cinerea</i> (Foto: Marina Palfi).....	<b>33</b>
<b>Slika 10.</b>	Promjeri rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> (Foto: Marina Palfi).....	<b>33</b>
<b>Slika 11.</b>	Učinak primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija <i>Fusarium oxysporum</i> četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>37</b>
<b>Slika 12.</b>	Učinak primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija <i>Botrytis cinerea</i> četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>38</b>
<b>Slika 13.</b>	Učinak primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> četvrti (a) i osmi (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>39</b>
<b>Slika 14.</b>	Učinak primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL}$ ) eteričnih ulja na promjer (mm) micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> dvanaesti (a) i petnaesti (b) dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>40</b>
<b>Slika 15.</b>	Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Fusarium oxysporum</i> - četvrti dan.....	<b>42</b>

<b>Slika 16.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Fusarium oxysporum</i> - osmi dan.....	<b>42</b>
<b>Slika 17.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Botrytis cinerea</i> - četvrti dan.....	<b>45</b>
<b>Slika 18.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Botrytis cinerea</i> - osmi dan.....	<b>45</b>
<b>Slika 19.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Colletotrichum coccodes</i> - četvrti dan.....	<b>48</b>
<b>Slika 20.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Colletotrichum coccodes</i> - osmi dan.....	<b>48</b>
<b>Slika 21.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Colletotrichum coccodes</i> - dvanaesti dan.....	<b>49</b>
<b>Slika 22.</b> Usporedba parametra <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnih ulja po učinku na rast <i>Colletotrichum coccodes</i> - petnaesti dan.....	<b>49</b>
<b>Slika 23.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja čajevca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>53</b>
<b>Slika 24.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja anisa ( <i>Ilicum verum</i> ) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>54</b>
<b>Slika 25.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja limuna ( <i>Citrus limon</i> ) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>55</b>
<b>Slika 26.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja paprene metvice ( <i>Mentha x piperita</i> ) i njegovih komponenti (mentol i menton) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>56</b>
<b>Slika 27.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja komorača ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize	

varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>56</b>
<b>Slika 28.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja bosiljka ( <i>Ocimum basilicum</i> ) i njegovih komponenti (estragol i linalol) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>57</b>
<b>Slika 29.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja eukaliptusa ( <i>Eucalyptus globulus</i> ) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>58</b>
<b>Slika 30.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja ružmarina ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>58</b>
<b>Slika 31.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja lavanda prava ( <i>Lavandula angustifolia</i> ) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za <i>Fusarium oxysporum</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>59</b>
<b>Slika 32.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja timijana ( <i>Thymus vulgaris</i> ) i njegove komponente timola za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>60</b>
<b>Slika 33.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja čajevca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>61</b>
<b>Slika 34.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja anisa ( <i>Ilicum verum</i> ) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>62</b>
<b>Slika 35.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja limuna ( <i>Citrus limon</i> ) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>62</b>
<b>Slika 36.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja paprene metvice ( <i>Mentha x piperita</i> ) i njegovih komponenti (mentol i menton) za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću analize	

varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>63</b>
<b>Slika 37.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja komorača ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>64</b>
<b>Slika 38.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja timijana ( <i>Thymus vulgaris</i> ) i njegove komponente timola za <i>Botrytis cinerea</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>64</b>
<b>Slika 39.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja čajevca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ) i njegovih komponenti (terpinenol-4 i terpinen gama) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>66</b>
<b>Slika 40.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja anisa ( <i>Ilicum verum</i> ) i njegovih komponenti (anetol i estragol) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>67</b>
<b>Slika 41.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja limuna ( <i>Citrus limon</i> ) i njegovih komponenti (d-limonen i pinen beta) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>68</b>
<b>Slika 42.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja paprene metvice ( <i>Mentha x piperita</i> ) i njegovih komponenti (mentol i menton) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>70</b>
<b>Slika 43.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja komorača ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) i njegovih komponenti (anetol i d-limonen) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>71</b>
<b>Slika 44.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja bosiljka ( <i>Ocimum basilicum</i> ) i njegovih komponenti (estragol i linalol) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	<b>72</b>
<b>Slika 45.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja eukaliptusa ( <i>Eucalyptus globulus</i> ) i njegovih komponenti (eukaliptol i d-limonen) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću	

analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	74
<b>Slika 46.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja ružmarina ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) i njegovih komponenti (eukaliptol i pinen alfa plus) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	75
<b>Slika 47.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja lavanda prava ( <i>Lavandula angustifolia</i> ) i njegovih komponenti (linalol i linalil acetat) za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću analize varijance (ANOVA) i Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	76
<b>Slika 48.</b> Usporedba <b>IC<sub>50</sub></b> eteričnog ulja timijana ( <i>Thymus vulgaris</i> ) i njegove komponente timola za <i>Colletotrichum coccodes</i> pomoću Tukey testa. Rezultati su prikazani kao <b>95 %</b> -tna granica pouzdanosti za <b>IC<sub>50</sub></b> .....	77

## 8.2. Popis tablica

<b>Tablica 1.</b>	Odnos primijenjenih doza fungicida (g / L ili mL / L) i na promjer rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> (mm) u usporedbi s kontrolom.....	35
<b>Tablica 2.</b>	Procijenjena vrijednost parametra <b>IC<sub>50</sub></b> za eterična ulja i njihove komponente četvrti i osmi dan nakon nacjepljivanja micelija <i>Fusarium oxysporum</i> .....	41
<b>Tablica 3.</b>	Procijenjena vrijednost parametra <b>IC<sub>50</sub></b> za eterična ulja i njihove komponente četvrti i osmi dan nakon nacjepljivanja micelija <i>Botrytis cinerea</i> .....	44
<b>Tablica 4.</b>	Procijenjena vrijednost parametra <b>IC<sub>50</sub></b> za eterična ulja i njihove komponente četvrti, osmi, dvanaesti i petnaesti dan nakon nacjepljivanja micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	47
<b>Tablica 5.</b>	Usporedba procijenjene vrijednosti parametra <b>IC<sub>50</sub></b> za eterična ulja i njihove komponente četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	51
<b>Tablica 6.</b>	Usporedba procijenjene vrijednosti parametra <b>IC<sub>50</sub></b> za eterična ulja i njihove komponente osmi dan nakon nacjepljivanja micelija <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> i <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	52
<b>Tablica A1.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> – četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija.....	108
<b>Tablica A2.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Fusarium oxysporum</i> – osmi dan nakon nacjepljivanja micelija.....	109
<b>Tablica A3.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Botrytis cinerea</i> - četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija.....	110
<b>Tablica A4.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Botrytis cinerea</i> - osmi dan nakon nacjepljivanja micelija.....	111
<b>Tablica A5.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> - četvrti dan nakon nacjepljivanja micelija.....	112
<b>Tablica A6.</b>	Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L} / 10 \text{ mL PDA}$ ) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> - osmi dan nakon nacjepljivanja micelija.....	113

<b>Tablica A7.</b> Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$ / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> - dvanaesti dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>114</b>
<b>Tablica A8.</b> Odnos između primijenjenih volumena ( $\mu\text{L}$ / 10 mL PDA) eteričnih ulja i promjera (mm) rasta micelija <i>Colletotrichum coccodes</i> - petnaesti dan nakon nacjepljivanja micelija.....	<b>115</b>

## 9. Životopis

Mr.sc. Marina Palfi rođena je 15. rujna 1966. godine u Koprivnici. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja u Centru za odgoj i usmjereno obrazovanje Bjelovar 1985. godine upisala je Fakultet poljoprivrednih znanosti u Zagrebu i diplomirala 1991. godine te stekla zvanje diplomirani inženjer poljoprivrede - zaštite bilja. Nakon završenog fakultetskog obrazovanja 1992. godine zapošljava se u firmi Gramex d.o.o. iz Donjeg Kraljevca kao savjetnik u poljoprivrednoj ljekarni. Od 1993. godine radi u Podravki d.d. Koprivnica na poslovima ispitivanja kvalitete i zdravstvene ispravnosti poljoprivrednog reproduksijskog materijala i primarnih sirovina. Poslijediplomski sveučilišni studij Sjemenarstvo ratarskih kultura završila je 1999. godine na Poljoprivrednom fakultetu Osijek te stekla akademski naziv magistar biotehničkih znanosti iz znanstvenog polja agronomija. Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Zaštita prirode i okoliša na Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku upisala je 2014. godine. Rješenjem Ministarstva poljoprivrede ovlašteni je predavač u izobrazbi korisnika sredstava za zaštitu bilja sukladno Pravilniku o uspostavi akcijskog okvira za postizanje održive uporabe pesticida. U svojstvu ovlaštenog predavača vanjski je stručni suradnik u Pučkom otvorenom učilištu Koprivnica. Član je Agronomskog društva Koprivnica i Društva kemičara i tehologa Koprivnica.

Aktivno sudjeluje na znanstvenim i stručnim skupovima, radionicama te stručnim edukacijama u zemlji i inozemstvu.

Kao autor i koautor izdala je osam znanstvenih i stručnih radova.

1. **Palfi M**, Jurković Z, Ćosić J, Tomić-Obredalj H, Jurković V, Knežević N, Vrandečić K. 2017. Total polyphenol content and antioxidant activity wild and cultivated asparagus in Croatia. *Poljoprivreda* 23(1):56-62.
2. **Palfi M**, Matotan Z, Matotan S. 2017. Utjecaj tretiranja sjemena stimulatorom klijanja Ekobooster 1 na početni rast i razvoj paprike. *Sjemenarstvo* 1. In press.
3. **Palfi M**, Mihaljević-Herman V, Ćosić J, Popijač V, Puhač Bogadi N. 2017. In vitro antibacterial activity of essential oils on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Proceedings 16th Ružička days TODAY SCIENCE – TOMORROW INDUSTRY* 163-169.
4. Jelovčan S, Kolarić D, Kadija Cmrk V, **Palfi M**, Kovačić G. 2015. Mala repina pipa (*Lixus scabricollis* Boh.) novi štetnik cikle. *Glasilo biljne zaštite* 15(3):215-220.
5. **Palfi M**, Tomić-Obredalj H, Horvat D. 2014. Zdravo povrće za zdravo srce: šparoge. *Cardiologia Croatica* 9(3-4):142-149.
6. **Palfi M**. 2007. Skarifikacija sjemena lucerne (*Medicago sativa* L.) kiselinom. *Sjemenarstvo* 24(1):5-16.
7. Matotan Z, **Palfi M**. 2002. Bolesti i štetnici paprike za preradu. *Glasilo biljne zaštite* 6:341-344.
8. Matotan Z, **Palfi M**. 2002. Bolesti i štetnici povrća za preradu. *Glasilo biljne zaštite* 5:249-252.