

***In vitro* efekti etarskih ulja iz začinskih i lekovitih biljaka na patogene koji se prenose zemljištem**

Brankica Tanović¹, Svetlana Milijašević¹, Aleksa Obradović², Biljana Todorović¹, Emil Rekanović¹ i Sanja Milikić¹

¹Institut «Srbija», Centar za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd - Zemun i

²Poljoprivredni fakultet, Beograd - Zemun

REZIME

Prikazani su rezultati *in vitro* testiranja efekata etarskih ulja nane (*Menta piperita* L.), bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), ruzmarina (*Rusmarinus officinalis* L.), timijana (*Thymus vulgaris* L.) i čajnog drveta (*Melaleuca alternifolia* (Maid. and Bet.) Cheel) na biljne patogene koji se prenose zemljištem; *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, *Verticillium* sp. i *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Izolati su izlagani dejstvu para proučavanih ulja tokom sedam dana, a po završetku ekspozicije kutije su provetravane strujanjem vazduha u laminarnoj komori. Ocenjivan je efekat potpune inhibicije - fungistatičnost/bakteriostatičnost (izolat posle uklanjanja etarskog ulja provetravanjem nastavlja da raste) i fungicidnost/baktericidnost (ulje deluje letalno tako da nema porasta izolata posle provetravanja). Sva proučavana etarska ulja u koncentracijama 0.04-0.65 µl/ml vazduha delimično ili potpuno inhibiraju porast proučavanih mikroorganizama. Ulja timijana i bosiljka ispoljila su najveću toksičnost za sve proučavane patogene sa vrednostima minimalne letalne koncentracije između 0.04 i 0.65 µl/ml vazduha, zavisno od patogena. Najslabiji efekat pokazalo je ulje ruzmarina - minimalna letalna koncentracija za *C. m. ssp. michiganensis* iznosila je 0.32 µl/ml vazduha, za *Verticillium* sp. *Pythium* sp. i *Rhizoctonia* sp. 0.65 µl/ml vazduha, a za vrste roda *Fusarium* više od 0.65 µl/ml vazduha. Rezultati *in vitro* oglada ukazuju na mogućnost korišćenja ulja timijana i bosiljka u suzbijanju patogena koji se prenose zemljištem.

Ključne reči: Etarska ulja; nana; bosiljak; ruzmarin; timijan; čajno drvo; antimikrobna aktivnost; patogeni koji se prenose zemljištem

UVOD

Biljni patogeni koji se prenose zemljištem najefikasnije se suzbijaju primenom fumiganata širokog spektra delovanja (Noling i Becker, 1994). Od pedesetih godina 20. veka, za dezinfekciju zemljišta za male useve uglavnom se koristi metil-bromid. Zbog visoke cene registracije i malih površina pod ovim usevima, alternativnih pesticida skoro da nema (Webster i sar., 2001). Ipak, zahvaljujući visokoj efikasnosti, širokom spektru delovanja i niskoj ceni, primena metil-bromida bila je zadovoljavajuće rešenje dugi niz godina. Međutim, ovaj fumigant ozbiljno oštećuje ozonski omotač, tako da će biti potpuno povučen iz upotrebe do 2015. godine (Bell, 2000). S druge strane, bez odgovarajuće fumigacije patogeni koji se prenose zemljištem mogu uvećati gubitke prinosa do nepredvidivih razmera (Gilreath i sar., 2004). Zbog toga je potreba za alternativnim načinima suzbijanja sasvim razumljiva i opravdana. Primena supstanci prirodnog porekla mogla bi da bude prihvatljivo rešenje, bezbedno kako za potrošače, tako i za životnu sredinu (Daferera i sar., 2003).

Ustanovljeno je da etarska ulja iz mnogih lekovitih i začinskih biljaka poseduju insekticidna i antimikrobna svojstva (Montes-Belmont i Carvajal, 1998; Daferera i sar., 2003). Više od 1.340 biljnih vrsta poznate su kao mogući izvori antifungalnih jedinjenja, ali je samo mali broj detaljno proučavan (Velluti i sar., 2003). Ispitivanja su pokazala da pare etarskih ulja origana, timijana, majorana, lavande, ruzmarina, žalfije i nane inhibiraju porast fitopatogenih mikroorganizama; *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp., *Pythium* sp. i *Clavibacter michiganensis* (Daferera i sar., 2003; Tanović i sar., 2004a i b). Takođe, pokazano je i antifungalno delovanje ulja cimeta, karanfilića i origana na fitopatogenu vrstu *Fusarium proliferatum* (Velluti i sar., 2003). Kao efikasni fumiganti, pokazala su se i ulja kima, anisa i eukaliptusa (Isman, 2000).

Etarsko ulje čajnog drveta široko se primenjuje u humanoj medicini i kozmetici kao antiseptik (Hammer i sar., 2000; Hammer i sar., 2003; Carson i sar., 2003). Pod nazivom čajno drvo, podrazumevaju se vrste rodova *Leptospermum* i *Melaleuca*, od kojih ovaj drugi obuhvata oko 200 vrsta familije *Myrtaceae*. Najčešće korišćena i ekonomski najznačajnija je *Melaleuca alternifolia* (Maid. and Bet.) Cheel,

australijsko čajno drvo (Southwell i sar., 2003). Antimikrobna aktivnost etarskog ulja dobijenog iz ove vrste, kao i toksičnost pojedinih komponenata, dosta je proučavana (Carson i Riley, 1995). Međutim, toksični efekti ovog ulja na biljne patogene uglavnom nisu poznati.

Cilj ovog rada bio je da se prouče efekti etarskih ulja čajnog drveta i nekih drugih lekovitih i začinskih biljaka na biljne patogene koji se prenose zemljištem; *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. o. f. sp. pisi*, *Verticillium* sp. i *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.

MATERIJAL I METODE

Testirana ulja

Testirani su efekti etarskih ulja nane (*Mentha piperita* L.), bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), ruzmarina (*Rusmarinus officinalis* L.), timijana (*Thymus vulgaris* L.) i čajnog drveta (*Melaleuca alternifolia*), koja je obezbedila firma BeoLab, Beograd.

Test-organizmi

Izolati *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* i *F. o. f. sp. pisi* dobijeni su iz kolekcije fitopatogenih gljiva Centra za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci. Izolati *Pythium* sp. poreklom su iz zemljišta na kom je gajen krastavac u stakleniku, *Verticillium* sp. je izolovan iz korena paprike, *Rhizoctonia* sp. iz krtole krompira i *C. m.* subsp. *michiganensis* iz paradajza. Izolati gljiva održavani su na krompir-dekstroznom agaru (KDA), dok je izolat bakterije čuvan na mesopeptonskoj podlozi (MPA) pri temperaturi od 4 do 8°C.

Priprema inokuluma

Kao izvor inokuluma korišćeni su fragmenti micelije *Pythium* sp. i *Rhizoctonia* sp. (prečnika 10 mm), uzeti sa ivice kulture gajene na KDA tokom 24-48 sati, dok su od kultura *F. o. f. sp. lycopersici*, *F. o. f. sp. pisi* i *Verticillium* sp. pripremane suspenzije konidija koncentracije oko 10^8 ćel/ml. Za pripremu suspenzija, izolati su gajeni na KDA podlozi tokom 10-15 dana, a potom je u Petri-kutije sa odgajenom kulturom dodavano po 10 ml sterilne destilovane vode i po jedna kap Tween-a 20. Micelija i konidije patogena sastrugane su sa podloge sterilnom ko-

pljastom iglom, a dobijene suspenzije pre upotrebe filtrirane kroz dvostruku gazu. Bakterijske kulture za pripremu suspenzije gajene su 24 sata na MPA podlozi pri temperaturi od 26°C, i potom suspendovane dodavanjem 10 ml sterilne destilovane vode. Koncentracija bakterijske suspenzije podešena je na 10³ ćel/ml, metodom brojanja kolonija.

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti

Antifungalna aktivnost proučavana je na KDA podlozi u staklenim Petri-kutijama (R=90 mm). Podloge su zasejavane ispitivanim izolatima patogena postavljanjem isečaka micelije (10 mm) na centralni deo Petri-kutije ili pipetiranjem 20 µl suspenzije konidija u „bunarčiče” (R=10 mm) u KDA podlozi. Za proučavanje antibakterijske aktivnosti ulja, 100 µl suspenzije bakterija ravnomerno je zasejano na površinu MPA podloge.

Svi patogeni su izlagani dejstvu para etarskih ulja dodatih u koncentracijama: 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.65 µl/ml, na unutrašnju stranu poklopca Petri-kutije na koji je, zatim, postavljan njen donji deo sa zasejanom podlogom. Kutije su ponaosob umotavane u samolepljivu foliju i postavljane u obrnuti položaj kako bi se sprečio gubitak pare. Izlaganje dejstvu para proučavanih ulja trajalo je sedam dana, pri temperaturi od 22°C. Kao kontrola, korišćene su kulture testiranih mikroorganizama gajene u identičnim uslovima ali bez tretmana etarskim uljem.

Inhibicija porasta testiranih mikroorganizama ocenjivana je dva puta; četiri dana (ili 24 sata za *Pythium* sp.) i sedam dana nakon tretmana. Za prvu ocenu antimikrobne aktivnosti meren je radijalni porast micelije gljiva, ili su brojane kolonije bakterije i izračunavana je inhibicija porasta u odnosu na kontrolu. Za drugu ocenu, sedam dana nakon tretmana, posmatran je samo inicijalni porast micelije gljiva bez merenja prečnika (raste/ne raste), odnosno formiranje kolonija bakterije (ima kolonija/nema kolonija). Efekat koncentracija ulja koje su potpuno zaustavile porast mikroorganizama nakon izlaganja dejstvu para ulja u trajanju od sedam dana, pri temperaturi od 22°C, označen je kao fungistatičan/bakteriostatičan, a najniže koncentracije sa ovim efektom definisane su kao minimalne inhibitorne koncentracije (MIK).

Nakon druge ocene, Petri-kutije u kojima je porast izolata bio potpuno zaustavljen, otvarane su i

provetravane pri struji vazduha u laminarnoj komori u trajanju od 30 minuta, radi uklanjanja gasovite faza ulja i određivanja letalnog (fungicidnog/baktericidnog) efekta. Smatrano je da određena koncentracija ulja ispoljava letalan efekat ako sedam dana posle provetravanja nije zabeležen inicijalni porast izolata. Najniža koncentracija sa ovim efektom definisana je kao minimalna letalna koncentracija (MLC). Ogled je izveden dva puta sa četiri ponavljanja po tretmanu.

REZULTATI

Antimikrobna aktivnost

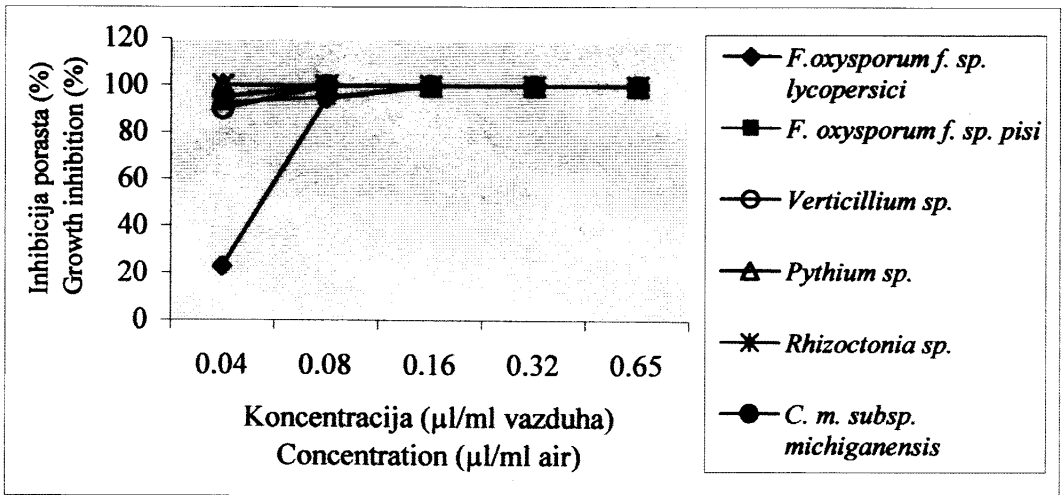
Sva proučavana etarska ulja svojim parama delimično ili potpuno inhibiraju porast proučavanih mikroorganizama (Slike 1-5). Nakon ekspozicije od četiri dana, ulja timijana i bosiljka, primenjena u koncentraciji od 0.16 µl/ml vazduha, potpuno zaustavljaju porast svih proučavanih izolata (Slike 1 i 2).

U odnosu na kontrolu, najslabije inhibitorno dejstvo ispoljilo je ulje ruzmarina. Za potpuno zaustavljanje porasta izolata *Fusarium* vrsta ovim uljem nije bila dovoljna ni koncentracija od 0.65 µl/ml vazduha. Pri koncentraciji od 0.16 µl/ml vazduha ulje ruzmarina inhibira porast proučavanih izolata od 16.5 % do 100 %, zavisno od patogena (Slika 3). Ulja čajnog drveta i nane ispoljavaju zadovoljavajući efekat na porast izolata *Pythium* sp. i *Rhizoctonia* sp. (Slike 4 i 5).

Najosetljiviji na delovanje etarskih ulja bio je izolat *Pythium* sp. - sva testirana ulja potpuno inhibiraju porast micelije ako se primene u koncentraciji od 0.08 µl/ml vazduha. Izolati *Fusarium* vrsta, međutim, ispoljili su znatno manju osetljivost (Slike 1-5).

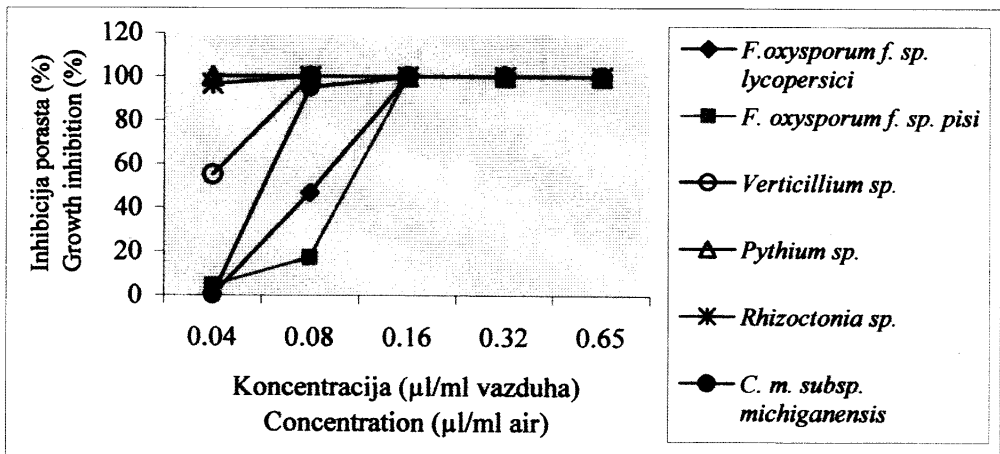
Toksičnost etarskih ulja

Toksičnost etarskih ulja za patogene koji se prenose zemljištem ocenjivana je na osnovu minimalne inhibitorne i minimalne letalne koncentracije. Rezultati dobijeni nakon izlaganja patogena dejstvu ulja tokom sedam dana, potvrdili su razlike u toksičnosti pojedinih vrsta ulja. Dobijene vrednosti MIC i MLC iznosile su od 0.04 do preko



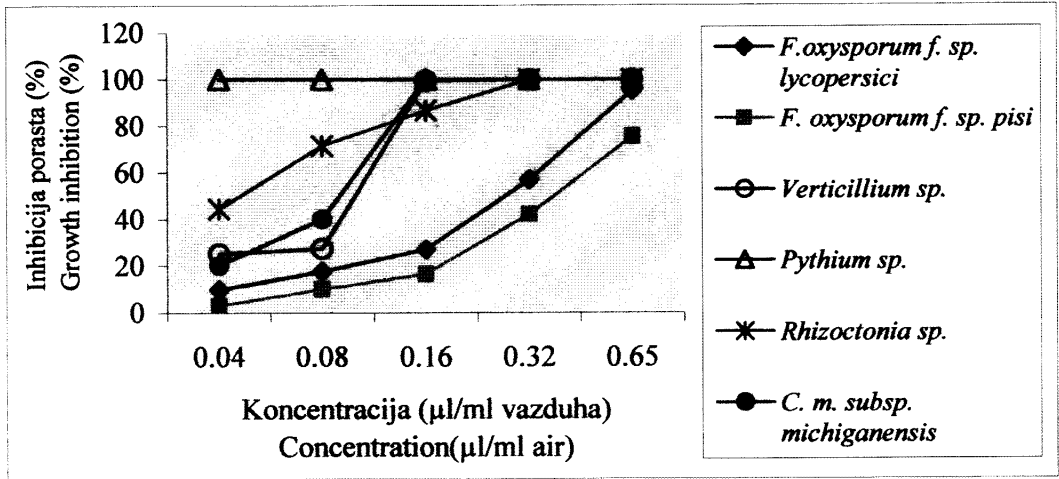
Sl. 1. *In vitro* efekat gasovite faze etarskog ulja timijana na porast patogena koji se prenose zemljištem nakon ekspozicije od četiri dana (24 časa za *Pythium* sp.)

Fig.1. *In vitro* effect of volatile phase of thyme essential oil on the growth of soil borne pathogens after four-day exposure (24 hours for *Pythium* sp.)



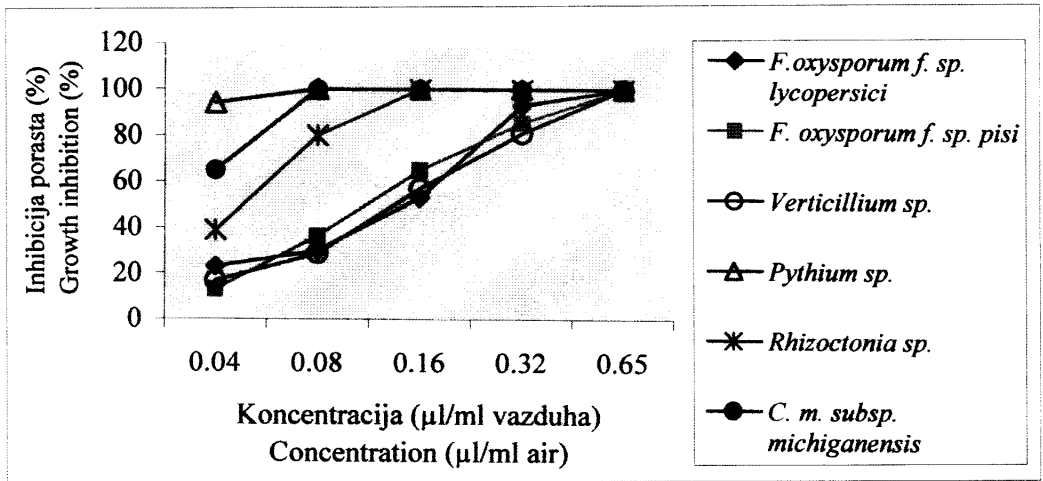
Sl. 2. *In vitro* efekat gasovite faze etarskog ulja bosiljka na porast patogena koji se prenose zemljištem nakon ekspozicije od četiri dana (24 časa za *Pythium* sp.)

Fig. 2. *In vitro* effect of volatile phase of basil essential oil on the growth of soil borne pathogens after four-day exposure (24 hours for *Pythium* sp.)



Sl. 3. *In vitro* efekat gasovite faze etarskog ulja ruzmarina na porast patogena koji se prenose zemljištem nakon ekspozicije od četiri dana (24 časa za *Pythium sp.*)

Fig. 3. *In vitro* effect of volatile phase of rosemary essential oil on the growth of soil borne pathogens after four-day exposure (24 hours for *Pythium sp.*)



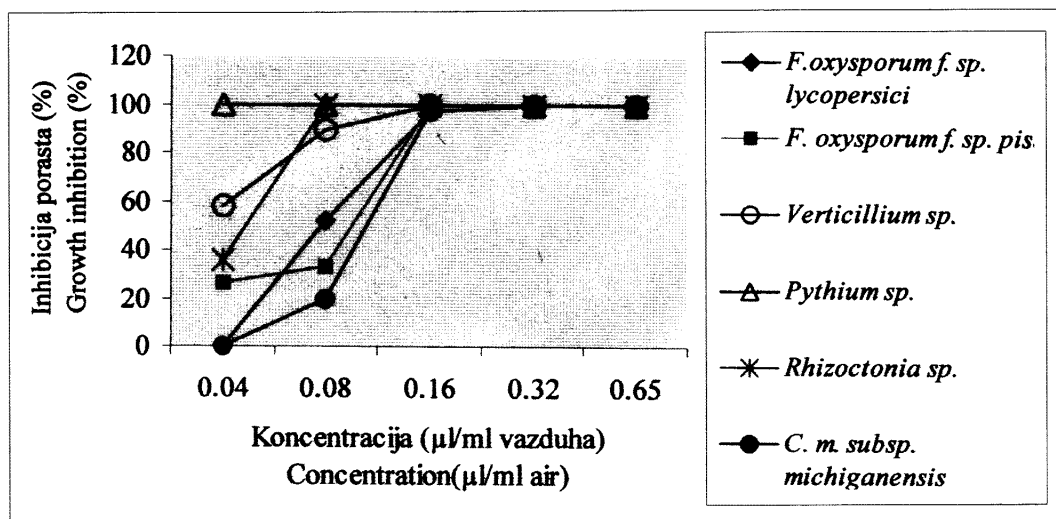
Sl. 4. *In vitro* efekat gasovite faze etarskog ulja čajnog drveta na porast patogena koji se prenose zemljištem nakon ekspozicije od četiri dana (24 časa za *Pythium sp.*)

Fig. 4. *In vitro* effect of volatile phase of tea tree essential oil on the growth of soil borne pathogens after four-day exposure (24 hours for *Pythium sp.*)

0.65 µl/ml vazduha.

Ulja timijana i bosiljka ispoljila su najveću toksičnost za sve proučavane patogene sa vrednostima MLC između 0.04 i 0.65 µl/ml vazduha, dok je ulje ruzmarina i na osnovu ovih parametara pokazalo slab efekat. Izolati *Pythium sp.*, *Rhizoctonia*

sp. i *C. m. subsp. michiganensis* i *Verticillium sp.* bili su osetljiviji na testirana ulja od izolata *Fusarium* vrsta. Ulja nane, ruzmarina i čajnog drveta primenjena u koncentraciji od 0.65 µl/ml vazduha ne deluju letalno na *F. o. f. sp. lycopersici* i *F. o. f. sp. pisi* (Tabela 1).



Sl. 5. *In vitro* efekat gasovite faze etarskog ulja nane na porast patogena koji se prenose zemljištem nakon ekspozicije od četiri dana (24 časa za *Pythium* sp.)

Fig. 5. *In vitro* effect of volatile phase of mint essential oil on the growth of soil borne pathogens after four-day exposure (24 hours for *Pythium* sp.)

Tabela 1. Toksičnost etarskih ulja za biljne patogene koji se prenose zemljištem

Table 1. Toxicity of the essential oils to the investigated soilborne pathogens

Etarsko ulje Essential oil	Efektivne koncentracije etarskih ulja (µl/ml vazduha)/Effective concentrations of the essential oils (µl/ml air)											
	<i>F. oxysporum f.sp. lycopersici</i>		<i>F. oxysporum f.sp. pisi</i>		<i>Verticillium sp.</i>		<i>Pythium sp.</i>		<i>Rhizoctonia sp.</i>		<i>C. m. subsp. michiganensis</i>	
	MIC*	MLC*	MIC	MLC	MIC	MLC	MIC	MLC	MIC	MLC	MIC	MLC
Nana Mint	0.32	>0.65	0.65	>0.65	0.08	0.08	0.04	0.32	0.16	0.16	0.16	0.32
Bosiljak Basil	0.32	0.65	0.32	0.65	0.08	0.08	0.04	0.08	0.08	0.08	0.16	0.32
Ruzmarin Rosemary	>0.65	>0.65	>0.65	>0.65	>0.65	>0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.16	0.32
Timijan Thyme	0.16	0.16	0.16	0.16	0.08	0.16	0.04	0.04	0.08	0.08	0.08	0.08
Čajno drvo Tea tree	>0.65	>0.65	>0.65	>0.65	0.65	0.65	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.32

*Minimalna koncentracija etarskog ulja koja izaziva potpunu inhibiciju porasta proučavnih izolata nakon ekspozicije od sedam dana (minimalna inhibitorna koncentracija)

The minimal concentration of the essential oil causing complete inhibition of the microbial growth after seven-day exposure (Minimum Inhibitory Concentration)

**Minimalna koncentracija koja deluje letalno na proučavane mikroorganizme (minimalna letalna koncentracija)

The minimal concentration of the oil showing lethal effect on the pathogen (Minimum Lethal Concentration)

DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja pokazuju da etarska ulja lekovitih i začinskih biljaka inhibiraju porast *F. oxysporum*, *Pythium* sp., *Verticillium* sp., *Rhizoctonia* sp. i *C. m.* subsp. *michiganensis*. Ulja timijana i bosiljka ispoljavaju veću toksičnost i imaju širi spektar delovanja od ostalih testiranih ulja. Takođe, ova ulja su bila toksična za obe *formae speciales* vrste *F. oxysporum*, na koju ostala ulja ne ispoljavaju zadovoljavajući efekat. Rezultati potvrđuju navode Bowers-a i Locke-a (2000) koji su eksperimentalno dokazali sličnu reakciju na toksikante različitih *formae speciales* vrste *F. oxysporum*.

Antimikrobna aktivnost etarskih ulja timijana, bosiljka i čajnog drveta odavno je poznata (Reuveni i sar., 1984; Sinha i sar., 1993; Montes-Belmont i Carvajal, 1998). Byron i Hall (2002) su objavili podatke o letalnom efektu nekih etarskih ulja na fitopatogene gljive, dok su mogućnost upotrebe ulja u zaštiti bilja proučavali Chatterjee (1990), Bowers i Locke (2000) i Pradhanang i saradnici (2003).

Rezultati *in vitro* ogleda ukazuju na mogućnost korišćenja ulja timijana i bosiljka u suzbijanju patogena koji se prenose zemljištem. Međutim, za konačan zaključak o mogućnostima praktične primene ovih ulja, neophodna su dalja istraživanja. Kao izvor inokuluma u ovom radu korišćene su čiste kulture patogena u vidu mlade micelije ili konidija koje su, po pravilu, osetljivije na nepovoljne uticaje sredine od tvorevina za održavanje i prezimljavanje patogena. Osim proučavanja osetljivosti ovih tvorevina *in vitro*, potrebno je ispitati i efikasnost suzbijanja patogena u supstratu, u kome je on obično zaštićen biljnim ostacima. Takođe, ne bi trebalo zanemariti ni isplativost upotrebe etarskih ulja za sterilizaciju supstrata. Međutim, rezultati ovih istraživanja pokazuju da je potrebno nastaviti proučavanja etarskih ulja kao mogućih izvora antimikrobnih jedinjenja.

LITERATURA

- Bell, C. H.:** Fumigation in the 21st century. *Crop Protection*, 19: 563-569, 2000.
- Bowers, J.H. and Locke, J.C.:** Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in greenhouse. *Plant Disease*, 84: 300-305, 2000.
- Byron, E.M., and Hall, A.M.:** Inhibition of common cereal fungi by clove oil and eucalyptus oil. *Proceedings of the BCPC Conference – Pests & Diseases*, Brighton, UK, 765-768, 2002.
- Carson, C.F. and Riley, T.V.:** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Bacteriol.*, 78: 264-269, 1995.
- Carson, C.F., Mee, B.J., and Riley, T.V.:** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46: 1914-1920, 2003.
- Chatteerjee, D.:** Inhibition of fungal growth and infection in maize grains by spice oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 11: 148-151, 1990.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N. and Polissiou, M.G.:** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44, 2003.
- Gilreath, J.P., Noling, J.W. and Santos, B.M.:** Methyl bromide alternatives for bell pepper (*Capsicum annum*) and cucumber (*Cucumis sativus*) rotations. *Crop Protection*, 23: 347-351, 2004.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., and Riley, T.V.:** *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. *Medical Mycology*, 38: 354-361, 2000.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., and Riley, T.V.:** *In vitro* activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. *J. Antimicrob. Chemother.*, 50: 195-199, 2003.
- Montes-Belmont, R. and Carvajal, M.:** Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *J. Food Protect.*, 61: 616-619, 1998.
- Noling, J.W. and Becker, J.O.:** The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. *J. Nematol.*, 26: 573-576, 1994.
- Isman, B.M.:** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19, 603-608, 2000.
- Pradhanang, P.M., Momol, M.T., Olson, S.M., and Jones, J.B.:** Effects of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Disease*, 87: 423-427, 2003.
- Reuveni, R., Fleischer, A. and Putievsky E.:** Fungicidal activity of essential oils from *Ocimum basilicum* chemotypes. *Phytopathol. Zeitschr.*, 110: 20-22, 1984.
- Sinba, K.K., Sinba, A.K. and Prasad, G.:** The effect of clove and cinnamon oils on growth and aflatoxin

production by *Aspergillus flavus*. Lett. Appl. Microbiol., 16: 114-117, 1993.

Southwell, I.A., Hayes, A.J., Markham, J. and Leach, D.N.: The search for optimally bioactive Australian tea tree oil. Acta Horticulturae, 334: 256-265, 2003.

Tanović, B., Obradović, A., Milikić, S. i Rekanović, E.: Toksičnost etarskih ulja za *Botrytis cinerea* Pers. *in vitro*. Zbornik rezimea V kongresa o zaštiti bilja, Zlatibor, 2004a, str. 344.

Tanović, B., Miličević, S., Obradović, A., Milikić, S. i Rekanović, E.: *In vitro* efekat etarskog ulja čajnog drveta

na patogene koji se prenose zemljištem. Zbornik rezimea V kongresa o zaštiti bilja, Zlatibor, 2004b, str. 346.

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Egido, J., and Martin, S.: Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. Intern. J. Food Microbiol., 89: 145-154, 2003.

Webster, T.M., Csinos, A.S., Johnson, A.W., Dowler, C.C., Sumner, D.R. and Fery, R.L.: Methyl bromide alternatives in a bell pepper-squash rotation. Crop Protection, 20: 605-614, 2001

In vitro Effects of Essential Oils From Aromatic and Medicinal Plants on Soil Borne Pathogens

SUMMARY

Mint (*Menta piperita* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.), rosemary (*Rusmarinus officinalis* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and tea tree (*Melaleuca alternifolia* (Maid. and Bet.) Cheel) essential oils were tested for their effectiveness against soil borne pathogens including; *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, *Verticillium* sp. and *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. The isolates were exposed to volatile phase of the oils for seven days. Afterwards, the plates were opened and ventilated in order to remove volatiles and determine if the effect of the oil was fungistatic/bacteriostatic or fungicidal/bactericidal. The concentrations of the oil were considered to be fungicidal/bactericidal if the microbial growth had not been observed seven days after the ventilation. The growth rate of all the tested microorganisms was partially or completely inhibited by the oils applied at concentrations 0.04 – 0.65 µl/ml air. Thyme and basil oils were the most toxic to all the pathogens investigated, having fungicidal/bactericidal effect at 0.04 – 0.65 µl/ml of air, depending of the pathogen. Rosemary oil showed the lowest inhibitory effect - minimal lethal concentrations were 0.32 µl/ml air for *C. m. ssp. michiganensis*, 0.65 µl/ml air for *Verticillium* sp. *Pythium* sp. and *Rhizoctonia* sp., and more than 0.65 µl/ml air for *Fusarium* species, respectively. These results indicate that thyme and basil essential oils could be effectively used for the control of soil borne pathogens.

Key words: Essential oils; Mint; Basil; Rosemary; Thyme; Tea tree; Antimicrobial activity; Soil borne pathogens