

Učinak ekstrakta kore cimeta na fitopatogenu gljivu *Fusarium sporotrichioides*

Mioč, Eni

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:368226>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**Učinak ekstrakta kore cimeta na fitopatogenu gljivu
*Fusarium sporotrichioides***

ZAVRŠNI RAD

Eni Mioč

Zagreb, srpanj, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Preddiplomski studij:
Fitomedicina

**Učinak ekstrakta kore cimeta na fitopatogenu gljivu
*Fusarium sporotrichioides***

ZAVRŠNI RAD

Eni Mioč

Mentor: dr. sc. Katarina Martinko

Zagreb, srpanj, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Eni Mioč**, JMBAG 0178126512, izjavljujem da sam samostalno izradila završni rad pod naslovom:

UČINAK EKSTRAKTA KORE CIMETA NA FITOPATOGENU GLJIVU
FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga završnog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI ZAVRŠNOG RADA

Završni rad studentice **Eni Mioč**, JMBAG 0178126512, , naslova

**UČINAK EKSTRAKTA KORE CIMETA NA FITOPATOGENU GLJIVU
*FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES***

mentor je ocijenio ocjenom _____.

Završni rad obranjen je dana _____ pred povjerenstvom koje je prezentaciju ocijenilo ocjenom _____, te je student/ica postigao/la ukupnu ocjenu¹ _____.

Povjerenstvo:

1. dr. sc. Katarina Martinko (mentor)
2. izv. prof. dr. sc. Jana Šic Žlabur (član)
3. izv. prof. dr. sc. Joško Kaliterna (član)

potpisi:

¹ Ocjenu završnog rada čine ocjena rada koju daje mentor (2/3 ocjene) i prosječna ocjena prezentacije koju daju članovi povjerenstva (1/3 ocjene).

Zahvala

Ovime zahvaljujem ...

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Hipoteze i ciljevi istraživanja	3
2.	Pregled istraživanja	4
2.1.	Suvremena problematika suzbijanja fitopatogenih gljiva	4
2.2.	Biološko suzbijanje fitopatogenih gljiva	5
2.3.	Biljni ekstrakti	5
2.3.1.	Cimet i ekstrakt cimeta	6
2.4.	Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom	9
2.5.	O gljivama iz roda <i>Fusarium</i>	9
2.5.1.	Fitopatogena gljiva <i>Fusarium sporotrichoides</i>	10
2.5.1.1.	Taksonomija i morfologija	10
2.5.1.2.	Spektar domaćina i simptomatologija	13
2.5.1.3.	Suzbijanje	13
3.	Materijali i metode	15
3.1.	Podrijetlo kore cimeta i izolata	15
3.2.	Provođenje ekstrakcije potpomognute ultrazvukom i priprema koncentracija ekstrakta	15
3.3.	Testiranje antifungalnog učinka ekstrakta	15
3.3.1.	Mikroskopska analiza učinka ekstrakta na mikrostrukture patogena	17
3.3.2.	Fitokemijski testovi	17
3.3.3.	Očitanje rezultata pokusa	17
3.3.4.	Statistička analiza rezultata	17
4.	Rezultati istraživanja	18
4.1.	Rezultati testiranja antifungalnog učinka ekstrakta	18
4.1.1.	Rezultati mikroskopske analize učinka ekstrakta na mikrostrukture patogena	20
4.1.2.	Rezultati fitokemijskih testova	21
5.	Rasprava	22
6.	Zaključak	24
7.	Popis literature	25
8.	Prilog – popis kratica i simbola	36
	Životopis	37

Popis slika

Slika 2.1. Prikaz biljne vrste <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ; listovi (A); cvjetovi (B); plodovi (C-D); kora (E-H) (foto: Senaratne i Pathirana, 2020; Bakewell-Stone, 2022.)	8
Slika 2.2. Morfološke karakteristive vrste <i>Fusarium sporotrichioides</i> : kultura uzgojena na PDA nakon 7 dana (A); na MEA nakon 7 dana (B); micelij (C); interkalarne hlamidospore (D – E); makro- i mikrokonidije (F); konidije na konidioforima (G-H) (foto: original).....	12
Slika 2.3. Simptomatologija vrste <i>Fusarium sporotrichioides</i> : trulež korijena soje (A) (foto: Abdelmagid i sur., 2020); venuće presadnica suncokreta (B) (foto: Mathew i sur., 2010); palež klasa pšenice (C) (foto: Birr i sur., 2020); nekroza lista (D) i ploda (E) crnoplodne aronije (foto: Martinko 2023. - <i>neobjavljeno</i>).	14
Slika 3.1. Shematski prikaz provedbe testiranja antifungalnog učinka ekstrakta kore cimeta na patogenu gljivu <i>Fusarium sporotrichioides</i> u uvjetima <i>in vitro</i> (izrada sheme – BioRender)..	16
Slika 4.1. Prikaz antifungalnog učinka vodenog ekstrakta kore cimeta na micelarni razvoj patogena <i>Fusarium sporotrichioides</i> u usporedbi s kontrolom nakon 7 dana.	19
Slika 4.2. Prikaz učinka ekstrakta kore cimeta (5 %) na hife patogena <i>Fusarium sporotrichioides</i> nakon 7 dana: (A) hifa iz kontrolne varijante; (B-D) deformacije hifa patogena: neravnomjerna obojenost laktofenolom koja upućuje na istjecanje sadržaja hifa (crvene strelice); vakuolizacija sadržaja hifa (bijele strelice), uvijanje i urušavanje hifa (crne strelice).....	20
Slika 4.3. Prikaz učinka ekstrakta kore cimeta (5 %) na produkciju spora patogena <i>Fusarium sporotrichioides</i> nakon 7 dana: (A) produkcija makrokonidija (crvene strelice) i mikrokonidija (plave strelice) na kontrolnoj varijanti bez ekstrakta; (B) izostanak produkcije mikrokonidija i razvoj makrokonidija na podlozi s 5 % ekstrakta.	21
Slika 4.4. Prikaz rezultata provedenog fitokemijskog testiranja vodenog ekstrakta kore cimeta na prisustvo antifungalnih spojeva u usporedbi s kontrolom (ekstraktom bez dodatka reagensa).....	21

Popis tablica

Tablica 4.1. Antifungalni učinak ekstrakta kore cimeta na površinu rasta micelija patogena <i>Fusarium sporotrichioides</i> nakon 7 dana.	18
--	----

Sažetak

Završnog rada studentice **Eni Mioč**, naslova

UČINAK EKSTRAKTA KORE CIMETA NA FITOPATOGENU GLJIVU

FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES

Primjenom biljnih ekstrakata u biološkom suzbijanju gljivičnih bolesti biljaka, moguće je smanjiti negativan učinak agrokemikalija i problem razvitka rezistentnosti ciljanih mikroorganizama. Zbog toga je u središtu interesa otkrivanje biljnih ekstrakata koji imaju antifungalna svojstva i nisu toksični za okoliš kako bi se koristili u biološkoj borbi protiv ekonomski značajnih fitopatogenih gljiva. Cilj istraživanja je testiranje učinka vodenog ekstrakta kore cimeta u uvjetima *in vitro* na rast i razvoj toksikogene gljive *Fusarium sporotrichioides* koja uzrokuje ekonomski značajne štete na širokom spektru poljoprivrednih kultura. U svrhu provođenja istraživanja, vodeni ekstrakt kore cimeta dobiven je primjenom ekstrakcije potpomognute ultrazvukom, a prisustvo sadržaja antifungalnih spojeva dokazano je provođenjem fitokemijskih testova. Rezultati istraživanja potvrđuju značajnu inhibiciju rasta gljive *F. sporotrichioides* za 10,4 % i 70 % kada je pojedinačno uzgojena na hranjivoj podlozi s 3 % i 5 % ekstrakta. Antifungalni učinak ekstrakta dokazan je mikroskopskom analizom patogena kojom su utvrđene značajne deformacije hifa i promjena boje micelija nakon sedmodnevnog rasta na koncentraciji od 5 % koja je dovela do gotovo sedam puta veće inhibicije rasta patogena u odnosu na koncentraciju ekstrakta od 3 %. Temeljem dobivenih rezultata, vodeni ekstrakt kore cimeta pokazuje fungistatski učinak na micelarni rast i razvoj patogena *F. sporotrichioides*, time i potencijalnu mogućnost primjene ovog ekstrakta u biološkoj kontroli protiv testirane ekonomski značajne fitopatogene gljive.

Ključne riječi: *Cinnamomum zeylanicum*, *Fusarium sporotrichioides*, ekstrakt kore cimeta, fitokemijski testovi, ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom.

Summary

Of the final work - student **Eni Mioč**, entitled

THE EFFECT OF CINNAMON BARK EXTRACT ON THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES*

By using plant extracts in the biological control of fungal plant diseases, it is possible to reduce the negative effect of agrochemicals and the problem of resistance of the target microorganisms. Because of that, the focus of interest is the discovery of plant extracts that have antifungal properties and are not toxic to the environment in the biological control against economically important phytopathogenic fungi. The aim of the research is *in vitro* testing of the effect of aqueous cinnamon bark extract on the growth and development of the mycotoxigenic fungus *Fusarium sporotrichioides*, which causes economically significant damage to a wide range of plant cultures. For the purpose of conducting research, the aqueous extract of cinnamon bark was obtained using ultrasonic-assisted extraction, and the presence of antifungal compound content was proven by phytochemical tests. The research results confirm a significant inhibition of the *F. sporotrichioides* growth by 10.4 % and 70 % when it was grown on a medium with 3 % and 5 % of extract. The antifungal effect of the extract was proven by a microscopic analysis of the pathogen, which revealed significant deformations of hyphae and a change in the color of the mycelium after seven days of growth at a concentration of 5 %, which led to an almost seven-fold greater inhibition of pathogen growth compared to a 3 % extract. Based on the obtained results, the aqueous cinnamon bark extract shows a fungistatic effect on the micellar growth and development of the pathogen *F. sporotrichioides*, thus also the potential possibility of application in the biological control of this economically important phytopathogenic fungi.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum*, *Fusarium sporotrichioides*, cinnamon bark extract, phytochemical tests, ultrasonic-assisted extraction.

1. Uvod

Fitopatogene gljive predstavljaju prijetnju globalnoj proizvodnji hrane zbog čega dolazi do prekomjerne uporabe agrokemijskih sredstava i posljedično do razvoja rezistentnosti ciljanih mikroorganizama na sredstva namijenjena njihovom suzbijanju (Polavarapu, 2000.). Zbog suvremenog problema u fitomedicini, u središtu interesa je otkrivanje inovativnih metoda biološkog suzbijanja ekonomski značajnih fitopatogenih gljiva uporabom biljnih ekstrakata koji pokazuju antifungalna svojstva i ekološku prihvatljivost. O značaju biološkog suzbijanja svjedoče studije koje istražuju biološke čimbenike u tu svrhu, a čiji broj se povećao za 200 % devedesetih godina prošlog stoljeća (Elad i Freeman, 2002.). Osim ekološke prihvatljivosti i netoksičnosti za okoliš, biološki pripravci posjeduju mehanizam djelovanja kojim je smanjena mogućnost razvoja rezistentnosti kod patogena na kojeg su primijenjeni (El-Masry i sur., 2002.).

Rod *Fusarium* ekonomski je značajan rod gljiva čiji pripadnici su saprofiti i ubikvisti, ali i izraziti polifagi jer imaju širok spektar domaćinskih biljaka koje inficiraju. Njihov ekonomski značaj se očituje i u produkciji mikotoksina tj. sekundarnih metabolita koji su toksični osobito kada dospiju putem hrane do probavnog sustava čovjeka. Vrste roda *Fusarium* uzrokuju traheomikoze koje uzrokuju venuće biljaka, a simptomi uzročnika fuzarioza su palež i trulež biljaka. Problem suzbijanja vrsti ovog roda otežan je jer se vrste šire putem tla gdje se putem perzistentnih hlamidospora održavaju u nepovoljnim uvjetima (Ma i sur., 2013.). Među značajnim vrstama ovog roda navodi se vrsta *Fusarium sporotrichioides* Sherb. koji je dominantni uzročnik fuzarioza na žitaricama, ali i na raznom povrću i voću (Osborne i Stein, 2007.; Prasad i sur., 2000.). Budući da se vrsta *F. sporotrichioides* često javlja u kompleksu s drugim vrstama roda *Fusarium* i uzrokuje ekonomski značajnu bolest - palež klasa žitarica, tretiranje fungicidima od velike je važnosti (Somma i sur., 2022.). Danas, suzbijanje ovog patogena otežava i ograničenje broja dostupnih fungicida za suzbijanje. Prema Ministarstvu poljoprivrede (Fitosanitarni informacijski sustav, FIS, 2023.) u Republici Hrvatskoj, na popisu registriranih fungicidnih pripravaka su registrirana trideset tri fungicidna pripravka na bazi djelatnih tvari iz skupine triazola, a većini registracija ističe krajem 2023. godine. Prema novijim istraživanjima (Somma i sur., 2022.), usprkos ekonomskom značaju, ova gljiva je slabo istražena, a zabrinjavajuća je činjenica da brzo razvija rezistentnost osobito na fungicide iz skupine triazola koji su dominantni u suzbijanju paleži klasa žitarica (Spolti i sur., 2014.).

Poznato je da je razvoj rezistentnosti na fungicide posljedica određenog mehanizma djelovanja fungicida (Deising i sur., 2008.) zbog čega se teži otkrivanju spojeva koji imaju drugačiji mehanizam djelovanja na gljive. Među biološkim čimbenicima korištenim u biokontroli gljivičnih patogena, ističu se biljni ekstrakti koji imaju prouupalna, antioksidativna i antimikrobna svojstva zbog čega se koriste u mnogim djelatnostima kao što su farmaceutska, prehrambena i kozmetička industrija (Bošković, 2021.). Jedna od takvih biljaka je vrsta *Cinnamomum zeylanicum* Blume od čije kore se dobiva cimet, popularan kao začim (Jakhetis i sur., 2010.). Ova tropska zimzelena biljka sadrži ključne antimikrobne spojeve (cinamaldehyd, cimetnu kiselinu i eugenol) za koje je utvrđeno da pokazuju antifungalni učinak na

fitopatogene vrste gljiva (Ranasinghe i sur. 2002.). Istraživanjem se otkrilo da se koncentracije ovih spojeva nalaze u različitim količinama i u različitim dijelovima biljke (Wijesekera, 1978.), dok su Kyu i sur. (2007.) dokazali inhibitorni učinak ekstrakta cimeta na neke vrste roda *Fusarium*.

Kako bi se esencijalni spojevi ekstrahirali iz biljaka, ekstrakcija kao biotehnološki postupak je vrlo značajna. U današnje vrijeme se zbog nedostataka koje imaju konvencionalne metode ekstrakcije (velike potrošnje kemijskih otapala i utrošak energije) uglavnom koriste inovativne zelene ekstrakcije. Interesantan tip ekstrakcije je ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom koja privlači interes mnogih istraživača temeljem efikasnog utroška energije iz ultrazvuka, uzajamnog odnosa brzine i visoke produktivnosti te zbog toga što ne koristi toksična otapala (Rostagno i sur., 2013.; Wen i sur., 2018.). Cerqueira Sales i sur. (2016.) također podržavaju važnost prestanka korištenja kemijskih spojeva u ekstrakciji s ciljem zaštite zdravlja ljudi te očuvanja okoliša, koristeći zelenu ekstrakciju za dobivanje biljnih ekstrakata kao budućnost suzbijanja biljnih patogena, osobito fitopatogenih gljiva.

1.1. Hipoteze i ciljevi istraživanja

U istraživanje se ulazi sa sljedećim hipotezama i njima pripadajućim ciljevima:

H1) Ekstrakt kore cimeta pokazuje značajan antifungalni učinak na fitopatogenu gljivu *F. sporotrichioides* u uvjetima *in vitro*.

C1) U uvjetima *in vitro*, testirati učinak ekstrakta kore cimeta na fitopatogenu gljivu *F. sporotrichioides*.

H2) Micelij fitopatogene gljive *F. sporotrichioides*, nakon rasta na rasponu koncentracija ekstrakta kore cimeta pokazuje značajne morfološke promjene.

C2) Analizirati učinak ekstrakta kore cimeta na mikrostrukture patogena *F. sporotrichioides*.

H1) U vodenom ekstraktu kore cimeta, nakon ultrazvučne ekstrakcije, prisutni su fitokemijski spojevi s antifungalnim učinkom.

C3) Testirati vodeni ekstrakt kore cimeta na prisustvo fitokemijskih spojeva s antifungalnim učinkom nakon ultrazvučne ekstrakcije.

2. Pregled istraživanja

2.1. Suvremena problematika suzbijanja fitopatogenih gljiva

Fungicidi su postali sastavni dio učinkovite proizvodnje hrane. Gubitak fungicida u poljoprivredi zbog rezistentnosti je problem koji utječe na cijeli ekosustav (FRAC, 2023.). Krajem 19. i početkom 20. stoljeća, započinje era kemije i dominantni razvoj fungicida te aktivni tretmani usjeva. Rana uporaba fungicida, dovela je do uspostave industrije koja je razvila učinkovite moderne fungicide koji pripadaju različitim kemijskim skupinama i koji se razlikuju po mehanizmu i načinu djelovanja u borbi protiv fitopatogenih gljiva. Razvoj sistemskih fungicida naizgled je spriječio problem gljiva koje uzrokuju traheomikoze (npr. rod *Fusarium*) (Deising i sur., 2018.), međutim nakon samo dvije godine od početka intenzivne uporabe fungicida, pojavila se rezistentnost. Zbog toga se traga za spojevima koji imaju mehanizam djelovanja različit u odnosu na fungicide (Hollomon, 2015.). Prečesta uporaba kemijskih sredstava u poljoprivredi dovela je do negativnog utjecaja na okoliš i bioraznolikost, a neki fungicidi su povezani su s povećanim rizikom za zdravlje poljoprivrednika i ljudi koji žive u blizini poljoprivrednih površina (Lázaro i sur., 2021.).

Fitopatogene gljive kao najbrojnija skupina biljnih patogena uzrokuju veliki broj mikoza na širokom spektru kultiviranog bilja, zbog čega se broj tretiranja u usjevima povećava. Uzastopnim aplikacijama fungicida, fitopatogene gljive su se prilagodile brzom reprodukcijom i razvojem rezistentnosti na sredstva namijenjena njihovom suzbijanju (Zhonghua Ma i sur., 2005.). Kao što rezistentnost bakterija na antibiotike danas predstavlja globalni problem u humanoj medicini i u veterini (Martins i sur., 2018.; Martinko, 2022.), tako rezistentnost fitopatogenih gljiva i pseudogljiva na fungicide uzrokuje problem u fitomedicini. Zbog razvoja rezistentnosti gljivičnih patogena dolazi do smanjenja učinkovitosti fungicida time i do ekonomskih šteta i gubitaka u biljnoj proizvodnji (Ivić i Cvjetković, 2017.).

Kao primjer problema uporabe kemijskih pripravaka je bakar koji ima važnu ulogu u načinu suzbijanja fitopatogenih pseudogljiva, gljiva i bakterija. Unatoč tome što ovaj teški metal dovodi do dugoročnih posljedica zbog akumulacije u tlu, ujedno ima neophodnu ulogu u suzbijanju biljnih bolesti. Zbog velikog problema spomenute akumulacije u tlu, Europska unija je uspostavila zakon maksimalnog ograničenja korištenja bakra u organskom uzgoju od 2002. (Uredba Komisije 473/2002, La Torre i sur., 2018.) čime se dostupnost raspoloživih sredstava za suzbijanje fitopatogena dodatno ograničava (Martinko, 2022.).

Temeljem navedene problematike, današnji trendovi u fitomedicini nalažu upotrebu ekološki prihvatljivih metoda zaštite bilja koje se postižu smanjenjem upotrebe standardnih kemijskih sredstava u zaštiti bilja te primjenom preventivnih mjera zaštite i najnovijih metoda bioloških mjera (Parađiković i sur., 2012.; Baličević i sur., 2007.) Primjena fungicida kao dominantog načina suzbijanja fitopatogenih gljiva sve se više nastoji zamijeniti uporabom ekološki prihvatljivih metoda suzbijanja i primjenom bioloških pripravaka (Miličević, 2020.) kako bi se smanjio pritisak na ekosustav.

2.2. Biološko suzbijanje fitopatogenih gljiva

Biološko suzbijanje biljnih patogena je postalo značajan segment u integriranoj zaštiti bilja obzirom da se svugdje u svijetu nastoji reducirati kemijska zaštita bilja (Miličević i Kaliterna, 2014.). Nedavna istraživanja konvencionalnih i organskih uzgajivača ukazuju na interes za korištenje biološkog suzbijanja, što sugerira da će se tržišni potencijal bioloških proizvoda za suzbijanje, povećati u budućnosti. Jasno su dokumentirani štetni utjecaji kemijskih pesticida na okoliš i ne ciljane organizme. Stoga je jasna potreba za razvojem nekemijskih alternativnih strategija za zaštitu biljaka od biljnih bolesti (Heydari i Pessarakli, 2010.).

U biljnoj patologiji, izraz biokontrola odnosi se na upotrebu mikrobnih antagonista za suzbijanje bolesti (Heydari i Pessarakli, 2010.). Riječ je o metodi suzbijanja koja je danas sve više zastupljena, a istraživanja na temelju biljnih ekstrakata su vrlo aktualna (Winding i sur., 2004.). Budući da je riječ o primjeni ekološki prihvatljivih spojeva koji se odlikuju složenim mehanizmom djelovanja, ciljani patogeni još nisu uspjeli razviti rezistentnost zbog čega se postižu značajni rezultati u suzbijanju, osobito gljivičnih bolesti (Savita i Sharma, 2019.). To dovodi do smanjenja gljivičnog inokuluma i njegove aktivnosti (Chet i Inbar, 1994.).

Potpuna eliminacija kemijskih pesticida za suzbijanje biljnih štetnika i bolesti u suvremenoj poljoprivredi možda je nemoguća, ali je logično smanjenje njihove primjene izvedivo. Mnoga sredstva za biokontrolu imaju dobre rezultate u laboratoriju i stakleničkim uvjetima, ali to ne uspijevaju na terenu. Ovaj problem se može riješiti samo boljim razumijevanjem parametara okoliša koji utječu na agense biokontrole, također je relativno malo ulaganja u razvoj i proizvodnju komercijalnih formulacija, vjerojatno zbog troškova razvoja, testiranja, registracije i marketinga tih proizvoda. Unatoč tome primjena različitih strategija biološke kontrole bila je uspješna u suzbijanju fitopatogena i nastavlja se povećavati (Heydari i Pessarakli, 2010.)

2.3. Biljni ekstrakti

Biljke sadrže širok spektar spojeva i vrijedan su izvor novih i biološki aktivnih tvari s antimikrobnim svojstvima. Ekstrakti biljaka, bilo kao standardizirani ekstrakti ili kao izvor čistih spojeva, pružaju neograničene mogućnosti za kontrolu rasta mikroba zahvaljujući svojoj kemijskoj raznolikosti. Od zastupljenih spojeva navode se fenoli, flavonoidi, fitosteroli, karotenoidi, tokole, terpenoidi, alkaloidi, saponini, tanini, aromatske kiseline, organske kiseline kao i inhibitori proteaza (Negi, 2012.).

Biljni ekstrakti se koriste tisućama godina u svrhu raznih namjena (Jones, 1996.). Dominantno se koriste u kozmetičkoj i prehrambenoj industriji (Lawless, 1995.), ali i u biotehnološkoj industriji (Mishra i Dubey, 1994.). Antimikrobna aktivnost biljnih ulja i ekstrakata stvorila je temelj mnogih primjena, uključujući konzerviranje sirove i prerađene hrane, pridonijela razvoju širokog spektra farmaceutskih i kulinarskih proizvoda te alternativnu medicinu (Reynolds 1996., Hammer i sur., 1999.). Poznato je da su biljni ekstrakti više

prihvatljivi i manje toksični te su zbog toga potencijalna alternativa sintetskim spojevima u inhibiciji mikoza (Magro i sur., 2006.; Jobling i sur., 2000.).

Prema Loi i sur. (2020.), fitokemikalije zastupljene u biljkama dovode do citoksičnosti kod gljiva ometanjem stanične membrane (propusnost i funkcije), inhibiciju citoplazme i inhibiranje enzima uključenih u sintezu komponenti stanične stijenke, mijenjanje staničnih odjeljaka te osmotske i redoks ravnoteže. Takvi spojevi mogu djelovati izravno ili neizravno čime dovode do suzbijanja uzročnika biljnih bolesti. Nadalje je dokazano da biljke posjeduju antimutagene, antimikrobe, antioksidanse ili antikarcinogene bioaktivne spojeve koji supresiraju djelovanje mikotoksina (Prakash i sur., 2020.). U istraživanju Dikhoba i sur. (2019.), antifungalna i antimikotoksigena djelovanja biljnih ekstrakata sa potencijalnim antioksidativnim svojstvima, istražena su u svrhu supresije fitopatogenih gljiva *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus* i *A. oker* što se pokazalo kao potencijalno otkriće biofungicida koji mogu spriječiti propadanje hrane. Biljni ekstrakti i njihovi spojevi djeluju poticanjem detoksikacije ksenobiotika i puteva biotransformacije (Gross-Steinmeyer i Eaton, 2012.) Unatoč učinkovitosti biljnih ekstrakata i njihovih fitokemikalija u supresiji toksigenim gljiva i toksina, postoje različita ograničenja upotrebe fitokemikalija i njihovih ekstrakata kao biofungicida (Prakash i sur., 2020.). Temeljem istraživanja o sekundarnim metabolitima biljaka s antifungalnim učincima, dokazan je veliki potencijal navedenih spojeva u povećanju inducirane otpornosti biljaka na bolesti (Morrissey i Osbourn, 1999.).

U svrhu produljenja učinkovitosti fungicida kod kojih se razvija rezistentnost, Povjerenstvo za razvoj rezistentnosti na fungicide (Fungicide resistance action committee, FRAC) je objavilo popis (FRAC, Code List©, 2022.) fungicidnih tvari s biokemijskim načinom djelovanja i identifikacijom razvoja rezistentnosti na patogene. Značajno je da se na navedenom popisu nalaze biljni ekstrakti za koje je poznato da svojim djelovanjem dovode do poremećaja u funkcioniraju stanične membrane gljiva, supresiraju klijanje spora gljiva te u isto vrijeme induciraju sistemsku otpornost biljaka na koje su primijenjeni. Također, razvoj rezistentnosti na biljne ekstrakte nije utvrđena što naglašava značaj uporabe biljnih ekstrakata.

2.3.1. Cimet i ekstrakt cimeta

Cimet (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) se stoljećima koristi kao začin i kao tradicionalni biljni lijek. Ova biljka se često spominje u Starom zavjetu Biblije i postoje naznake uporabe cimeta u Egiptu već 3000. godina prije Krista (Ravindra i sur., 2003.).

Rod *Cinnamomum* pripada obitelji *Lauraceae* i ima oko 250 vrsta rasprostranjenih na području jugoistočne Azije, Kine i Australije, od kojih su mnoge aromatične i mirisne. Drvo cimeta je tropska zimzelena biljka koja u svom prirodnom staništu može narasti do 7 m visine. Međutim, biljka se uglavnom uzgaja kao grm čija visina doseže do 3 m, budući da se stabiljike stalno režu kako bi producirale nove izdanke za vađenje kore. Ova aromatična biljka ima debelu ljuskavu koru koja se globalno koristi kao začin ugodnog mirisa toplog, slatkog, aromatičnog okusa u prirodnom ili kuhanom stanju. Listovi su jajasto duguljastog oblika i dugi 7-18 cm, blago

ljutog i gorkog okusa te imaju ugodan miris kada su kuhani ili prženi. Cvjetovi rastu u metlicama, zelenkaste su boje, izrazitog mirisa. Plod cimeta je ljubičaste boje i dužine jedan cm te sadrži jednu sjemenku (Thomas i sur., 2012.) (Slika 2.1.).

Spojevi cimeta se dobivaju ekstrakcijom iz različitih dijelova ove biljke. Ulja i ekstrakti dobiveni iz listova i kore korijena značajno se razlikuju po svom kemijskom sastavu. Naime, spoj cinamaldehyd je najviše zastupljen u kori, eugenol u listovima, a cimetna kiselina u kori korijena (Wijesekera, 1978.) U istraživanjima *in vitro* i *in vivo* dokazano je da cimet ima protuupalno, antimikrobno, antioksidativno, antitumorsko (Senaratne i Pathirana, 2020.), kardiovaskularno i imunomodulacijsko djelovanje (Gruenwald i sur. 2010.), te da sadrži mangan, željezo, dijetalna vlakna i kalcij (Wilson i sur., 1997.). Zbog navedenih svojstava se koristi tisućama godina u humanoj medicini, osobito u stomatologiji. Uz to sadrži širok spektar spojeva: eterična ulja, diterpene, katehine, proantocijanidine, bojila, fenolne karboksilne kiseline, lignanine i mucine (Wilson i sur., 1997.). Zbog pozitivnih karakteristika, ova biljka ima širok raspon povijesne upotrebe u različitim kulturama (Warrier i sur. 1994.). Na štetnike, cimet djeluje uglavnom repelentno, iako u višim koncentracijama djeluje biocidno. Kemijski spojevi cimeta učinkovito sprječavaju rast patogenih bakterija i gljiva, a fitotoksični učinci čine ga mogućim herbicidom. U istraživanjima *in vitro*, Wilson i sur. (1997.) su pokazali da od čak 49 testiranih eteričnih ulja, eterično ulje lista cimeta *C. zeylanicum* je pokazalo najznačajnije antifungalno djelovanje protiv patogene gljivice *Botrytis cinerea*. Spoj u cimetu poznat kao cinamaldehyd značajno je supresirao patogenu gljivicu *Aspergillus favus* (Wang i sur., 2019.; Senaratne i Pathirana, 2020.), a ekstrakt cimet inhibirao je rast micelija i sintezu mikotoksina (afatoksina) u slučaju patogene gljivice *Aspergillus parasiticus*, jednako kao što je potvrđena supresija humane gljivice *Candida sp.* (Senaratne i Pathirana, 2020.).

U proizvodnji hrane, veliki problem predstavljaju fitopatogene gljivice koje dovode do propadanja hrane u uskladištenim prostorima. Kako bi se smanjilo korištenje dominantnih kemijskih fungicida, provedena su istraživanja u kojima se je ekstrakt cimeta pokazao kao potencijalni konzervans hrane (Tzortzakis, 2009.; Senaratne i Pathirana, 2020.) zbog utvrđenog antimikrobnog djelovanja (Shobana i sur. 2000.; Senaratne i Pathirana, 2020.). U sklopu toga, utvrđena je i antitirozinazna aktivnost cimeta koja koristi u zaustavljanju promjene boje voća i povrća tijekom oksidacije i početka truljenja (Shan i sur., 2005.; Senaratne i Pathirana, 2020.).

Zanimljivo je da je na spomenutom popisu (FRAC, Code List©, 2022) naveden flavonoid (eng. *cinamic acid amide*) dobiven iz biljke *C. zeylanicum* poznat kao derivat cimetne kiseline gdje je kemijski povezan putem amida (Hofmann i sur., 2022.). Prema FRAC-u, navedeni spoj je uvršten na popis fungicidnih tvari zbog širokog spektara djelovanja među kojima je sinteza celulaze – enzima koji katalizira proces razgradnje celuloze, spoja od kojeg su izgrađene stanične stijenke gljiva i pseudogljiva (Fugelstad, 2011.).



Slika 2.1. Prikaz biljne vrste *Cinnamomum zeylanicum*; listovi (A); cvjetovi (B); plodovi (C-D); kora (E-H) (foto: Senaratne i Pathirana, 2020; Bakewell-Stone, 2022.)

2.4. Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom

Potreba za razvojem pristupačnih, sigurnih, učinkovitih i ekološki inovativnih tehnika ekstrakcija dovela je do otkrića ekstrakcije potpomognute ultrazvukom. Korištenje ultrazvuka je nova, čista, zelena tehnologija ekstrakcije za različite molekule, biomaterijale, uključujući polisaharide, eterična ulja, proteine, peptide, fine kemikalije (boje i pigmente) te bioaktivne molekule komercijalne važnosti (Tiwari, 2015.). Ova tehnika je poznata kao tehnika hladne ekstrakcije jer je temperatura tijekom procesa relativno niska (< 50 °C) i ne utječe na stabilnost ekstrahiranih spojeva. Metoda je atraktivna zbog svoje jednostavnosti i niske ciljne opreme. Temelji se na korištenju energije dobivene iz ultrazvuka (zvučni valovi s frekvencijama iznad 20 kHz) za olakšanje ekstrakcije analita iz čvrstog uzorka otapalom koje se odabire ovisno o prirodi otopljenih tvari koje se ekstrahiraju (Rostagno i sur., 2013.).

Poznato je da ultrazvuk ima značajan utjecaj na brzinu raznih procesa u prehrambenoj industriji. Korištenjem ultrazvuka, različiti procesi u preradi hrane se mogu dovršiti u kratkom vremenskom roku, smanjujući troškove te pojednostavljujući manipulaciju procesa (Chemat i sur., 2011.). Ova tehnika ima velik potencijal za smanjenje ili potpunu eliminaciju uporabe toksičnih kemijskih otapala, brzu difuziju (Rostagno i sur., 2013.), istovremeno poboljšavajući učinkovitost procesa i povećavajući prinose te kvalitetu biljnih ekstrakta (Chemat i sur., 2011.).

2.5. O gljivama iz roda *Fusarium*

Naziv *Fusarium* je prvi put upotrijebio Link (1809.), a naziv označava anamorfnu rod askomicetnih gljiva koje imaju svjetsku distribuciju i značajan stupanj bioraznolikosti (Zemánková i Lebeda, 2001.). Među hipomicetnim gljivama, rod *Fusarium* je jedan od najrasprostranjenijih u prirodi (Teetor-Barsch i Roberts, 1983.) Wollenweber i Reinking (1935.) su ovaj rod podijelili u 16 odjeljaka koji sadrže 65 vrsta, 55 varijeteta i 22 oblika što čini temelj današnje taksonomije roda. Brown i Robert (2013.) u svojoj knjizi opisuju *Fusarium sp.* kao gljive koje se mogu izolirati iz biljaka i tla zbog toga što su patogeni, endofiti i saprofiti. Biljni patolozi, mikolozi i kemičari odavno su prepoznali ovaj sveprisutni fitopatogeni rod gljiva zbog širokog raspona biljnih domaćina, izražene patogenosti, te onog po čemu je rod najznačajniji - proizvodnji sekundarnih metabolita tj. mikotoksina (Brown i Robert, 2013.).

Međusobna izmjenjivost parazitskih i saprofitskih stadija je uobičajna kod gljiva, ali je ovaj fenomen posebno izražen u rodu *Fusarium*. Biljke su obično zaražene preko korijenskog sustava što dovodi do smanjenog protoka vode i mineralnih tvari iz korijena u gornje slojeve što uzrokuje uginuće biljaka (Teetor-Barsch i Roberts, 1983.; Brown i Robert, 2013.). Pripadnici ovog roda mogu proizvesti širok spektar različitih sekundarnih metabolita među kojima se ističu trihoteceni i fumonizini. Zbog navedenih metabolita, ove gljive su ekonomski značajni uzročnici bolesti (Teetor-Barsch i Roberts., 1983.) čiji simptomi se očituju u truleži i paleži dijelova biljaka (Brown i Robert, 2013.).

2.5.1. Fitopatogena gljiva *Fusarium sporotrichoides*

Vrsta *Fusarium sporotrichoides* Sherb. je kozmopolit, ekološki rasprostranjen gljivični biljni patogen koji se nalazi u tropskim i umjerenim područjima (Domsch i sur., 1993.; Ivanova i sur., 2016). Uzročnik je odgovoran za štetu na sadnicama gdje uzrokuje trulež korijena (Anderson, 1986.) te odumiranje iglica na odraslim stablima borova (Karadžić i Milijašević, 2008.; Ivanova i sur., 2016.). Ova gljiva ima gospodarski i poljoprivredni značaj temeljem proizvodnje mikotoksina (Alisaac i Mahlein, 2023.), osobito trihotecena, koji su poznati da inhibiraju sintezu proteina u eukariota (Leslie i Summerell, 2006.; Cormick i sur. 2011.; Ivanova i sur., 2016.).

Ova askomicetna gljiva kao i ostali pripadnici roda *Fusarium*, je ubikvist. Zbog široke rasprostranjenosti, vrsta je poznata kao patogen velikog broja biljaka (Crous i sur., 2021.) kod kojih može uzrokovati traheomikozu začepljenjem provodnih snopova što dovodi do venuća biljaka (Alisaac i Mahlein, 2023.).

U prirodi se ovaj patogen, najčešće nalazi u anamorfnom stadiju što znači da infekcije biljaka vrši putem nespolnih spora tj. konidija (makro i mikrokonidija), a u nepovoljnim uvjetima se održava putem micelija i/ili perzistentnim sporama - hlamidosporama. Optimalni temperaturni raspon za razvoj vrste *F. sporotrichoides* kreće se od 25 do 30 °C uz minimalnu relativnu vlažnost od 88 % (Domsch i Gams, 1970.; Pokrzywa i sur., 2019.), a optimalna temperatura za proizvodnju mikotoksina kreće se od 15 do 35 °C (Wiśniewska i sur., 2011.; Pokrzywa i sur., 2019.). U zaraženim biljaka otkrivena je konzistentna proizvodnja mikotoksina - trihotecena tipa A, značajnog po tome jer inhibira sintezu proteina u eukariota (Ivanova i sur., 2016.); zatim diacetoksicirpenola (DAS) i neosolaniola (NEO) te nekih manje obilnih metaboliti kao što su kulmorin, scirpentriol, aurofusarin i eniatin (Thrane i sur., 2004.), te beauvericin i fusarin (Kokkonen i sur., 2010.). Navedeni metaboliti (osobito trihotecen) dovode do negativnog učinka na ljudsko zdravlje kad je unesen u probavni sustav (Rachitha i sur., 2017.).

2.5.1.1. Taksonomija i morfologija

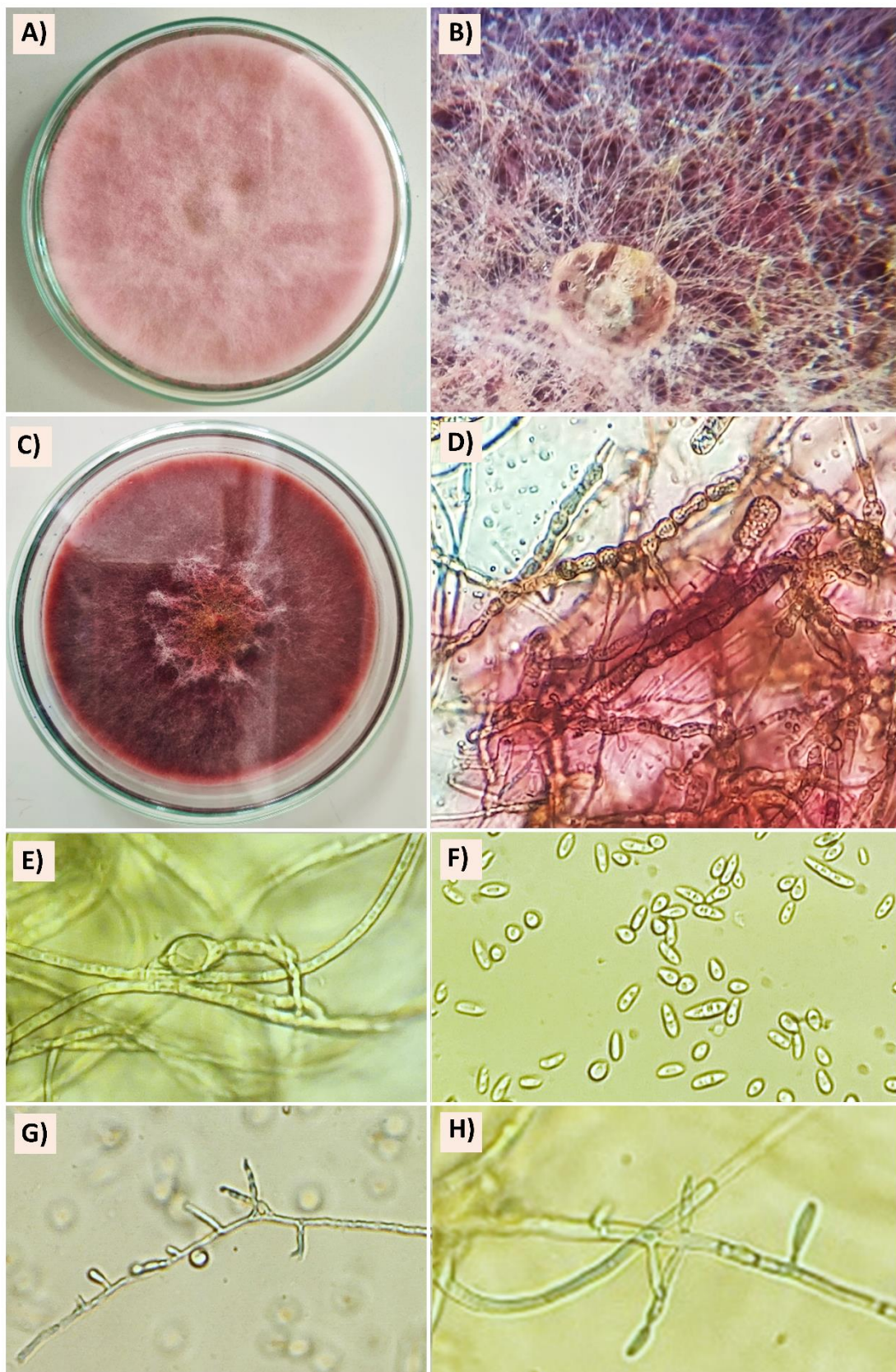
Gljiva *F. sporotrichoides* pripada odjelu Ascomycota, pododjelu Pezizomycotina, redu *Hypocreales* unutar razreda *Sordariomycetes* (Index Fungorum, 2023.).

Kolonija *F. sporotrichoides* je brzorastuća i razvija bijelo – ružičasti, pahuljasto vunasti micelij promjera 5-8 cm, unutar 4 dana, na PDA podlozi (Khan i sur., 2022.) (Slika 2.2., A). Konidiofori na složenim ograncima zračnih hifa razvijaju polifijalidne ili blastične konidiogene stanice (Cheng i sur., 2019.) (Slika 2.2., G i H).

Mikrokonidije su kruškolikog, ovalnog i fuzoidnog oblika te nastaju obilno, u masi (Moya-Elizondo i sur., 2013.; Khan i sur., 2022.). Riječ je o hijalinim konidijama s tankom stijenkom, ovalnog do vretenastog oblika, veličine od 7,5 - 11,3 × 2,1 - 4,1 μm (Khan i sur., 2022.). Prisutna su dva tipa mikrokonidija gdje je jedan tip općenito piriformnog oblika bez septi, a drugi je dugačak, ovoidni do fusiformnog oblika s prisutnim septama (Cheng i sur., 2019.). Makrokonidije su hijaline, veličine 23,5 - 39,7 × 3,7 - 7,0 μm, nastaju u sporodohijima,

a u okolni prostor se izlučuju putem kapljica. Imaju debelu stijenku, srpastog su oblika (fusariformne) i razvijaju od pet do sedam septi (Zemánková i Lebeda, 2001.; Khan i sur., 2022.) (Slika 2.2., F).

Vrsta *F. sporotrichioides* se od ostalih vrsti razlikuje po produkciji smeđih i okruglastih hlamidospora koje imaju debelu stijenku i čiji rast je interkalaran i karakterističan za zrele kulture (Zemánková i Lebeda, 2001.) (Slika 2.2., D i E). Ove trajne spore su ispunjene materijalom sličnom lipidima koji služi za preživljavanje gljive u nepovoljnim uvjetima ili kad domaćin nije dostupan. Hlamidospore se mogu prenositi pojedinačno, u parovima, nakupinama ili u lancima (Samson i sur., 1981).



Slika 2.2. Morfološke karakteristive vrste *Fusarium sporotrichioides*: kultura uzgojena na PDA nakon 7 dana (A); na MEA nakon 7 dana (B); micelij (C); interkalarne hlamidospore (D – E); makro- i mikrokonidije (F); konidije na konidioforima (G-H) (foto: original).

2.5.1.2. Spektr domaćina i simptomatologija

Prema Rachitha i sur. (2017.), vrsta *F. sporotrichioides* uzrokuje zarazu na širokom spektru domaćinskih biljaka među kojima su žitarice, pamuk, tikva, lan, grašak, krumpir, rajčica, suncokret. Simptomi infekcija koje uzrokuje *F. sporotrichioides* očituju se u smanjenom rastu biljke, klorozi, venuću i posljedično, uginuću cijele biljke. Ovaj patogen uzrokuje trulež korijena, lukovica, peteljki listova i palež klasova u žitaricama (Slika 2.3., C) gdje se javlja u kompleksu s ostalim vrstama roda *Fusarium* (Somma i sur., 2022.), dok u uskladištenim prostorima uzrokuju trulež plodova. Biljke zaražene ovom gljivom na presjeku stabljike i korijena često pokazuju nekrozu provodnog staničja ispunjenu micelijem (Cosic i sur., 2012.) što su karakteristični simptomi za pripradnika roda *Fusarium*.

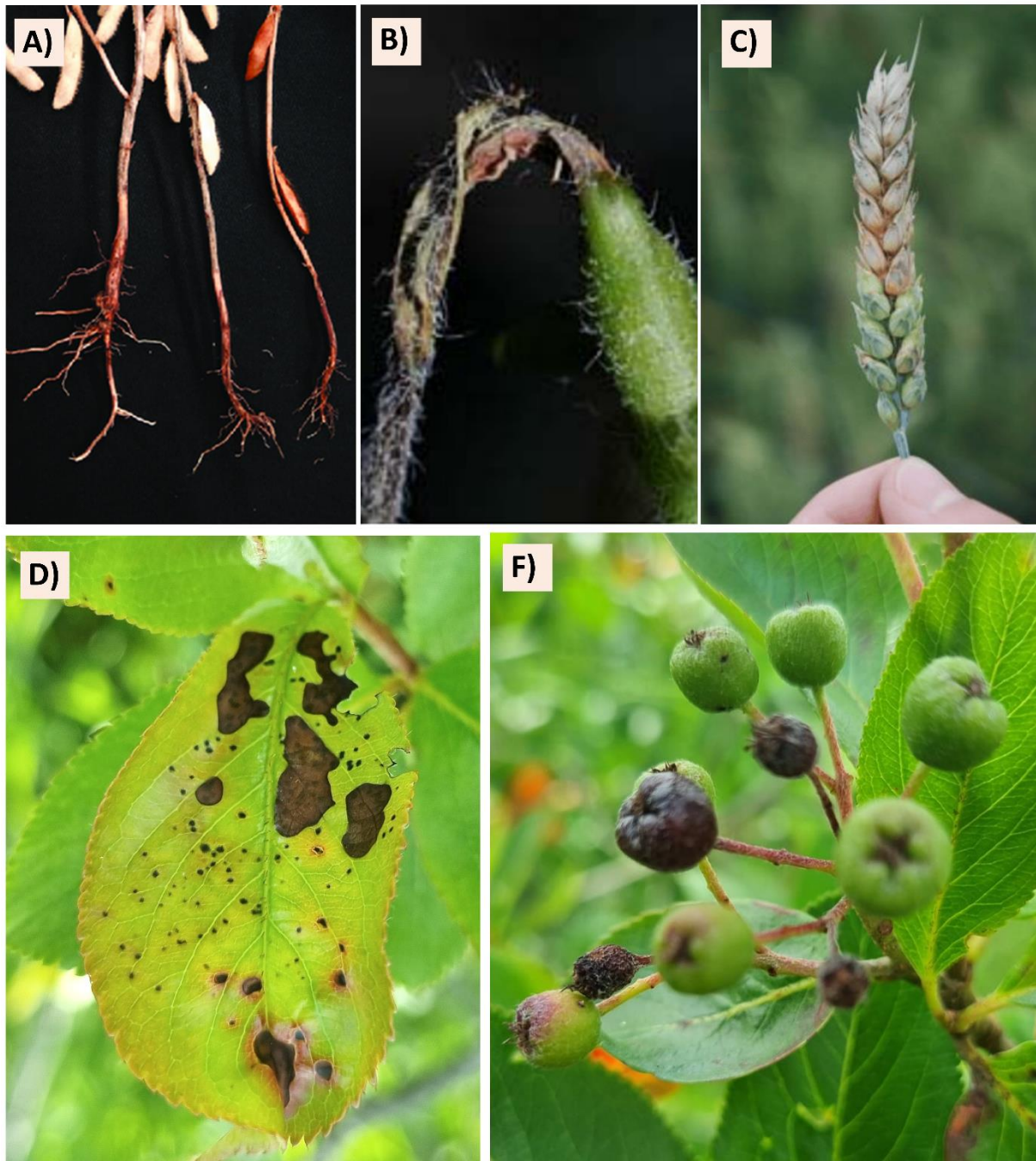
Moya - Elizondo i sur. (2013.) opisuju simptome zaraze vrstom *F. sporotrichioides* na listovima kukuruza. Početni simptomi očituju se kao male, okrugle smeđe mrlje veličine od 5 do 10 mm na različitim dijelovima lista, a s napredovanjem bolesti, nastaju nekrotična tkiva s nepravilnim smeđim do bordo rubovima na rubu i vrhu lista. Slični simptomi nekroza primijećeni su na listovima i plodovima crnoplodne aronije (Slika 2.3. D i E) (Martinko – *neobjavljeno*). Trulež korijena slanutka, prijavili su Abdelmagid i sur. (2021.) s tipičnim simptomima truleži uz redukciju duljine i mase korijena. Xia i sur. su također 2021. godine opisali simptome masivne kloroze, osušenih listova i stabljiki na 5-godišnjim stablima vrste *Hippophae rhamnoides* (pasji trn), te su nakon laboratorijskih ispitivanja utvrdili da se radi o patogenoj vrsti *F. sporotrichioides*. Za ovu vrstu prijavljeno je da uzrokuje venuće presadnica sunokreta Mathew i sur. (2010.) (Slika 2.3.,B) i trulež korijena slanutka (Abdelmagid i sur., 2020). (Slika 2.3.,A).

2.5.1.3. Suzbijanje

Suzbijanje vrsti roda *Fusarium* otežano je u mnogim kulturama, a ograničenje dostupnih fungicida dodatno otežava kontrolu ovih gljiva. U studiji Somma i sur. (2022.), dokazani su značajni učinci fungicidnih pripravaka na bazi protikonazola, metkonazola, azoksistrobina, pojedinačno i u kombinaciji s tebukonazolom, na vrstu *F. sporotrichioides*, a tretman je izveden u uvjetima *in vivo* u usjevima pšenice. Rezultati navedenog istraživanja su pokazali smanjenje sadržaja mikotoksina i do 80 % kod prisutne vrste *F. sporotrichioides*.

S obzirom na spomenuti problem brzog razvoja rezistentnosti, ograničenje kemijskih preparata za suzbijanje fuzarioza provodi se alternativno - biološkim metodama. U tu svrhu se koriste vrste bakterijskog roda *Pseudomonas* koje sudjeluju u prirodnoj supresiji *Fusarium sp.* (Lemanceau i Alabouvette, 1993.). Proizvodnja litičkih enzima antagonističkim mikroorganizmima također može biti mogući način kontrole gljiva *Fusarium sp.*, a neki od antagonističkih mikroorganizama su gljivične vrste *Mucor rouxii*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium oxalicum* i *P. purpurogenum* okarakterizirani kao proizvođači litičkih enzima sa sposobnošću razgradnje staničnih stijenki (De Cal i sur., 1995.). Kursa i sur. (2022.) su proveli istraživanje biološkog suzbijanja patogena *F. sporotrichioides* biljnim ekstraktima te su

prikazali značajne rezultate inhibicije rasta gljive u koncentracijama ekstrakta stolisnika od 20 %. Također, ekstrakti kadulje i mavrice pokazali su najjače antifungalno djelovanje u supresiji ciljane gljive *F. sporotrichioides*.



Slika 2.3. Simptomatologija vrste *Fusarium sporotrichioides*: trulež korijena soje (A) (foto: Abdelmagid i sur., 2020); venuće presadnica suncokreta (B) (foto: Mathew i sur., 2010); palež klasa pšenice (C) (foto: Birr i sur., 2020); nekroza lista (D) i ploda (E) crnoplodne aronije (foto: Martinko 2023. - neobjavljeno).

3. Materijali i metode

3.1. Podrijetlo kore cimeta i izolata

Kako bi se testirao učinak ekstrakta kore cimeta, nabavljen je ekološki cimet u prahu vrste *Cinnamomum zeylanicum* (Trgovina Farma. 1, Zagreb, Hrvatska.). Prah cimeta je prosijan kroz sito kako bi se dobila homogena struktura u svrhu provođenja ravnomjerne ekstrakcije. Pripremljeni prah cimeta uskladišten je na 4 °C do ponovne upotrebe.

Za provedbu pokusa, korišten je izolat patogene gljive *F. sporotrichioides* koja je izolirana iz lista crnoplodne aronije i čuva se u zbirci Zavoda za fitopatologiju na Sveučilištu u Zagrebu, Agronomskom fakultetu. Gljiva je molekularno identificirana konvencionalnom PCR metodom do razine vrste i sekvencirana u tvrtci MacroGen Europe (Amsterdam, Nizozemska) (K. Martinko – osobna komunikacija).

3.2. Provođenje ekstrakcije potpomognute ultrazvukom i priprema koncentracija ekstrakta

U svrhu provedbe pokusa, odvagano je 10 g praha cimeta i pomiješano s 100 ml sterilne destilirane vode kako bi se provela ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom. U svrhu uklanjanja površinske napetosti, u otopinu vode i praha aplicirano je 0,01 % surfaktanta (Tween 80) (Sigma – Aldrich, SAD).

Prema modificiranoj metodi Anal i sur. (2012.), provedena je ekstrakcija korištenjem vode kao otapala i ultrazvučne kadice (Emag Emmi D21, Njemačka) pri uvjetima od 80 W i 40 kHz u trajanju od 60 min na 50 °C. Dobiveni vodeni ekstrakt centrifugiran je na 10 000 rpm u trajanju 5 min nakon čega je odvojen od taloga.

Ekstrakt kore cimeta korišten je u rasponu koncentracija (1 %, 3 %, 5 %) određenom na temelju preliminarnih pokusa i pregleda literature što je ekvivalentno koncentracijama 10 mg mL⁻¹, 30 mg mL⁻¹ i 50 mg mL⁻¹. Na temelju faktora razrjeđenja, izračunat je volumen ekstrakta za svaku testnu koncentraciju koji je potrebno dodati u volumen PDA supstrata (50 °C) dostatnog za izlivanje svake varijante u pokusu.

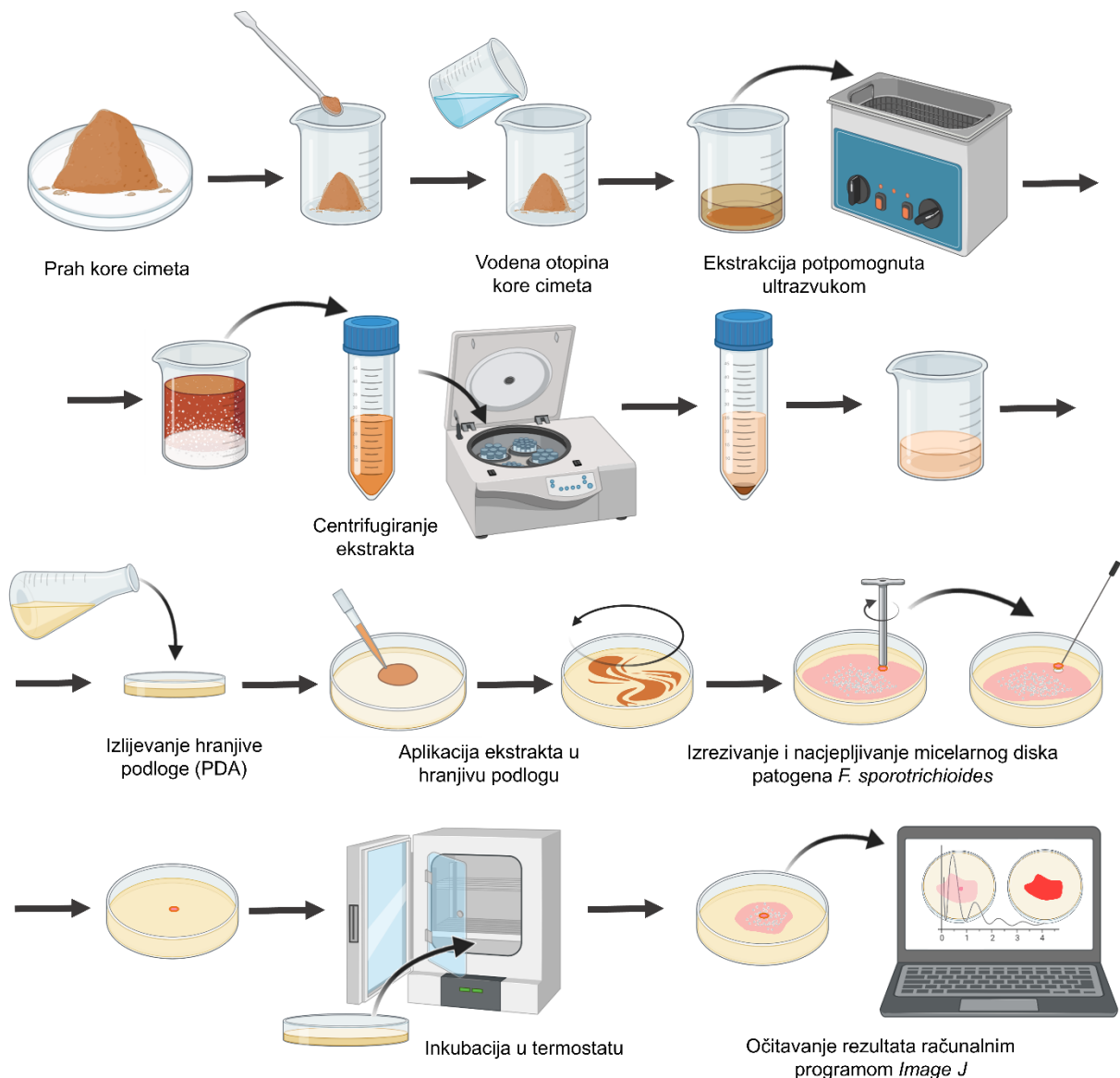
3.3. Testiranje antifungalnog učinka ekstrakta

Testiranje antifungalnog učinka vodenog ekstrakta kore cimeta provedeno je korištenjem modificirane metode *poison food* prema Qadoos i sur. (2016.).

Na prethodno izliven PDA supstrat nacijepljena je vrsta *F. sporotrichioides* pomoću micelnog diska (Ø 5 mm) i postavljena na inkubaciju u termostatu u trajanju 7 dana, na 24 °C, u mrak. Vodeni ekstrakt kore cimeta je apliciran u otopljeni i djelomično ohlađeni PDA supstrat. Nakon dodavanja ekstrakta u PDA supstrat, sadržaj tikvice je miješan kako bi se ekstrakt ravnomjerno raspodijelio unutar podloge. Otopina je ravnomjerno izlivena u plastične sterilne petrijevke (Ø 8,5 cm) u određenom broju repeticija.

Iz 7 dana starih kultura gljive *F. sporotrichioides* izrezani su micelarni diskovi (Ø 5 mm) pomoću kružnog sjekača. Micelarni diskovi su postavljeni u središte petrijevki koje sadrže; izlivenu hranjivu podlogu s ekstraktom u određenom rasponu koncentracija (test petrijevke) i hranjivu podlogu bez ekstrakta (kontrolne petrijevke) na način da je strana s micelijem postavljena na supstrat. Tako nacijepljene petrijevke, inkubirane su u klima komori na 24 °C, u mrak. Pokus je postavljen u četiri varijante i pet repeticija. U pokusu je korišteno 15 test i pet kontrolnih petrijevki tj. ukupno 20 petrijevki.

Shematski prikaz pokusa *in vitro* prikazan je slikom 3.1.



Slika 3.1. Shematski prikaz provedbe testiranja antifungalnog učinka ekstrakta kore cimeta na patogenu gljivu *Fusarium sporotrichioides* u uvjetima *in vitro* (izrada sheme – BioRender).

3.3.1. Mikroskopska analiza učinka ekstrakta na mikrostrukture patogena

Učinak vodenog ekstrakta kore cimeta na mikrostrukture patogena *F. sporotrichioides* istražen je prema modificiranoj metodi Dèné i Valiuškaitė (2021.) pomoću svjetlosnog mikroskopa (Olympus, Japan) i stereomikroskopa (Olympus, Japan).

U svrhu kvantifikacije učinka ekstrakta na mikrostrukture gljive, izrađeni su mikroskopski preparati koji sadrže hife patogena iz kontrolne petrijevke te hife patogena iz testnih varijanti s koncentracijama ekstrakta u hranjivoj podlozi, a zapažene strukturne promjene su fotografirane. Temeljem uočenih strukturnih promjena na hifama patogena, kvantificiran je antifungalni učinak ekstrakta. Osim hifa, na isti način su analizirane spore patogena. Mikrostrukture su prije mikroskopije obojane plavim laktofenolom.

3.3.2. Fitokemijski testovi

Korištenjem vodenog ekstrakta kore cimeta, provedena su fitokemijska testiranja kako bi se odredilo prisustvo sadržaja antifungalnih spojeva u ekstraktu.

Fitokemijski testovi za dokazivanje prisustva flavonoida, tanina, fenola, kinona prema Parisa i sur. (2019.), alkaloida prema Adarsh i sur. (2020.) i terpenoida prema Pandey i sur. (2014.) provedeni su na način da su vodenom ekstraktu kore cimeta dodani određeni reagensi, a prisustvo ili odsustvo spojeva određeno je temeljem pojave određene kemijske reakcije.

3.3.3. Očitavanje rezultata pokusa

Fotografiranjem test i kontrolnih petrijevki nakon 7 dana, provedeno je očitavanje rezultata pokusa, a fotografije su obrađene računalnim programom *ImageJ* (Schneider i sur., 2012.) prema modificiranoj metodi Guzmán i sur. (2014.). Na temelju srednjih vrijednosti (cm²) površine micelija gljive *F. sporotrichioides*, izračunat je indeks inhibicije (%) i kvantificiran antifungalni učinak vodenog ekstrakta kore cimeta.

3.3.4. Statistička analiza rezultata

Rezultati testiranja antifungalnog učinka vodenog ekstrakta kore cimeta predstavljeni su srednjim vrijednostima i standardnim odstupanjima. Podatci koji odgovaraju normalnoj distribuciji, analizirani su jednosmjernom analizom varijance (One Way ANOVA), a razlike između tretmana su evaluirane Tukey testom ($p \leq 0,05$) (Tukey, 1949.) u statističkom programu SPSS, verzija 27 (IBM SPSS Statistics IBM, Corp., New York, NY, 2023.).

4. Rezultati istraživanja

4.1. Rezultati testiranja antifungalnog učinka ekstrakta

Rezultati testiranja antifungalnog učinka različitih koncentracija vodenog ekstrakta kore cimeta na patogenu gljivu *F. sporotrichioides*, usporedno s kontrolnom varijantom bez ekstrakta, prikazani su tablicom 4.1. i slikom 4.1.

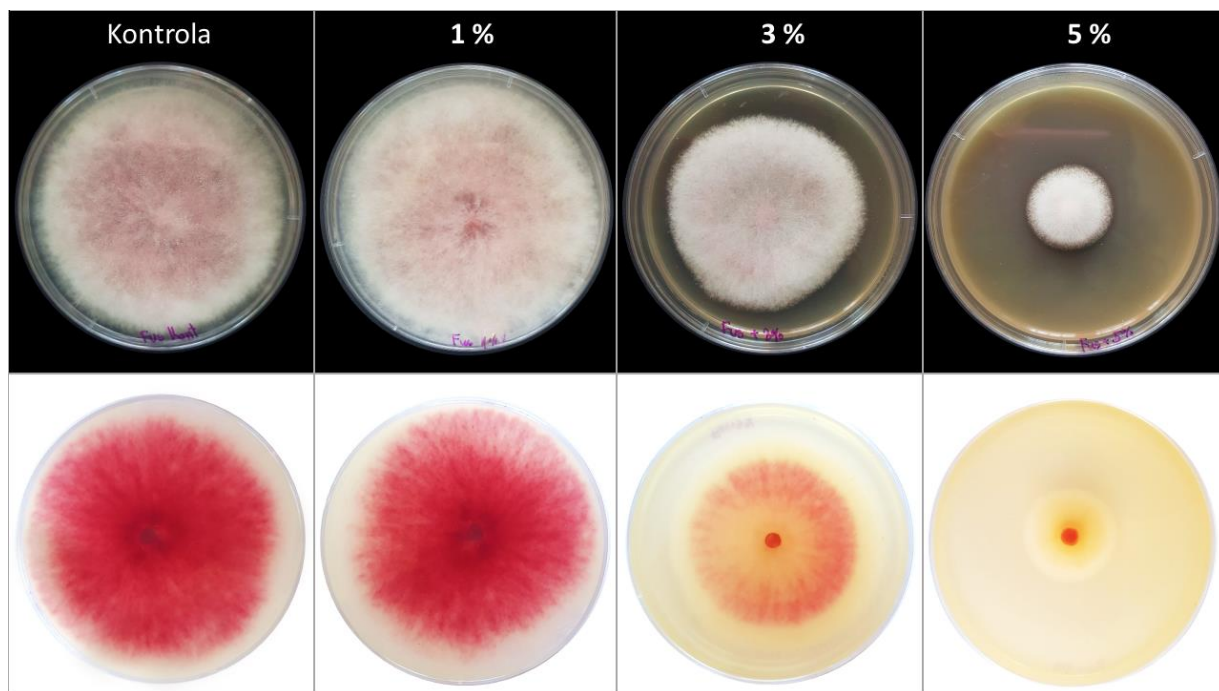
Rast micelija gljive zabilježen je na svim varijantama koje sadrže testirane koncentracije ekstrakta. Na hranjivom mediju koji sadrži 1 % ekstrakta, rast gljive inhibiran je za 3,1 %, dok je na hranjivim podlogama koje sadrže 3 % i 5 % rast inhibiran za 10,4 % i 70 % u usporedbi s kontrolnom varijantom.

Srednje vrijednosti površine micelija patogena *F. sporotrichioides* značajno su smanjene u testnim varijantama s koncentracijama ekstrakta 3 % i 5 % u odnosu na srednje vrijednosti kontrolne skupine ($p < 0,05$, Tukey test). Srednje vrijednosti površine micelija patogena na hranjivoj podlozi s 1 % ekstrakta nisu statistički značajne u usporedbi sa srednjim vrijednostima kontrolne skupine prema Tukey testu ($p < 0,05$).

Tablica 4.1. Antifungalni učinak ekstrakta kore cimeta na površinu rasta micelija patogena *Fusarium sporotrichioides* nakon 7 dana.

C (%)	Kontrola		Test	
	0 % + F.s.	1 % + F.s.	3 % + F.s.	5 % + F.s.
\bar{x} (cm ²) ± SD	57,5 ± 0,3 ^a	55,7 ± 0,8 ^a	51,5 ± 3,5 ^b	17,2 ± 1,9 ^c
I (%)	0 %	3,1 %	10,4 %	70 %

*različita slova označavaju statistički značajnu razliku između srednjih vrijednosti unutar raspona koncentracija (Tukey test, $P < 0,05$).



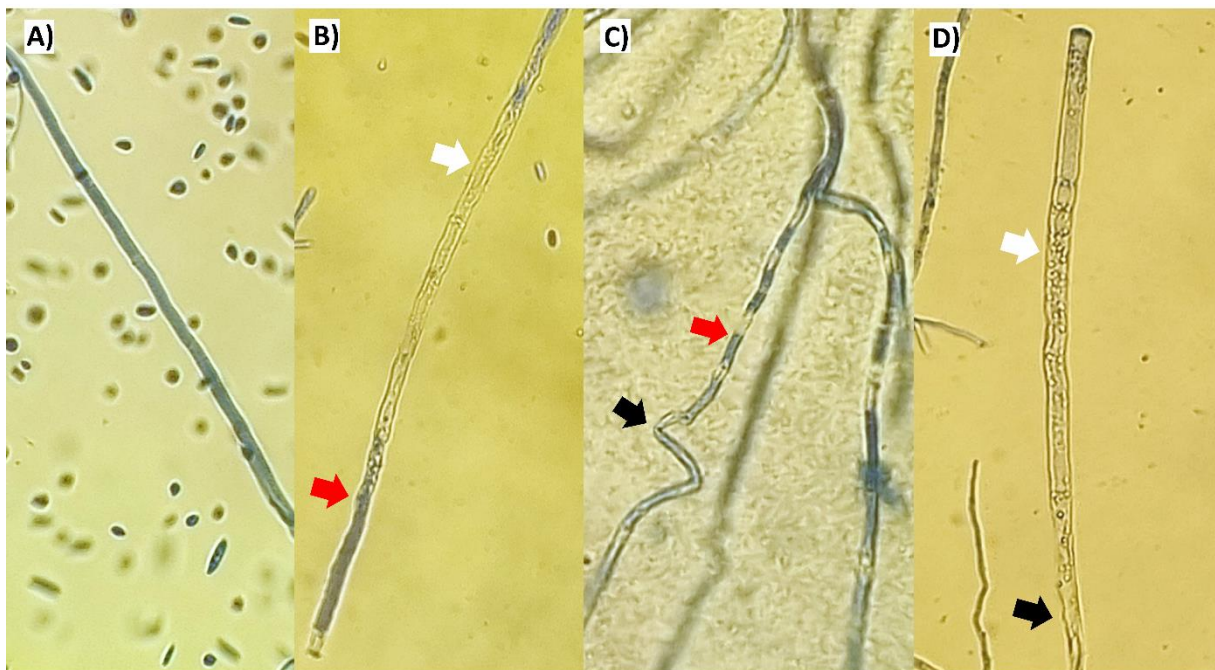
Slika 4.1. Prikaz antifungalnog učinka vodenog ekstrakta kore cimeta na micelarni razvoj patogena *Fusarium sporotrichioides* u usporedbi s kontrolom nakon 7 dana.

4.1.1. Rezultati mikroskopske analize učinka ekstrakta na mikrostrukture patogena

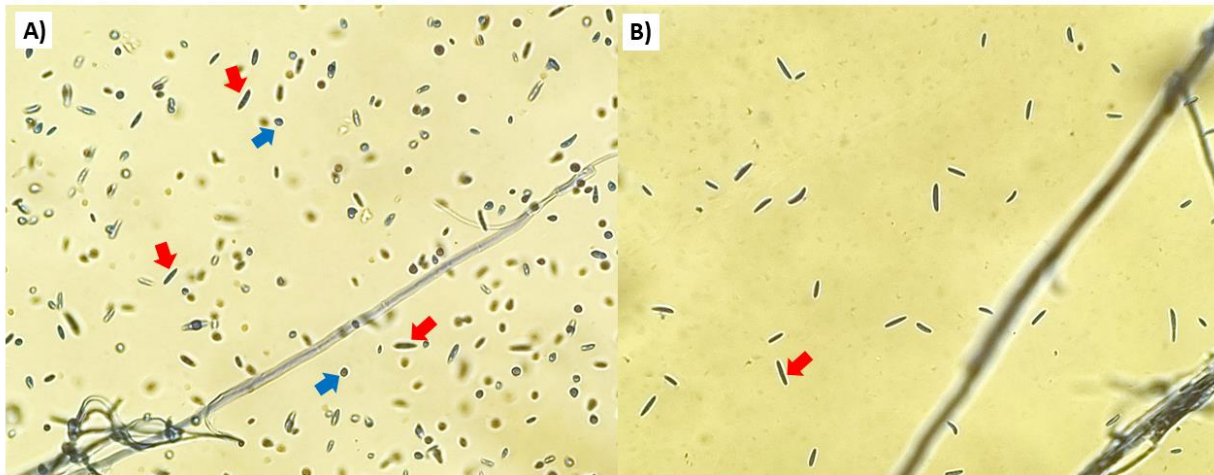
Patogen *F. sporotrichioides* pokazao je micelarne morfološke promjene tijekom rasta na hranjivoj podlozi s najvišom testiranom koncentracijom vodenog ekstrakta kore cimeta (5 %) nakon 7 dana.

Mikroskopskom analizom utvrđene su morfološke promjene hifa i promjene u produkciji spora patogena u usporedbi s kontrolnom varijantom. Hife patogena pokazuju deformacije, sakupljanje, vakuolizaciju i istjecanje sadržaja iz pojedinih fragmenata hife te nekrozu u odnosu na kontrolne hife koje su turgične i pravilne. Prodiranje boje u određenim fragmentima hifa je intenzivnije nego u ostalim što ukazuje na propusnost određenih dijelova zbog čega hife izgledaju prazno. Također, uočena je promjena boje (blijedenje) micelija s povišenjem koncentracije ekstrakta (Slika 4.1.).

Mikrografije koje prikazuju antifungalni učinak ekstrakta kore cimeta na hife patogena *F. sporotrichioides*, prikazane su slikom 4.2., a promjene u sporulaciji prikazane su slikom 4.3.



Slika 4.2. Prikaz učinka ekstrakta kore cimeta (5 %) na hife patogena *Fusarium sporotrichioides* nakon 7 dana: (A) hifa iz kontrolne varijante; (B-D) deformacije hifa patogena: neravnomjerna obojenost laktofenolom koja upućuje na istjecanje sadržaja hifa (**crvene strelice**); vakuolizacija sadržaja hifa (bijele strelice), uvijanje i urušavanje hifa (**crne strelice**).

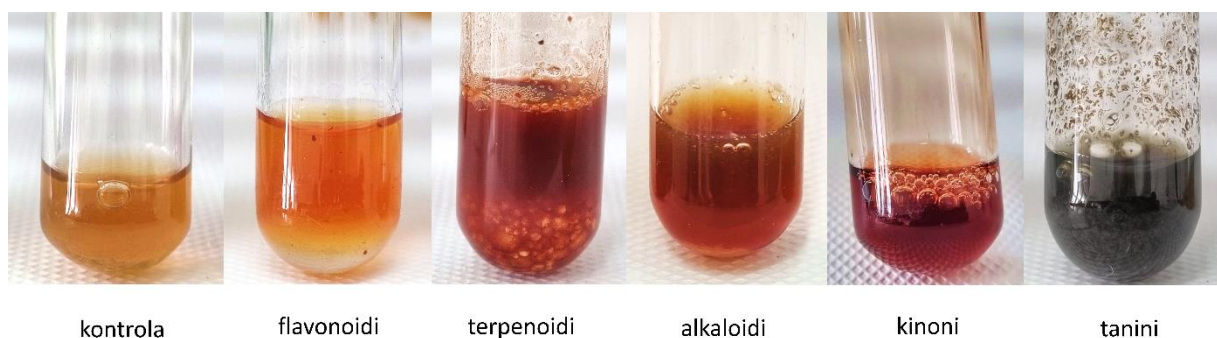


Slika 4.3. Prikaz učinka ekstrakta kore cimeta (5 %) na produkciju spora patogena *Fusarium sporotrichioides* nakon 7 dana: (A) produkcija makrokonidija (crvene strelice) i mikrokonidija (plave strelice) na kontrolnoj varijanti bez ekstrakta; (B) izostanak produkcije mikrokonidija i razvoj makrokonidija na podlozi s 5 % ekstrakta.

4.1.2. Rezultati fitokemijskih testova

Rezultati fitokemijskih testiranja dokazali su da u vodenom ekstraktu kore cimeta su prisutni: flavonoidi, tanini, fenoli, terpenoidi, alkaloidi i kinoni (Slika 4.4.).

U prisutnosti terpenoida dolazi do pojave crvenog percipitata, dok u prisutnosti flavonoida, dodatkom reagensa ekstrakt poprima crvenkasto narančasto obojenje u alkoholnom sloju. Test prisustva tanina rezultira tamno smeđim do crnim obojenjem otopine ekstrakta, a ispitivanje kinona dovodi do tamnocrvenog obojenja otopine ekstrakta. Crveno zamućena otopine potvrđuje sadržaj alkaloida u testiranom ekstraktu.



Slika 4.4. Prikaz rezultata provedenog fitokemijskog testiranja vodenog ekstrakta kore cimeta na prisustvo antifungalnih spojeva u usporedbi s kontrolom (ekstraktom bez dodatka reagensa).

5. Rasprava

Testiranjem učinka vodenog ekstrakta kore cimeta metodom *poison food* u uvjetima *in vitro*, potvrđen je fungistatski učinak na rast i razvoj fitopatogene gljive *F. sporotrichioides* nakon 7 dana.

Na hranjivim podlogama s ekstraktom apliciranim u testnom rasponu koncentracija (1 %, 3 % i 5 %), zabilježena je inhibicija micelnog rasta gljivičnog patogena. Inhibicija rasta gljive na 1 % ekstrakta nije značajna (3,1 %), dok je rast gljive na višim koncentracijama (3 % i 5 %) značajno inhibiran (10,1 % i 70 %) u usporedbi s kontrolnom skupinom (Tablica 1.). Na najvišoj testnoj koncentraciji (5 %), rast vrste *F. sporotrichioides* supresiran je gotovo sedam puta više u odnosu na rast na 3 % ekstrakta u podlozi. O inhibitornom učinku vodenog ekstrakta kore cimeta toksigenih vrsti roda *Fusarium* izvjestili su Mvuemba i sur. (2009.) gdje je metodom *poison food* inhibiran rast patogena *F. sambucinum* za 31 % nakon trodnevnog rasta na 5 % ekstrakta. Carmello i sur. (2022.) potvrdili su značajan antifungalni učinak 5 %-tnog vodenog ekstrakta kore cimeta metodom *poison food* na dva soja vrste *F. oxysporum f. sp. lycopersici* gdje je rast jednog soja inhibiran za 31 %, a drugog za 36 % u uvjetima *in vitro*. Autori istog rada zabilježili su značajnu redukciju spora patogena na koncentraciji od 5 %. Interesantni su rezultati Kowalska i sur. (2020.) koji su također potvrdili značajan učinak vodenog ekstrakta kore cimeta na rast micelija *Botrytis cinerea* sa zabilježenom inhibicijom od 54 %, gdje je ekstrakt primijenjen u koncentraciji od 0,5 %, tj. inhibiran je za 81 % kada je aplicirano 1 % ekstrakta u uvjetima *in vivo* nakon 6 dana. Uspoređujući rezultate drugih istraživanja, čini se da je protugljivični potencijal vodenog ekstrakta kore cimeta selektivan prema vrsti ili soju patogena (Carmello i sur., 2022.), što pokazuje veću složenost u načinu djelovanja aktivnih spojeva cimeta. Osim na fitopatogene vrste, postoje istraživanja (sinergi o značajnim antimikotičkim učincima vodenog ekstrakta cimeta na humane bakterije u dentalnoj medicini).

S porastom koncentracije ekstrakta cimeta u hranjivoj podlozi, u ovom istraživanju zabilježen je gubitak ružičastog pigmenta gljive (Slika 4.1.). Povezanost između gubitka micelnog crvenog pigmenta gljiva *Fusarium sp.* i produkcije toksina predložili su Duarte i sur. (2003.) u svom istraživanju, premda napominju da navedena korelacija može ovisiti o vrsti i soju patogena. Zanimljivo je da crvena pigmentiranost vrsti roda *Fusarium* ovisi o produkciji pigmenta aurofusarina (Sorensen i sur., 2012.) koji je ujedno značajan mikotoksin (Westphal i sur., 2018.). Premda nije zabilježena potpuna inhibicija micelija gljive ni na najvišoj koncentraciji (5 %), zamijećen gubitak crvenog pigmenta patogena moguće dovodi i do redukcije mikotoksina što je značajnije za supresiju toksikogene gljive *F. sporotrichioides*. U korist ovoj pretpostavci svjedoči istraživanje Xing i sur. (2014.) u kojem je ulje cimeta gotovo u potpunosti (94 %) degradiralo mikotoksin (fumonisin) kojeg dominantno proizvode vrste *F. verticillioides* i *F. proliferatum*.

Zabilježeni antifungalni učinci ekstrakta kore cimeta pripisuju se fitokemijskim spojevima cimeta. Prisutnost ili odsutnost različitih fitokonstituenata, tj. tanina, saponina, flavonoida i terpenoida otkriveni su fitokemijskim metodama probira s različiti kemijskim

reagensima (Adarsh i sur., 2020.). Provođenjem fitokemijskih testova u ovom istraživanju potvrđeno je prisustvo spojeva kao što su tanini, flavonoidi, terpenoidi, alkaloidi, kinoni, a navedeni rezultati su u skladu s rezultatima istraživanja iz pregleda literature (Pandey i sur., 2014.; Parisa i sur., 2019.; Adarsh i sur., 2020.). Mnoga istraživanja, antifungalno djelovanje ekstrakta cimeta u inhibiciji gljiva *Fusarium sp.*, pripisuju prisutnosti spojeva cinamaldehida (Gende i sur., 2008.; Carmello i sur., 2022.), cimetne kiseline i eugenola (Ranasinghe i sur., 2002.; Carmello i sur., 2022.) uz sinergističko djelovanje s drugim navedenim fitokemijskim spojevima (Carmello i sur., 2022.).

U ovom istraživanju, aktivnost ekstrakta kore cimeta je zabilježena budući da su pogođeni morfološki atributi patogena (inhibicija rasta micelija i gubitak pigmenta). Osim makroskopskih promjena, svjetlosnom mikroskopijom uočene su značajne deformacije hifa vrste *F. sporotrichioides* nakon sedmodnevnog rasta na najvišoj koncentraciji ekstrakta (5 %). Utvrđeno je istjecanje sadržaja hifa, vakuolizacija sadržaja te uvijanje i urušavanje hifa, dok su hife na kontrolnoj varijanti bile potpune, turgične i pravilne. Dobiveni rezultati učinka na mikrostrukture patogena su u skladu s istraživanjem Carmello i sur. (2022.) čiji rezultati pokazuju slične učinke ekstrakta kore cimeta na morfološke karakteristike hifa *Fusarium oxysporum*, također na koncentraciji od 5 %.

Osim morfoloških promjena na hifama, zamijećeno je smanjenje sporulacije i promjena u produkciji tipova konidija. Nakon 7 dana, na kontrolnoj varijanti bez ekstrakta, gljiva je producirala oba tipa konidija (makrokonidije i mikrokonidije). Na podlozi koja je sadržavala 5 % ekstrakta, (usprkos smanjenju sporulacije) zapažena je produkcija samo jednog tipa konidija – makrokonidija (Slika 4.3., B). Ovu situaciju je potrebno detaljnije istražiti.

Dobiveni rezultati istraživanja u uvjetima *in vitro* sugeriraju da vodeni ekstrakt kore cimeta u nižim koncentracijama 3 % i 5 % pokazuju učinkovit učinak na rast patogene gljive *F. sporotrichioides* što sugerira karakteristije potencijalnog sredstva za biološko suzbijanje fitopatogenih gljiva osobito toksigenih gljiva roda *Fusarium*. Potrebna su dodatna istraživanja ovog ekstrakta u uvjetima *in vivo* na navedenog gljivičnog patogena kako bi se utvrdila učinkovitost prilikom aplikacije spoja u interakciji biljka-patogen, ali i u uvjetima *in vitro* aplikacijom na plodove u uskladištenim prostorima u svrhu potencijalne inhibicije produkcije mikotoksina toksigenih gljiva.

6. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata, postavljene hipoteze se mogu verificirati na sljedeći način:

1) Testiranjem učinka ekstrakta kore cimeta na fitopatogenu gljivu *F. sporotrichioides* u uvjetima *in vitro*, ekstrakt pokazuje značajan fungistatski učinak. Micelij gljive je značajno inhibiran na hranjivoj podlozi s 5 % ekstrakta što je gotovo sedam puta više u odnosu na značajno smanjenje rasta gljive na podlozi s 3 % ekstrakta (10,4 %), zbog čega se prva hipoteza (H1) prihvaća.

2) Analizom učinka ekstrakta kore cimeta na mikrostrukture patogena *F. sporotrichioides* utvrđene su značajne morfološke promjene micelija u vidu promjene obojenja (blijedenje), promjene u sporulaciji te deformacije hifa (sakupljanje, vakuolizacija i istjecanje sadržaja hifa) nakon rasta na najvišoj testnoj koncentraciji (5 %) ekstrakta, zbog čega se druga hipoteza (H2) prihvaća.

3) Ispitivanjem vodenog ekstrakta kore cimeta na prisustvo fitokemijskih spojeva s antifungalnim učinkom nakon ekstrakcije potpomognute ultrazvukom, dokazano je prisustvo fitokemijskih spojeva (flavonoidi, tanini, fenoli, terpenoidi, alkaloidi i kinoni) s antifungalnim učinkom, zbog čega se treća hipoteza (H3) prihvaća.

7. Popis literature

1. Abd El-Rahim M.A., El-Samawaty, Mohamed A. Yassin, Mohamed A. Moslem i Moawad R. Oma (2013.). Effectiveness of Some Plant Extracts against *Fusarium* spp. Causing Cotton Seedlings Damping-off. Life Science Journal 10(4). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.09.016> (pristupljeno: 23. svibnja 2023.)
2. Abdelmagid M., Hafez A., Soliman L. R., Adam F., Daayf, (2021). First report of *Fusarium sporotrichioides* causing root rot of soybean in Canada and detection of the pathogen in host tissues by PCR, Canadian Journal of Plant Pathology, 43(4), 527-536, doi: 10.1080/07060661.2020.1841034
3. Abdelmagid, A., Hafez, M., Soliman, A., Adam, L. R., & Daayf, F. (2020). First report of *Fusarium sporotrichioides* causing root rot of soybean in Canada and detection of the pathogen in host tissues by PCR. Canadian Journal of Plant Pathology. 43:4, 527-536. <file:///C:/Users/38595/Downloads/FirstreportofFusariumsporotrichioidescausingrootofsoybeaninCanadaanddetectionofthepathogeninhosttissuesbyPCR2.pdf>. (pristupljeno 14. lipnja 2023.)
4. Adarsh A., Bharath C., Kanthesh B.M., Raghu N. (2020). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Cinnamon zeylanicum*. International Journal of Pharmaceutical Research and Innovation, 13, 22-33 <https://www.researchgate.net/publication/340548302> (pristupljeno 28. veljače 2023).
5. Alisaac E., Mahlein A-K. (2023). *Fusarium* Head Blight on Wheat: Biology, Modern Detection and Diagnosis and Integrated Disease Management. Toxins. 15(3):192. 2 <https://doi.org/10.3390/toxins15030192> (pristupljeno 11. svibnja 2023.).
6. Amini M., Safai N., Salmani M.J., Shams-Bakhsh M. (2012). Antifungal activity of three medicinal plant essential oils against some phytopathogenic fungi. Trakia J. Sci., 10, 1–8. <http://tru.uni-sz.bg/tsj/Vol.10,%20N%201,%202012/M.Amini.pdf> (pristupljeno 22. svibnja 2023.).
7. Anal A.K., Jaisanti S., Noomhorm A. (2012). Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. J. Food Sci. Technol. 51, 2632–2639. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0793-x> (pristupljeno 15. svibnja 2023.).
8. Bakewell-Stone P. (2022). *Cinnamomum verum* (cinnamon). CABI Compendium. 13573, <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/epdf/10.1079/cabicompendium.13573>. (pristupljeno 13. lipnja 2023.)
9. Baličević R., Parađiković, N., Šamota, D. (2007). Control of soil parasites (*Pythium debaryanum*, *Rhizoctonia solani*) on tomato by a biological product. Cereal Research Communications. 35 (2): 1001-1004. <https://www.istor.org/stable/45138099> (pristupljeno 10. svibnja 2023.).
10. Bernadovičová S. i Ivanová H. (2011). Hypomyces and Coleomyces fungi isolated from affected leaves and twigs of cherry laurel trees, Folia Oecologica 38 (2): 137-145. <https://ife.sk/wp-content/uploads/2016/10/bernardovicova.pdf> (pristupljeno 29. svibnja 2023.).

11. BioRender. Scientific Image and Illustration Software. <https://www.biorender.com> (pristupljeno 06. lipnja 2023.).
12. Birr T., Hasler M., Verreet J.-A., Klink, H. (2020). Composition and Predominance of *Fusarium* Species Causing Fusarium Head Blight in Winter Wheat Grain Depending on Cultivar Susceptibility and Meteorological Factors. *Microorganisms*, 8(4), 617. doi:10.3390/microorganisms8040617.
13. Borrero T., Ordovás T., Avilés A. (2007). Predictive Factors for the Suppression of *Fusarium* Wilt of Tomato in Plant Growth Media. 96 (10). <https://doi.org/10.1094/PHTO.2004.94.10.1094> (pristupljeno 15. travnja 2023.).
14. Brown D. i Robert H. (2013). Proctor *Fusarium* Genomics, Molecular and Cellular Biology, Bacterial Foodborne Pathogens and Mycology <http://ndl.ethernet.edu.et/bitstream/123456789/5375/1/323.pdf> (pristupljeno 15. travnja 2023.)
15. Carmello C. R., Magri M. M. R., Cardoso J. C. (2022). Cinnamon extract and sodium hypochlorite in the in vitro control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Alternaria alternata* from tomato. *Journal of Phytopathology*, 170, 802–810. <https://doi.org/10.1111/jph.13143> (pristupljeno 14. lipnja 2023.)
16. Carmello C. R., Magri M., Cardoso J. (2022). Cinnamon extract and sodium hypochlorite in the *in vitro* control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Alternaria alternata* from tomato. *Journal of Phytopathology*, 170, 802–810. <https://doi.org/10.1111/jph.13143>. (pristupljeno 14. ožujka 2023.)
17. Cerqueira Sales M.C., Costa H.B., Fernandes P.M.D, Ventura J.A., Meira D.D. (2016). Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6 (1) 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026> (pristupljeno 06. lipnja 2023.)
18. Chelkowski J., Manka M., Kwasna H., Visconti A., Golinski P. (1989). *Fusarium sporotrichioides* Sherb., *Fusarium tricinctum* (Corda) Sacc. and *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. — Cultural Characteristics, Toxinogenicity and Pathogenicity Towards Cereals 124(2) <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1989.tb04910.x> (pristupljeno 15. travnja 2023.)
19. Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>. (pristupljeno 10. svibnja 2023.).
20. Cheng Y., Huai W., Lin R., Yao Y., Yu S., Zhou Z., Zhang X., Gao Y. (2019). *Fusarium* species in declining wild apple forests on the northern slope of the Tian Shan Mountains in north-western China. *Forest Pathology*. <https://doi.org/10.1111/efp.12542> (pristupljeno 06. lipnja 2023.).
21. Chet I. i Inbar J. (1994). Biological control of fungal pathogens. *Appl Biochem Biotechnol* 48, 37–43. <https://doi.org/10.1007/BF02825358> (pristupljeno 10. svibnja 2023.).

22. Cormick S.P., Stanley A.M., Stover N.A., Alexander N.J. (2011). Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. *Toxins*, 3 (802–814). <https://doi.org/10.3390/toxins3070802> (pristupljeno 12. lipnja 2023.)
23. Cosic J., Vrandecic K., Jurkovic D., Postic J., Orzali L., Riccioni L. (2012). First Report of Lavender Wilt Caused by *Fusarium sporotrichioides* in Croatia. *Plant disease*, 96(4), 591. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-11-1046-PDN> (pristupljeno 23. veljače 2023.)
24. Crous P. W., Lombard L., Sandoval-Denis M., Seifert K. A., Schroers H. J., Chaverri P., Gené J., Guarro J., Hirooka Y., Bensch K., Kema G. H. J., Lamprecht S. C., Cai L., Rossman, A. Y., Stadler, M., Summerbell R. C., Taylor J. W., Ploch S., Visaghi C. M., Yilmaz N., ... Thines, M. (2021). *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in mycology*, 98, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116> (pristupljeno 12. lipnja 2023.)
25. Deising H. B., Reimann S., Pascholati S.F. (2008). Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian journal of microbiology: publication of the Brazilian Society for Microbiology*, 39(2), 286–295. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220080002000017> (pristupljeno 04. svibnja 2023.)
26. Déné L. i Valiūškaitė A. (2021). Sensitivity of *Botrytis cinerea* Isolates Complex to Plant Extracts. *Molecules*, 26(15):4595. <https://doi.org/10.3390/molecules26154595> (pristupljeno 02. svibnja 2023.)
27. Dikhoba P.M., Mongalo N.I., Elgorashi E.E., Makhafola T.J (2019). Antifungal and anti-mycotoxigenic activity of selected South African medicinal plants species. *Heliyon*. 5(10) doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02668.
28. Domsch K.H i Gams W. (1970). *Pilze aus Agraböden*. Stuttgart, Gustav Fischer Verlag.
29. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. (1993): *Compendium of soil fungi*. Vol. 1. Eching, IHW-Verlag
30. Duarte, M. de L. R., & Archer, S. A. (2003). In vitro toxin production by *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. *Fitopatologia Brasileira*, 28(3), 229–235. doi:10.1590/s0100-41582003000300002
31. Elad Y. i Freeman S. (2002). Biological Control of Fungal Plant Pathogens. In: Kempken, F. (eds) *Agricultural Applications. The Mycota*, 11. Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-03059-26> (pristupljeno 11. svibnja 2023.).
32. El-Masry M., Khalil A., Hassouna M. i sur., (2002). In situ and *in vitro* suppressive effect of agricultural composts and their water extracts on some phytopathogenic fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18, 551–558. <https://doi.org/10.1023/A:1016302729218> (pristupljeno 11. svibnja 2023.).
33. Fitosanitarni informacijski sustav, FIS (2023). <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/> (pristupljeno: 10. travnja 2023.)
34. Fugelstad D. (2011). Functional characterization of cellulose and chitin synthase genes in Oomycetes. Doctoral thesis in Biotechnology Division of Glycoscience Stockholm, Sweden. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:418553/FULLTEXT02> (pristupljeno 12. lipnja 2023.)

35. Fungicide resistance committee, FRAC (2022). Code List. https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022--final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2 (pristupljeno 05. lipnja 2023.).
36. García-Ramírez E., Contreras-Oliva A., Salinas-Ruiz J., Hernández-Ramírez G., Spinoso-Castillo JL, Colmenares Cuevas SI. (2023). Plant Extracts Control *In Vitro* Growth of Disease-Causing Fungi in Chayote. *Plants*. 12(9), 1800. <https://doi.org/10.3390/plants12091800> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
37. Gende B., Floris I., Fritz R., Eguaras M.J (2008.) Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from Argentine Liesel 61 (1): 1-4. <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol61-2008-001-004gende.pdf> (pristupljeno 23. ožujka 2023.)
38. Gross-Steinmeyer K. i Eaton D. L. (2012). Dietary modulation of the biotransformation and genotoxicity of aflatoxin B(1). *Toxicology*, 299(2-3), 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.05.016> (pristupljeno 11. ožujka 2023.)
39. Gruenwald J., Freder J. i Armbruester N. (2010). Cinnamon and Health, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(9), 822-834. <https://doi.org/10.1080/10408390902773052> (pristupljeno 12. travnja 2023.).
40. Guzmán C., Bagga M., Kaur A., Westermarck J., Abankwa D. (2014). ColonyArea: An ImageJ Plugin to Automatically Quantify Colony Formation in Clonogenic Assays. *PLoS ONE*, 9(3), e92444. doi:10.1371/journal.pone.0092444.
41. Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*, 86 (6): 985–990. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x> (pristupljeno 11. ožujka 2023).
42. Heydari A. i Pessarakli M., (2010). A Review on Biological Control of Fungal Plant Pathogens Using Microbial Antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10 (4) (273-290). doi: 10.3923/jbs.2010.273.290.
43. Hofmann J., Spatz P., Walther R., Gutmann M., Maurice T., Decker M. (2022). Synthesis and Biological Evaluation of Flavonoid-Cinnamic Acid Amide Hybrids with Distinct Activity against Neurodegeneration *in Vitro* and *in Vivo*. 28, (39). <https://doi.org/10.1002/chem.202200786> (pristupljeno 13. lipnja 2023.).
44. Hollomon D.W. (2015). Fungicide resistance: Facing the challenge. *Plant Protect. Sci*. 51, 170–176. <https://www.agriculturejournals.cz/pdfs/pps/2015/04/03.pdf> (pristupljeno 24. svibnja 2023.)
45. <https://doi.org/10.1021/jf051513y> (pristupljeno 13. lipnja 2023.)
46. IBM Corp. (2020). *IBM SPSS Statistics for Windows*, Armonk, NY: IBM Corp. <https://hadoop.apache.org/> (preuzeto 28. ožujka 2023).
47. Imad H.H., Huda J.A., Ghaidaa J.M. (2016). Evaluation of antifungal and antibacterial activity and analysis of bioactive phytochemical compounds of *Cinnamomum zeylanicum* (Cinnamon Bark) using gas chromatography-mass spectrometry. *Orient. J. Chem.*32, 1769–1788. <http://www.orientjchem.org/?p=19893> (pristupljeno 24. veljače 2023.).

48. IndexFungorum, (2023). <https://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=145064> (pristupljeno 11. svibnja 2023.)
49. Ivanova H., Hrehova L., Pristaš P. (2016). First Confirmed Report on *Fusarium sporotrichioides* on *Pinus ponderosa* var. *jeffreyi* in Slovakia. *Plant Protect. Sci.* 52 (4): 250–253. doi: 10.17221/66/2016-PPS.
50. Ivić D. i Cvjetković B. (2017). Zavod za zaštitu bilja, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo. *Glasiilo biljne zaštite.* 17(5). <https://hrcak.srce.hr/glasilo-biljne-zastite> (pristupljeno 27. veljače 2023.)
51. Jakheta V., Patel R., Khatri P., Pahuja N., Garg S, Pandey A., i Sharma S., (2010). Cinnamon: a Pharmacological review. *Journal of Advanced Scientific Research*, 1(02), 19-23. Retrieved from <https://scisage.info/index.php/JASR/article/view/13> (pristupljeno 11. svibnja 2023.)
52. Jiang, C., Song, J., Zhang, J. i sur. Identification and characterization of the major antifungal substance against *Fusarium Sporotrichioides* from *Chaetomium globosum*. *World J. Microbiol Biotechnol* 33, 108. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2274-x> (pristupljeno 23. svibnja 2023.)
53. Jobling J. (2000.). Essential oils. A new idea for post-harvest disease control. *Good Fruit and Vegetable Magazine*; 11: 50. https://www.postharvest.com.au/GFV_oils.PDF (pristupljeno 06. lipnja 2023.)
54. Jones F.A. (1996). Herbs – useful plants. Their role in history and today. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 8, 1227 - 1231.
55. Karadžić D., Milijašević T. (2008): The most important parasitic and saprophytic fungi in Austrian pine and scots pine plantations in Serbia. *Bulletin of the Faculty of Forestry*, 97 (147–170). doi :10.2298/GSF0897147K.
56. Khan G., Gleason M. L., Irshad G., Naz F., Mayfield D., i Shokanova A. (2022). First report of *Fusarium sporotrichioides* causing Fusarium fruit rot on peaches in Pakistan. *Plant disease*, 10.1094/PDIS-08-22-1910-PDN. Advance online publication. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1910-PDN> (pristupljeno 06.lipnja 2023.)
57. Kokkonen M., Jestoi M., Laitila, A. (2012). Mycotoxin production of *Fusarium langsethiae* and *Fusarium sporotrichioides* on cereal-based substrates. *Mycotoxin Res* 28, 25–35. <https://doi.org/10.1007/s12550-011-0113-8> (pristupljeno 27.veljače 2023)
58. Kowalska J., Tyburski J., Krzyminska J., Jakubowska M. (2020). Cinnamon powder: *An in vitro* and *in vivo* evaluation of antifungal and plant growth promoting activity. *European Journal of Plant Pathology*, 156, 237– 243.
59. Kowalska J., Tyburski J., Matysiak K., Jakubowska M., Łukaszyk J., Krzymińska J. (2021). Cinnamon as a Useful Preventive Substance for the Care of Human and Plant Health. *Molecules.* 26(17) doi: 10.3390/molecules26175299.
60. Kurska W., Jamiołkowska A., Wyrstek J., Kowalski R. (2022.) Antifungal Effect of Plant Extracts on the Growth of the Cereal Pathogen *Fusarium* spp.—An *In Vitro* Study. *Agronomy*; 12(12):3204. <https://doi.org/10.3390/agronomy12123204>. (pristupljeno 06. lipnja 2023.)

61. Kwang S., Sam-Keun L., Byeong- Jin C. (2007). Antifungal Activity of Plumbagin Purified from Leaves of *Nepenthes ventricosa* x *maxima* against Phytopathogenic Fungi. *The Plant Pathology Journal*. 23 (2), 113-115. doi: 10.5423/PPJ.2007.23.2.113.
62. Kyu N., Kyu W., Jitareerat P., Kanlayanarat S., Sangchote S. (2007). Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit, *Postharvest Biology and Technology*, 45(3) 333-340. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.020> (pristupljeno 14. ožujka 2023)
63. La Torre A., Iovino V., Caradonia F. (2018). Copper in plant protection: current situation and prospects. *Phytopathol. Mediterr*, 5 (2) 201-236. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-23407 (pristupljeno 14. ožujka 2023).
64. Lawless J. (1995). *The Illustrated Encyclopedia of Essential Oils*. Shaftesbury, UK. Element Books Ltd.
65. Lázaro E., Makowski D. i Vicent A. (2021). Decision support systems halve fungicide use compared to calendar-based strategies without increasing disease risk. *Commun Earth Environ* 2, 224 <https://doi.org/10.1038/s43247-021-00291-8> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
66. Lemanceau P. i Alabouvette C. (1993). Suppression of fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: Mechanisms and applications, *Biocontrol Science and Technology*, 3:3, 219-234, doi: 10.1080/09583159309355278.
67. Leslie J.F., Summerell B.A. (2006): *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, Blackwell Publishing Professional. doi: 10.1002/9780470278376.
68. Loi M., Paciolla C., Logrieco A., Mule G., (2020). Plant bioactive compounds in pre- and post- harvest management for aflatoxins reduction. *Front Microbiol* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00243> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
69. Ma L., Geiser D.M., Proctor H.R., Rooney A.P., O'Donnell K., Trail F., Gardiner D.M, Manners J.M. (2013.) *Fusarium Pathogenomics Review of Microbiology* 67:1, 399-416. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-micro-092412-155650> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
70. Ma Z. i Michailides T. J. (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi, *Crop Protection*, 24 (10),853-863. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219405000396?via%3Dihub> (pristupljeno 05. svibnja 2023.)
71. Magro A., Carolino M., Bastos M., Mexia A. (2006). Efficacy of plant extracts against stored products fungi, *Revista Iberoamericana de Micología*, 23 (3) 176-178. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(06\)70039-0](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(06)70039-0) (pristupljeno 16. svibnja 2023.).
72. Martinko, K. (2022). Baktericidni i fungicidni učinak fenilboronske kiseline na patogene u uzgoju rajčice (Disertacija). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:533644> (pristupljeno 06. lipnja 2023.)
73. Martins P.M.M., Merfa M.V., Takita M.A, De Souza A.A. (2018). Persistence in Phytopathogenic Bacteria: Do We Know Enough? *Front Microbiol*. 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01099.

74. Mathew F., Kirkeide B., Gulya T., Markell, S. (2010). First Report of Pathogenicity of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium acuminatum* on Sunflowers in the United States. *Plant Health Progress*. 11. [file:///C:/Users/38595/Downloads/FirstreportofFusariumsppsonsunflowerintheUnitedStates%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/38595/Downloads/FirstreportofFusariumsppsonsunflowerintheUnitedStates%20(1).pdf) (pristupljeno 16. lipnja 2023.)
75. Miličević T. (2020). Biofungicidi i mogućnosti njihove primjene u suzbijanju fitopatogenih gljiva i pseudogljiva. *Glasnik Zaštite Bilja*. 43(4): 72-75. <https://doi.org/10.31727/gzb.43.4.9>. (pristupljeno 27. veljače 2023)
76. Miličević T. i Kaliterna J. (2014). Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja. *Glasilo biljne zaštite*, 14 (5), 410-415. <https://hrcak.srce.hr/169296> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
77. Mishra A.K. i Dubey N.K. (1994). Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1101-1105. doi: 10.1128/aem.60.4.1101-1105.1994.
78. Morrissey J. P., i Osbourn A. E. (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiology and molecular biology reviews* 63(3), 708–724. <https://doi.org/10.1128/MMBR.63.3.708-724.1999> (pristupljeno 11. ožujka 2023.)
79. Moya-Elizondo E. A., Arismendi N., Montalva C. i Doussoulin H. (2013.) First Report of *Fusarium sporotrichioides* Causing Foliar Spots on Forage Corn in Chile. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1120-PDN> (pristupljeno 15. svibnja 2023.).
80. Mvuemba H.N., Green S.E., Tsopmo A., Avis T.J. (2009). Antimicrobial efficacy of cinnamon, ginger, horseradish and nutmeg extracts against spoilage pathogens. *Phytoprotection*. 90 (2), 65–70. <https://www.erudit.org/en/journals/phyto/2009-v90-n2-phyto3877/044024ar/> (pristupljeno 14. lipnja 2023.).
81. Negi P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability and safety issues for food application. *International journal of food microbiology*, 156(1), 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006> (pristupljeno 11. ožujka 2023.)
82. Novrianti V., Harahap I., Elsie E. (2019). Antifungal Activity Test of Cinnamon Extract (*Cinnamomun burmani*) on Growth of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* 3(2) 106-112. doi:10.24036/0201932104918-0-00.
83. Osborne L. E. i Stein J. M. (2007). Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals, *International Journal of Food Microbiology*, 119, 103-108, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.032> (pristupljeno 11. svibnja 2023.)
84. Pandey, S., Pandey, D.R., & Singh, R. (2014). Phytochemical Screening of Selected Medicinal Plant Cinnamon Zeylanicum bark extract , Area of research ; Uttarakhand , India. 4 (6), <https://www.ijsrp.org/research-paper-0614/ijsrp-p3067.pdf> (pristupljeno 25. ožujka 2023.)
85. Parađiković N., Ćosić J., Baličević R., Vinković T., Vrandečić K., Ravlić M., (2012). 'Utjecaj kemijskih i bioloških mjera na rast i razvoj presadnica paprike i suzbijanje fitopatogenih gljiva *Pythium ultimum* i *Rhizoctonia solani*', *Glasnik Zaštite Bilja*, 35(3), 50-56 <https://hrcak.srce.hr/163062>. (pristupljeno: 11. svibnja 2023.)

86. Parisa N., Islami R., Amalia E., Mariana M., Rasyid R. (2019). Antibacterial Activity of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* In Vitro. *BioScientia Medicina*. 3. 19. doi: 10.32539/bsm.v3i2.85.
87. Pokrzywa P., Cieřlik E., Surma M. (2019). Effect of storage conditions on the formation of type A and B trichothecenes in cereal products. *Ann Agric Environ Med*. 260–265. doi: 10.26444/aaem/103398.
88. Polavarapu S. (2000). Evaluation of phytotoxicity of diazinon and captan formulations on highbush blueberries. *Horttechnology* 10, 308–315. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.10.2.308> (pristupljeno 06. lipnja 2023.).
89. Prakash B., Kumar A., Singh P.P., Songachan I.S. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of phytochemical: current status and future perspective. *Functional and Preservative Properties of Phytochemical*, Elsevier, 1-45. doi:10.1016/B978-0-12-818593-3.00001-4.
90. Prasad B.K., Sahoo D.R., Manoj Kumar, Naresh Narayan (2000). Decay of chilli fruits in India during storage. *Indian Phythopathology*. 53 (1). 42-44. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20001006416> (pristupljeno 25. veljače 2023.)
91. Qadoos M., Kahn M.I., Suleman M., Khan H., Aqeel M. i Rafiq M. (2016). Comparison of poison food technique and drench method for In Vitro control of *Alternaria* sp., the cause of leaf spot of bitter gourd. *Journal of Agricultural Science and Soil Sciences*, 4(9) str. 126-130. <https://meritresearchjournals.org/asss/Content/2016/September/Qadoos%20et%20al.pdf> (pristupljeno 23. veljače 2023.)
92. Rachitha P., Krupashree K., Jayashree G.V., Gopalan N., Khanum F. (2017.) Growth Inhibition and Morphological Alteration of *Fusarium sporotrichioides* by *Mentha piperita* Essential Oil. *Pharmacognosy Res*. Jan-Mar;9(1):74-79. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.199771> (pristupljeno 27.veljače 2023)
93. Ranasinghe L., Jayawardena B., Abeywickrama K., (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana, *Letters in Applied Microbiology*, 35 (3), 208–211. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01165.x> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
94. Rashmi M., Kushveer J. S., Sarma V. V. (2019). A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity, *Mycosphere* 10(1): 798–1079. https://www.mycosphere.org/pdf/MYCOSPHERE_10_1_19.pdf (pristupljeno 02. lipnja 2023.)
95. Ravindra P.N., Nirmal-Babu K. i Shylaja, M. (2003). *Cinnamon and Cassia: The Genus Cinnamomum* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/> (pristupljeno 21. ožujka 2023).
96. Reynolds, J.E.F. (1996.) *Martindale – the Extra Pharmacopoeia* 31st edn. London: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.

97. Rostagno, Mauricio A., Prado, Juliana M., (2013). Natural Product Extraction: Principles and applications. RSC Green Chemistry. 21, 89–112. doi:10.1039/9781849737579-00089.
98. Samson R.A, Hoekstra E.S, van Oorschot C.A.N. (1981). Introduction to Food-borne Fungi. Utrecht, Centraalbureau voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands, Academy of Arts and Sciences.
99. Savita i Sharma A., (2019). Fungi as Biological Control Agents. In: Giri, B., Prasad, R., Wu, QS., Varma, A. (eds) Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment . Soil Biology, 55. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18933-4_18 (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
100. Schneider C., Rasband W, Eliceiri K. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods 2012, 9, 671–675. doi: 10.1038/nmeth.2089.
101. Senaratne R., Pathirana R. (2020). (Eds.). *Cinnamon*. doi:10.1007/978-3-030-54426-3 10.1007/978-3-030-54426-3.
102. Sethi, K. S., Mamajiwala, A., Mahale, S., Raut, C. P., & Karde, P. (2019). Comparative evaluation of the chlorhexidine and cinnamon extract as ultrasonic coolant for reduction of bacterial load in dental aerosols. Journal of Indian Society of Periodontology, 23(3), 226–233. https://doi.org/10.4103/jisp.iisp_517_18. (pristupljeno 14. lipnja 2023.)
103. Shan B., Cai Y.Z., Sun M., Corke H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J. Agric. Food Chem 53(20):7749–7759.
104. Shekhawat K, Fröhlich K, García-Ramírez GX, Trapp MA, Hirt H. Ethylene (2023). A Master Regulator of Plant–Microbe Interactions under Abiotic Stresses. Cells.; 12(1):31. <https://doi.org/10.3390/cells12010031> (pristupljeno 12. lipnja 2023.)
105. Shobana S., Naidu K.A. (2000). Antioxidant activity of selected Indian spices. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 62(2):107–110. <https://doi.org/10.1054/plef.1999.0128> (pristupljeno 13. lipnja 2023).
106. Singh J., Bhatnagar S. K., Tomar A. (2019). Study on fungicidal effect of plant extracts on plant pathogenic fungi and the economy of extract preparation and efficacy in comparison to synthetic/chemical fungicides 11 (2) <https://doi.org/10.31018/jans.v11i2.2053> (pristupljeno 12. lipnja 2023.)
107. Siripornvisal S. (2010). Antifungal activity of Ajowan oil against *Fusarium oxysporum*. KMITL Sci. Technol. J., 10, 45–51. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/KLST/10764829.pdf> (pristupljeno 06. lipnja 2023.)
108. Somma S., Scarpino V., Quaranta F., Logrieco A. F., Reyneri A., Blandino M., Moretti A. (2022). Impact of fungicide application to control T-2 and HT-2 toxin contamination and related *Fusarium sporotrichioides* and *F. langsethiae* producing species in durum wheat, Crop Protection. 159, 0261-2194. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106020> (pristupljeno 06. lipnja 2023.)
109. Sorensen, J. L., Nielsen, K. F., & Sondergaard, T. E. (2012). Redirection of pigment biosynthesis to isocoumarins in *Fusarium*. Fungal Genetics and Biology, 49(8), 613–618. doi:10.1016/j.fgb.2012.06.004

110. Spolti P., Del Ponte E.M., Dong Y., Cummings J. A., Bergstrom G. C. (2014). Triazole Sensitivity in a Contemporary Population of *Fusarium graminearum* from New York Wheat and Competitiveness of a Tebuconazole-Resistant Isolate. *Plant disease*, 98(5), 607–613. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1051-RE> (pristupljeno 05. svibnja 2023.)
111. Teotor-Barsch G.H., Roberts D.W. (1983). Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia* 84, 3–16. <https://doi.org/10.1007/BF00436991> (pristupljeno 15. travnja 2023.).
112. Thomas J., Kuruvilla K.M., Peter K.V. (2012). In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Handbook of Herbs and Spices (Second Edition), Woodhead Publishing, 182-196. <https://doi.org/10.1533/9780857095671.182>. (pristupljeno 25. veljače 2023.)
113. Thrane U., Adler A., Clasen P.E. i sur., (2004.) Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. *Int J Food Microbiol* 95:257–266. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.005> (pristupljeno 25. ožujka 2023.)
114. Tiwari B. K., (2015) Ultrasound: A clean, green extraction technology, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 71: 100-109. <https://doi.org/10.1016> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
115. Tukey J.W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics* 5(2):99–114. <http://webspace.ship.edu/pgmarr/Geo441/Readings/Tukey%201949%20-%20Comparing%20Individual%20Means%20in%20the%20Analysis%20of%20Variance.pdf> (pristupljeno 25. ožujka 2023.)
116. Tzortzakis N.G. (2009). Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *J. Innov Food Sci. Emerg Technol* 10:97–102. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.09.002> (pristupljeno 13. lipnja 2023.)
117. Wang P., Ma L., Jin J., Zheng M., Pan L., Zhao Y., Sun X., Liu Y., Xing F. (2019). The anti-afatoxic mechanism of cinnamaldehyde in *Aspergillus favus*. *Sci. Rep.* 9:10499. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47003-z> (pristupljeno 13. lipnja 2023.)
118. Warriar P. K., Nambiar V. P. K. i Ramankutty C. (1994). “Indian Medicinal Plants. A Compendium of 500 Species,” Orient Longman Pvt. Ltd., Madras. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1994.tb05722.x> (pristupljeno 11. travnja 2023.)
119. Wen C., Zhang J., Zhang H., Sedem Dzah C., Zandile M., Duan Y., Ma H., Luo X., (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, , 538-549, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.07.018> (pristupljeno 11. svibnja 2023.)
120. Westphal, K., Wollenberg, R., Herbst, F.-A., Sørensen, J., Sondergaard, T., & Wimmer, R. (2018). Enhancing the Production of the Fungal Pigment Aurofusarin in *Fusarium graminearum*. *Toxins*, 10(11), 485. doi:10.3390/toxins10110485
121. Wijesekera R.O. B. (1978). Historical overview of the cinnamon industry. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 10(1), 1-30 doi: 10.1080/10408397809527243.
122. Wilson C.L., Solar J.M., Ghaouth A.E., Wisniewski M.E., (1997) Rapid evaluation of plant extracts And essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant*. doi: 10.1094/PDIS.1997.81.2.204.

123. Winding A., Binnerup S. i Pritchard H., (2004). Non-target effects of bacterial biological control agents suppressing root pathogenic fungi, *FEMS Microbiology Ecology*, 47(2) 129–141, [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00261-7](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00261-7) (pristupljeno 23. svibnja 2023.)
124. Wiśniewska H., Basiński T., Chełkowski J., Perkowsk J., (2011). *Fusarium sporotrichioides* Sherb. toxins evaluated in cereal grain with *Trichoderma harzianum* 51 (2) <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0023-y> (pristupljeno 10. svibnja 2023.)
125. Wollenweber, H.W., i Reinking, O.A. (1935.). Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung (Verlag Paul Parey, Berlin, Germany).
126. Xia B., Liang Y., Zhong Hu J., Ling Yan X., Qing Yin L., Chen Y., Yang Hu J., Zhang D. W. i Hua Wu Y., (2021) First Report of Sea Buckthorn Stem Wilt Caused by *Fusarium sporotrichioides* in Gansu, China 105 (12). <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0627-PDN> (pristupljeno 6. lipnja 2023.)
127. Xing, F., Hua, H., Selvaraj, J. N., Yuan, Y., Zhao, Y., Zhou, L., & Liu, Y. (2014). Degradation of fumonisin B1 by cinnamon essential oil. *Food Control*, 38, 37–40. doi:10.1016/j.foodcont.2013.09.04
128. Zemánková i Lebeda (2001). *Fusarium* species, their taxonomy, variability and significance in plant pathology, *Plant Protect Sci* 37 (25-42). <https://www.agriculturejournals.cz/pdfs/pps/2001/01/05.pdf> (pristupljeno 05. svibnja 2023.).
129. Zhonghua Ma, Themis J. Michailides (2005). Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi, *Crop Protection*, 24 (10) 853-863. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301022353> (pristupljeno 06. lipnja 2023.)

8. Prilog – popis kratica i simbola

%	<i>percentage</i> , postotak
°C	degree Celsius, stupnjeva celzijevih
μl	<i>microliter</i> , mikrolitar
μm	<i>micrometer</i> , mikrometar
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> , analiza varijance
cm	<i>centimeter</i> , centimetar
cm ²	<i>square centimeter</i> , kvadratni centimetar
DAS	<i>diacetoxycyprpenol</i> , diacetoksicirpenol
F.s.	<i>Fusarium sporotrichioides</i>
FIS	<i>phytosanitary information system</i> , fitosanitarni informacijski sustav
FRAC	<i>Fungicide resistance action committee</i> , Globalni odbor za djelovanje otpornosti na fungicide
g	<i>gram</i> , gram
MEA	<i>Malt extract agar</i>
mg	<i>miligram</i> , miligram
ml	<i>milliliter</i> , mililitar
mm	<i>milimeter</i> , milimetar
NEO	<i>neosolaniol</i> , neosolaniol
∅	<i>diameter</i> , promjer
p	<i>p value (probability)</i> , vrijednost p (vjerojatnost)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> , lančana reakcija polimeraze
PDA	<i>Potato dextrose agar</i> , krumpir dekstrozni agar
sp.	<i>Species</i> , vrsta
V	<i>volt</i> , volt
W	<i>watt</i> , vat

Životopis

Eni Mioč rođena je 28. svibnja 2001. godine u Livnu. Srednju školu, Opću Gimnaziju, završava također u Livnu te upisuje preddiplomski studij (BS) Fitomedicina 2020. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu obavlja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu na Zavodu za fitopatologiju stjecanjem vještina i znanja u laboratoriju, gdje kroz rad razvija poseban interes za fitopatološka istraživanja u uvjetima in vitro. Koristi se engleskim (razumijevanje: stupanj C1, govor: stupanj C1, pisanje: stupanj C1) i njemačkim jezikom (razumijevanje: stupanj A2, govor: stupanj A2, pisanje: stupanj A2). Tijekom školovanja, bavi se raznim sportovima (individualni i timski) i volonterskim radovima, uz sudjelovanje na sportskim natjecanjima s osvojenim medaljama.