

Detekcija virusa rajčice primjenom biotestova

Glogovšek, Tajana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:204:033243>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Tajana Glogovšek

**DETEKCIJA VIROZA RAJČICE
PRIMJENOM BIOTESTOVA**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Fitomedicina

Tajana Glogovšek

**DETEKCIJA VIROZA RAJČICE
PRIMJENOM BIOTESTOVA**

DIPLOMSKI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Edyta Đermić

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____ s ocjenom
_____ pred stručnim povjerenstvom u sastavu :

- Mentor :

izv. prof. dr. sc. Edyta Đermić _____.

- Član povjerenstva :

doc. dr. sc. Božidar Benko _____.

- Član povjerenstva :

izv. prof. dr. sc. Snježana Topolovec-Pintarić _____.

SAŽETAK

Viroze povrtnih kultura relativno su česta pojava, a činjenica je da ih proizvođači uglavnom nisu svjesni jer se njihove simptome povezuje s posljedicama drugih biotičkih i abiotičkih djelovanja. S ciljem pravovremenog poduzimanja mjera za suzbijanje, važno je brzo otkrivanje bolesti te detekcija biljnog patogena. Iako su u virologiji razvijene napredne i precizne laboratorijske dijagnostičke metode, one su često nedostupne u proizvodnjama i postoji potreba za testiranjem biljaka sa simptomima primjenom tradicionalnih metoda uz primjenu osjetljivih zeljastih indikatorskih biljaka. U proizvodnji rajčice važno je moći razlikovati abiotičke od biotičkih djelovanja koji rezultiraju štetnim promjenama na biljkama. Glavni cilj rada je bio u pokusu umjetne zaraze osjetljivih zeljastih biljaka, poznatih domaćina virusa rajčice, provjeriti infektivnost biljnog soka priređenog iz lista uzorkovane rajčice sa simptomima sistemske viroze s lokacije Grubišno Polje. Rad uspoređuje prikladnost primjene korištenih zeljastih test-biljaka za provođenje biotestova s ciljem detekcije viroza rajčice. U biotestu na zeljastim domaćinima iz 7 vrsta/kultivara, uspješnom se u ekspresiji simptoma viroze iz rajčice, uz kljance rajčice cv. 'Rutgers', pokazala i vrsta *Nicotiana tabacum* cv. 'Xanthi'. Kljanci rajčice sorte 'Rutgers' pokazali su se najosjetljivijima na inokulum iz rajčice s virusnim simptomima, te se mogu preporučiti za provedbu biotesta.

Ključne riječi: virusi, fitosanitarni status, sadni materijal, testiranje

ABSTRACT

Detection of tomato viroses through bioassays

Viruses in vegetable crops are relatively common, but the fact is that vegetable growers are generally not aware of them because their symptoms are usually associated with the other biotic and abiotic factors. In order to timely implement control measures, it is important to quickly detect diseases and plant pathogens causing them. Although in virology there are advanced and accurate laboratory diagnostic methods, they are often unavailable in production and there is a need for testing plants with symptoms using the traditional methods, as it is use of sensitive herbaceous indicator plants. In the production of tomatoes it is important to be able to distinguish between abiotic from biotic effects that result in adverse changes in the plants. The main objective of the study was to test the artificial infection of sensitive herbaceous plants, known hosts of tomato viruses, by checking the infectivity of vegetable juice prepared from the tomato leaves with symptoms of systemic viral infections sampled in Grubišno Polje. The work compares the suitability of application in used herbaceous test plants for bioassays in detection of tomato viroses. The bioassay on herbaceous hosts from 7 species/cultivars was performed. In the expression of symptoms of viral infections from tomatoe, successful were *Nicotiana tabacum* cv. 'Xanthi' and tomato cv. 'Rutgers' seedlings. Seedlings of tomato proved to be most sensitive to an inoculum from tomatoes with viral symptoms, and they can be recommended for implementation of bioassay.

Keywords: viruses, phytosanitary status, planting material, testing

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. PORODICA POMOĆNICE (Solanaceae) i rajčica (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)....	3
2.1.1. Podrijetlo i povijesni razvoj.....	4
2.1.2. Morfološka svojstva rajčice.....	4
2.1.3. Prehrambena vrijednost	6
2.1.4. Zahtjevi rajčice – vanjski uvjeti.....	7
2.1.5. Zahtjevi rajčice – tlo i voda	8
2.1.6. Obrada tla i gnojidba	8
2.1.7. Zaštita rajčice od bolesti i štetnika	8
2.1.8. Proizvodnja i njega nasada	13
2.1.9. Sorte rajčice	13
2.1.10. Berba i prinos.....	14
3. BILJNI VIRUSI	15
3.1. Građa virusa	15
3.2. Umnožavanje virusa.....	16
3.3. Fiziološke promjene u inficiranoj biljci	16
3.4. Prijenos biljnih virusa.....	17
3.5. Simptomi virusnih biljnih bolesti.....	21
3. MATERIJALI I METODE	22
3.1. Lokacija pokusa – OPG Cugovčan.....	22
3.2. Biotest.....	23
3.2.1. Priprema pokusa	24
3.2.2. Provedba pokusa.....	27
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
5. ZAKLJUČAK	31
6. POPIS LITERATURE	32
7. ŽIVOTOPIS.....	33

1. UVOD

Povrće se u Republici Hrvatskoj proizvodi na oko 70 000 ha što je 4,8 % ukupnih obradivih površina. U Hrvatskoj se 70 % povrća proizvodi na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima, od kojih svega 3 % otpada na proizvodnju povrća u zaštićenim prostorima (staklenici i plastenici) (www.mps.hr) Na tim površinama proizvede se oko 370 000 tona povrća godišnje što nije dostatno za hrvatske potrebe.

Proces restrukturiranja ukupnog gospodarstva 90-tih godina odvijao se paralelno s procesom otvaranja tržišta što je rezultiralo rastom ukupnih potreba i povećanom potražnjom za povrćem te u konačnici rastom uvoza. Kako bi prevladala činjenicu rastućeg uvoza svježeg i prerađenog povrća, Vlada Republike Hrvatske donijela je 2006. godine Operativni program za razvoj povrćarstva kojim se želi potaknuti povećanje površina pod povrćem, a posebno u zaštićenim prostorima s ciljem podizanja proizvodnje na razinu koja bi bila dostatna za hrvatske potrebe, te rasta izvoza, uz istovremeno unapređenje tehnologije proizvodnje, pakiranja i skladištenja povrća i podizanja kakvoće proizvoda (www.mps.hr).

Kako bi došlo do povećanja proizvodnje povrća u Hrvatskoj nisu dovoljni samo programi na papiru, nego je jednako bitan i uspjeh proizvodnje povrća koji ovisi o znanju uzgajivača, odnosno o njegovu poznavanju svega onoga o čemu ovisi proizvodnja povrća, tj. tehnologije proizvodnje. Proizvodnja povrća ovisi o pravilnom izboru vrste i sorte u odnosu na klimatske uvjete, svojstvima tla, mogućnosti navodnjavanja, ispravnoj gnojidbi, obradi i njezi, uspješnoj zaštiti od štetočinja, te pravilnoj berbi, čuvanju i iskorištenosti proizvoda.

Bez uspješne zaštite od štetočinja ne može se postići stabilna, visoka i kvalitetna proizvodnja povrća (Maceljski i sur.,1997). Procjene šteta koje su uzrokovane napadom štetočinja u Hrvatskoj iznose oko 50%. Dio se odnosi izravno na štete uzrokovane napadom, dok se dio odnosi na smanjenje kakvoće proizvoda. (Maceljski i sur.,1997).

Vrlo značajan udio navedenih šteta uzrokuju biljne bolesti povrća. Mnoge patogene ne može se kemijski suzbijati, ali se protiv svih njih mogu uspješno primjenjivati preventivne mjere zaštite bilja. U proizvodnji rajčice, česta je pojava vidljivih simptoma na svim biljnim organima. Proizvođači često zanemaruju moguću povezanost navedenih promjena s biljnim virozama, a česta je i procjena da se radi o abiotičkim uzrocima.

Postoji potreba za testiranjem potencijalno virotičnih biljaka primjenom tradicionalnih viroloških tehnika koje bi bile izvedive u proizvodnji, a čiji rezultati, premda nisu precizni niti dijagnostički, proizvođačima mogu biti vrlo korisni. Mehanička inokulacija zeljastih biljaka je jedna od takvih tehnika, primjenjiva za mehanički prenosive viruse.

U ovom radu provest će se mehanička inokulacija spektra osjetljivih zeljastih biljaka-domaćina maceratom listova rajčice sa sistemčnim simptomima, sličnim onima u viroza, kako bi se testirala infektivnost inokuluma, te će se usporediti reakcije korištenih biljaka.

Pretpostavka je da će se pojedini zeljasti domaćini u biotestu pokazati kao uspješne indikatorske vrste koje će se moći preporučiti za provođenje preliminarne provjere prisutnosti virusnog inokuluma u biljkama rajčice u praksi.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. PORODICA POMOĆNICE (*Solanaceae*) i rajčica (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Pomoćnice (*Solanaceae*), por. sulatičnih biljaka dvosupnica kojoj pripada oko 85 rodova s više od 3000 vrsta. Imaju jednostavne ili peraste, u pravilu izmjenične listove bez palistića. Cvjetovi su dvospolni, najčešće pravilni s dvostrukim ocvijećem. Plod je boba ili, rjeđe, tobolac. Najveći broj vrsta raste u Srednjoj i Južnoj Americi. Većina pomoćnica sadrži jako otrovne alkaloide (hiosciamin, atropin, skopolamin, nikotin, mandragorin i dr.) od kojih se neki primjenjuju u farmaciji (npr. velebilje, kužnjak, bunika, pomoćnica). Porodici pripadaju vrlo značajne prehrambene (npr. krumpir, rajčica, paprika, patlidžan) (tablica 1), industrijske (npr. duhan) ili ukrasne biljke (npr. petunija, kužnjak) i dr. Kod nas raste samoniklo ili se uzgaja oko 13 rodova (s približno 35 vrsta): velebilje (*Atropa*), bijeli bun (*Scopolia*), pomoćnica (*Solanum*), bunovina (*Mandragora*), vučac (*Lycium*), duhan (*Nicotiana*), mjehurica (*Physalis*), paprika (*Capsicum*), bunika (*Hyosciamus*), petunija (*Petunia*), pokrin (*Nicandra*), kužnjak (*Datura*), salpihroa (*Salpichroa*), (www.enciklopedija.hr).

Rajčica je vrlo rasprostranjena povrtna vrsta u svijetu. Koristi se u svježem obliku ili je pak pogodna za industrijsku preradu.

Tablica 1. Prehrambene kulture iz porodice pomoćnica (Lešić i sur., 2004).

PORODICA POMOĆNICE	<i>Solanaceae</i>
Rajčica	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.
Paprika	<i>Capsicum annuum</i> L.
Patlidan	<i>Solanum melongena</i> L.
Pepino	<i>Solanum muricatum</i> L'.Herit.ex Ait.
Peruanski mjehurac	<i>Physalis peruviana</i> L.
Krumpir	<i>Solanum tuberosum</i> L.

2.1.1. Podrijetlo i povijesni razvoj

Rod *Lycopersicon* malen je ali važan dio familije Solanaceae. Središte podrijetla ovoga roda je u Južnoj Americi, u Peruu, dok je uzgoj vjerojatno započeo u Meksiku od divlje rajčice *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, koja i danas tamo raste kao korov uz kanale i na vlažnim terenima. Od aztečkog imena „tomathe“, što u prijevodu znači nabubreli plodovi, rajčica je u cijelome svijetu dobila svoju izvedbu (Lešić i sur., 2004).

Rajčica je donesena u Europu već za drugog Kolumbovog putovanja, ali još se dugo uzgajala samo u botaničkim vrtovima, zbog pretpostavke da je otrovna. Njen uzgoj kao povrća započinje početkom dvadesetog stoljeća (Lešić i sur., 2004).

2.1.2. Morfološka svojstva rajčice

Rajčica je jednogodišnja povrtna kultura čija stabljika, ovisno o tipu rasta, naraste od 0,5 do 2 m. Po površini je dlakva, žljezdasta i dosta razgranana. Korijenov sustav je dobro razvijen i duboko prodire u tlo. Listovi su poredani naizmjenično i nalaze se na dugim peteljka. Plojke su nepravilno isperene. Cvjetovi su prvilne građe, dvospolni su i nalaze se na dugim stapkama. Skupljeni su u grozdasti cvat koji izbija iz pazuha listova. Čašku cvijeta čini pet zelenih lancetastih dlakavih lapova, a vjenčić 5 u donjem dijelu međusobno sraslih latica svijetložute boje. Prašnika ima također pet i oni su međusobno srasli. Plodnica je nadrasla i ima mnogo sjemenih zametaka, a završava tučkom zelenkastožute boje s okruglom njuškom.

Sjeme je ovalno okruglog oblika, spljošteno, 2-3 mm dugačko i oko 0,5 – 1,0 mm debelo, Žutosmeđe je boje i obraslo sitnim dlačicama (Matotan, 2004).

Plod (slika 1) je boba a sastoji se od mesa (stjenke perikarpa + pokožica) i pulpe (placenta + sjemenke + želatinozno tkivo oko sjemenki koje ispunjava komore). Plodovi su različitog oblika (tablica 2) , veličine (tablica 3) i boje što zavisi o kultivaru (tablica 4). Boje variraju od crvene preko narandaste do žute (<http://pinova.hr>).

Tablica 2 , Oblici plodova rajčice (<http://pinova.hr>).

Oblici plodova rajčice
1. srcoliki
2. plosnati
3. okrugli (jabučar)
4. ovalni (šljivar)
5. naborani
6. kruškoliki

Tablica 3 , Veličina plodova rajčice (<http://pinova.hr>).

Veličina plodova rajčice
• Jako veliki - veća od 10 cm u pomjeru
• Veliki - između 8 i 10 cm
• Srednji - između 5 i 8 cm
• Coctail - između 3 i 5 cm
• Jako mali (cherry) - manje od 3 cm



Slika 1. Plodovi rajčice (original)

Tablica 4. Razlike u morfologiji ploda kod različitih kultivara rajčice (<http://pinova.hr>).

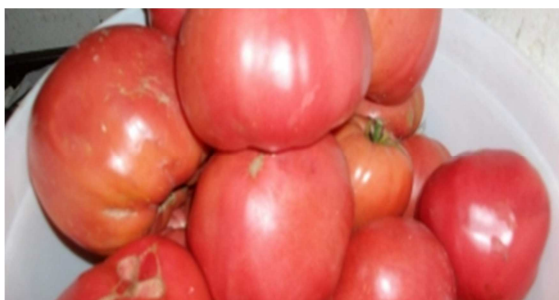
Kultivari rajčice



San Marzano



Beefsteak



domaća rajčica



Cherry

2.1.3. Prehrambena vrijednost

Zbog relativno malog sadržaja suhe tvari koje u svježim plodovima rajčice ima najčešće 4-6 %, njena energetska vrijednost je poprilično mala – 25 kcal na 100 g ploda. U sadržaju suhe tvari rajčice prevladavaju ugljikohidrati (fruktoza i glukoza). Rajčica se odlikuje visokim sadržajem likopena koji regulira rast stanica i veoma je koristan u liječenju malignih bolesti. Osim prehrambene ima važnu i zdravstvenu vrijednost, posebice u smanjenju krvnog tlaka i liječenju bolesti srca i krvnih žila. U prehrani se koristi na razne načine. Od povrtnih kultura se najviše prerađuje, prevenstveno u koncentrat, sokove, kečap (Matotan, 2004).

Novitet u svijetu je i proizvodnja vina od rajčice. Belgijac Pascal Miche već tri godine proizvodi vino od rajčica po tajnom obiteljskom receptu koji se čak prenosio s koljena na koljeno četiri generacije. Dakle, vino nije novitet, ali ga je bivši mesar neobično alkoholno piće prvi uspio komercijalizirati. Danas prodaje oko 34 tisuće butelja ovog aperitivnog vina godišnje (www.agroklub.com).

Miche je želio završiti ono što je započeo njegov pradjed još 1930-ih godina u Belgiji. Njegov vinograd nalazi se u Quebecu, u mjestu Charlevoixu, oko 400 kilometara svejeroistočno od Montreala. U njemu je zasađeno 6200 stabljika rajčica. Proizvodi dvije vrste vina, suho vino i zrelo vino koje mnogi upoređuju sa slatkim Pineau des Charentesom, piše thedrinkbusiness (www.agroklub.com).

Miche je u Kanadu stigao prije sedam godina i kaže da je oduvijek imao u planu proizvoditi vino svog pradjeda. No da bi svoje piće nazvao vinom, Belgijac je prvo morao uvjeriti vlasti da je rajčica - voće, što su mu srećom botaničari i potvrdili, najviše zbog toga što u sebi sadrži sjemenke biljke. Ipak Miche svoje piće u Sjevernoj Americi može nazivati vinom, no teškoća bi mogao imati ako ga poželi izvesti u Europu jer se na europskom kontinentu vinom nazivaju samo alkoholna pića napravljena od fermentiranog soka iz grožđa (www.agroklub.com).

2.1.4. Zahtjevi rajčice – vanjski uvjeti

Rajčica je termofilna kultura i njezina proizvodnja na otvorenom limitirana je trajanjem bezmraznog razdoblja. Optimalne temperature za rast i razvoj rajčice tijekom dana su 20 – 25 °C, a tijekom noći 15 – 18 °C. Niže temperature negativno djeluju na rajčicu, osobiti ako se govori o početim stadijima rasta, jer se to kasnije očituje u preranoj cvatnji sto se očituje u nižem prinosu. Temperature od 0 °C dovode do propasti biljke. Ako su temperature niže od 10 °C tokom cvatnje dolazi do slabije oplodnje i sitnijih plodova. Temperature niže od 16 °C tokom zriobe, dovode do slabe obojenosti plodova. Budući da je termofilna kultura rajčica lakše podnosi više temperature, no ako su više od 30 °C dolazi do smanjene fotosinteze. U kombinaciji sa visokom vlagom, visoke temperature dvode do opadanja cvjetova. Iznad 35 °C prestaje rast rajčice.

Pored temeperature važan čimbenik je i svjetlost koja ako je nema dovoljno dovodi do smanjenog sadržaja suhe tvari, što je često u kišnim godinama, te je takva rajčica lošije kvalitete za preradu (Matotan, 2004).

2.1.5. Zahtjevi rajčice – tlo i voda

Rajčica zahtijeva laganija tla bogata humusom te dobre vododrživosti i usklađenih vodozračnih odnosa. Potrebno je odabrati sunčane položaje. Dosta je tolerantna na kiselost tla te se može uzgajati u širokom rasponu pH vrijednosti 5,5 do 8. Optimalna vlažnost za rajčicu je 60 -70 % poljskog kapaciteta tla za vodu, te se gotovo uvijek uz planiranje proizvodnje rajčice treba uvrstiti i brigu o navodnjavanju.

Plodored se mora poštovati te on iznosi 3-4 godine. Dobre pretkulture su žitarice, krmne kulture, uljarice, šećerna repa (Matotan, 2004).

2.1.6. Obrada tla i gnojidba

Obrada tla ovisi o pretkulturama. Ako su strne žitarice, tada se obavlja samo plitko oranje, a ako je kukuruz tada se pristupa njegovu sjeckanju. Ukoliko nije obavljena gnojidba organskim gnojivima, tada se na tlo dovozi stajski gnoj u količini od 40 t/ha. To se zaorava na 35 cm i ostavlja preko zime, i u proljeće se brazda zatvara drljanjem. Tri tjedna prije planiranog roka sadnje pristupa se mineralnog gnojidbi. Za neko tlo srednje plodnosti ono iznosi oko 800 kg/ha NPK 5:20:30 i 150 kg UREE. Slijedeća je primjena gnojiva pred fazu zriobe i to sa 100 kg/ha KAN-a (Matotan, 2004).

2.1.7. Zaštita rajčice od bolesti i štetnika

Rajčica je izložena velikom broju štetočinja. Različite bolesti (tablica 5) uzrokovane su bakterijama, fitopatogenim gljivama, fitoplazmama i virusima, a štete nanose i nematode te različiti insekti (tablica 6), što neposredno, što prenošenjem virusa (Maceljski i sur., 1997). Osobito su važne preventivne mjere, pridržavanje plodoreda i kontrola populacije štetočinja u tlu, koji mogu nakon sadnje učiniti velike štete. U nastojanju sprječavanja velikih šteta, u proizvodnji rajčice treba što više koristiti kultivare otporne ili tolerantne na najvažnije bolesti.

Najznačajnije bolesti rajčice su: plamenjača, koncentrična pjegavost i siva plijesan (Maceljski i sur., 1997).

➤ **Plamenjača rajčice** (uzročnik je gljiva *Phytophthora infestans*)

Simptomi:

- na list se javljaju pjege nepravilna oblika koje su ispočetka svijetlosmeđe a kasnije potamne i nekrotiziraju, dok peteljke lista još ostaju zelene
- na naličju lista može se formirati prljavo bijeli mašak
- na stabljici se pjege se pjege najčešće pojavljuju na mjestu spoja s lisnom peteljkom (zbog mogućnosti zadržavanja vode u tom žlijebu), pjege su elipsastog oblika i zahvaćaju parenhim kore
- na plodovima se javljaju manje tamno obojene i ulegnute pjege, unutrašnjost ploda nije zahvaćena

Zaštita: rajčice može štititi pripravcima na bazi aktivnih tvari: iprovalikarb (0,3%) (karenca 14 dana), cimoksanil + famoksadon (0,3%) (karenca 14 dana). Prilikom zaštite treba utrošiti što više škropiva, odnosno kvalitetno zaštititi sve biljne organe (<http://pinova.hr>).

➤ **Koncentrična pjegavost** (uzročnik je gljiva *Alternaria solani*)

Simptomi:

- vide se na svim nadzemnim dijelovima, a ako je zaraženo sjeme, biljke propadaju još u klijalištima
- najlakše se primjećuju na listovima u vidu žućkastih sitnih pjega koje, kao i kod krumpira potamne, ali nakon širenja pjega i sušenja, listovi otpadaju
- rana zaraza može dovesti do defolijacije donjih listova i potpunog propadanja biljaka
- ako su plodovi zaraženi, javljaju se tamna udubljenja u kojima se za vlažnog vremena može primijetiti baršunasta tamnosmeđa prevlaka (www.agroklub.com).

Zaštita: ova bolest se teško suzbija fungicidima stoga je neophodno proizvesti zdravi rasad. Potrebno je tretirati sjeme, sijati u sterilni supstrat. Nakon nicanja rasad se prska svakog tjedna. Fungicidi na bazi aktivnih tvari: propin i metiram (<http://pinova.hr>).

➤ **Siva plijesan** (uzročnik je gljiva *Botrytis cinerea*)

Simptomi :

- na presađenim biljkama uočavaju po sivim nekrozama koje se javljaju na stabljici
- na plodu su simptomi različiti, ali najčešće se zaraza prepoznaje po tamnim pjegama koje okružuje svjetlije tkivo
- bolest se češće pojavljuje u zatvorenim prostorima zbog visoke vlage i nižih temperatura (www.agroklub.com).

Zaštita: Signum (slika 2) u koncentraciji 0,1-0,15 % (10 - 15 g na 10 L vode)



Slika 2. Pripravak za zaštitu bilja "Signum" namijenjen suzbijanju uzročnika sive plijesni (www.agroportal.hr).

U tablici 6 navode se najznačajniji štetnici rajčice.

Tablica 5. Bolesti rajčice (prema Maceljski i sur., 1997).

BOLESTI RAJČICE	
Mlade biljke se suše, propadaju	Bolesti u klijalištu
Na korijenu i korijenovu vratu	
Bijela pahuljasta prevlaka na korijenovu vratu	Bijela trulež
Tamnozeleno nekroza korijenova vrata – korijen postaje smeđ	Trulež korijena
Smeđesivkasto uleknuće na stabljici – epiderma puca	Rak stabljike
Korijen smeđ, uzdužne pukotine na korijenu	Plutavost korijena
Na lišću i cvijetu	
Pjege na rubovima lista, na naličju prljavobijeli mašak	<i>Plamenjača</i>
Tamnozonirane pjege na listovima i stabljici (1-1,5 cm u promjeru)	<i>Koncentrična pjegavost</i>
Sive pjege na listovima 3-4 mm u promjeru	Pjegavost lista
Maslinastozeleni mašak na listovima	Baršunasta plijesan
Žućkaste pjege, na naličju lista prljavobijeli mašak	Pepelnica
Epileptične sive nekroze na mjestu zakidanja zaperaka	<i>Siva plijesan</i>
Biljke gube turgor i venu	Venuće
Vlažna pjegavost stabljike, crne pjege 1-2mm u promjeru	Bakterijska pjegavost
Uljane pjege na listu i stabljici nepravilnog oblika	Krastavost plodova
Lišće žuti i kovrča se, pjege na listu, pukotine na stabljici	Bakterijsko venuće
Mozaik i sušenje listova	Virus mozaika rajčice i krastavca
Deformacija cvijeta	Fitoplazma
Na plodovima	
Tamnosmeđa uleknuća	<i>Plamenjača</i>
Crne udubljene pjege oko peteljke	<i>Koncentrična pjegavost</i>
Blijedožute pjege 2-3 mm u promjeru	<i>Siva plijesan</i>
Male udubljene crne pjege	Bakterijska krastavost
Zrakaste pukotine	Krastavost ploda
Bradavičaste smeđe izrasline omeđene bijelim rubom	Bakterijsko venuće

Tablica 6. Štetnici rajčice (prema Maceljski i sur., 1997).

ŠTETNICI RAJČICE	
Na podzemnim dijelovima	
Korijenje izgriženo, biljke propadaju	Štetnici u tlu
Vrat korijen ai prizemno lišće izgriženo	<i>Sovice pozemljuše</i>
Na korijenju odebljanja – guke, naročito u zaštićenim prostorima	Nematode korijenovih kvržica
Korijenje i vrat korijenja izgrizeni, u njemu bjelkaste beznožne ličinke	Korijenove muhe
Na nadzemnim dijelovima	
Lišće izgriženo, tragovi sluzi	Puževi
Lišće se kovrča, žuti i suši, na naličju kolonije sitnih kukaca	<i>Lisne uši</i>
Na lišću crna ljepljiva prevlaka čađavice, biljke zaostaju u rastu, na dodir lete bijele mušice	Bijela mušica
Na listu sitne bjelkaste točkice, lišće žuti i suši se, na naličju fina paučina	Koprivina grinja
Na lišću hodnici – mine, u njima žućkasto-narančasta ličinka	<i>Lisni mineri</i>
Bjelkastosrebrnkaste točkice na lišću i cvjetovima, na tim organima sitni brzi insekti	<i>Kalifornijski trips</i>
U plodu rajčice gusjenica, ulazno mjesto gnjije	Kukuruzni moljac

2.1.8. Proizvodnja i njega nasada

Rajčica se može uzgajati sa grudom supstrata-kontejneri ili razni lončići i bez grude supstrata u klijalistima. Nakon toga slijedi pikanje u veće kontejnere ili lončice. U svakome slučaju važno je da nema zastoja u rastu koji nastaje nakon presađivanja (Lešić i sur., 2004).

U dobrim uvjetima rajčica ima dobar vegetativan rast te brzo razvija postrane grane, koje se moraju uklanjati tokom cijelog vegetativnog rasta rajčice. S obzirom na svoju veličinu rajčica treba i potporanj kako bi rasla uspravno, imala dovoljno svjetlosti i topline, te pružila što manje povoljnih uvjeta za rast i razvoj bolesti (Matotan, 2004).

2.1.9. Sorte rajčice

Rajčica je kultura čiji uzgoj je moguć kako u zaštićenim prostorima, tako i na otvorenom. Upravo iz tog razloga stvoren je veliki broj različitih sorata rajčice. One se međusobno razlikuju po tipu rasta biljaka, po namjeni uzgoja, po obliku i boji plodova, ranozrelosti te mnogim drugim morfološkim i biološkim svojstvima. U komercijalnoj proizvodnji uglavnom se koriste hibridi koji u odnosu na sorte daju veće prinose, kvalitetnije plodove i odlikuju se genetskom otpornošću na veći broj ekonomski značajnih bolesti i štetnika (Matotan, 2004).

a) Rajčica za tržište u svježem stanju- Belle F1, Buran F1, Mahitos F1

Rajčica se za svježije stanje može uzgajati kao niske determinantne stabljike bez oslonca, te kao i hibridi visoke stabljike neograničenog rasta koji imaju svoj potporanj (indeterminantni (neodređeni) tip rasta - stabljika doseže i do nekoliko metara a vegetacijski vrh aktivan je sve dok ima povoljne uvijete). Niži hibridi su jeftiniji za uzgoj, no isto tako i prinosi su manji, ima više plodova koji se bacaju, jer nemaju tržišnu vrijednost, te je period plodonošenja kraći od vertikalnog uzgoja. Vertikalni uzgoj rajčice ima veće troškove proizvodnje, no isto tako veći su i prinosi, manje je plodova koji nemaju tržišnu vrijednost, a period plodonošenja je duži.

b) *Rajčica za preradu Chibli F1, Bobcat F1, Yakut F1*

Rajčica za preradu podrazumijeva samo sorte i hibride niske determinantne stabljike (determinantni (određeni) tip rasta - stabljika je visine 0,5 – 1 m), ujednačenog vremena sazrijevanja, bez zelenog pojasa uz peteljku ploda i što većeg sadržaja suhe tvari. Plodovi se moraju lako odvajati od stapke i biti prikladni za mehaniziranu berbu (Matotan, 2004).

2.1.10. Berba i prinos

Rajčica za tržište i upotrebu u svježem stanju bere se ručno i višekratno. Plod se bere sa stapkom i zelenim listićima, što je dokaz sježe ubranog ploda rajčice. Plodovi se beru višekratno u tehnološkoj zriobi koja se definira kao: crvena, ružičasta, žuta i zelena, ovisno o udaljenosti tržišta.

Plodovi u žutoj-prijelaznoj boji skladište se na 10 °C u trajanju od 14 dana, nakon toga na temperaturi od 18-20 °C, te tada brzo postižu crvenu boju. Ružičasti plodovi 12-15 °C čuvaju se u trajanju od 12 dana, a na temperaturi od 18-20 °C čuvaju se još 5-10 dana. U posljednje vrijeme vrlo su popularni kultivari „long life“ tj kultivari koji kada pocrvene na biljci još tri tjedna nakon ostaju lijepi i svježi. Što omogućuje berbu cijelih grozdova kao što je rajčica „grapolo“. Pri uzgoji na otvorenom iz presadnica mogu se postići prinosi od 30-80 t/ha (Lešić i sur., 2004).

Pri suvremenom uzgoju mogu se postići prinosi na otvorenom za korištenje u svježem stanju od 40-60 t/ha, a u zaštićenim prostorima oni su i četiri puta veći. Mehanizirana berba se provodi jednokratno kombajnima kada je 80-85% plodova zrelo, uz radni učinak od 8-10 t/h i prinos od 50-70 t/ha (Matotan, 2004).

3. BILJNI VIRUSI

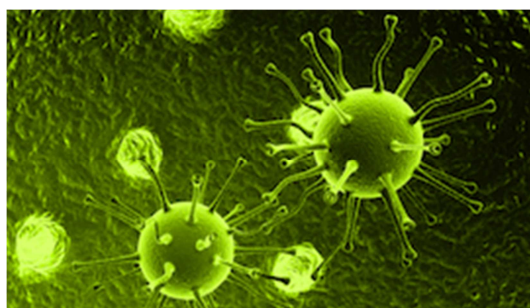
Točnih podataka o štetama koje virusne bolesti biljaka nanose svjetskom poljodjelstvu nema, no zna se da su gubitci veliki. Takvo je i stanje Hrvatske, virusne bolesti su odmah iza bakterijskih što se tiče smanjenja prinosa.

Biljni virusi mogu smanjiti ne samo količinu nego i kakvoću uroda, i gotovo da nema ni jedne kulturne biljke, a da u njoj nije nađen jedan ili više virusa (Juretić, 2002).

3.1. Građa virusa

Virusi (slika 3) su obligatni paraziti. To znači da se oni ne mogu poput bakterija, razmnožavati na umjetnim podlogama, nego samo u živim stanicama svojih domaćina. Oni nemaju svoj vlastiti metabolizam, no mogu preusmjeriti metabolizam domaćina prema stvaranju svojih novih virusnih čestica. Vrlo se specijalizirani: bakteriofagi, animalni virusi i biljni virusi (Juretić, 2002).

Virusi nemaju staničnu građu, te su submikroskopskih veličina (25-200 nm). Građeni su od samo dva kemijska spoja: nukelinske kiseline i proteina. Kako nemaju svoj vlastiti metabolizam, nemaju ni enzime za stvaranje biokemijske energije. Stoga se virusi ne dijele poput običnih stanica – iz jedne stanice nastaju dvije. Njihov je put slijedeći. Ulaskom u domaćina rastavljaju se na protein i nukelinsku kiselinu, koja svojim genetičkim svojstvima natjera stanicu domaćina da reproducira dijelove virusnih čestica, a svoje potrebe stanica da zanemari (Juretić, 2002).



Slika 3. Virusne čestice virusa s peplosom (<http://www.skole.hr>).

3.2. Umnožavanje virusa

Virus se u biljci širi na dva načina. Nakon što se virus razmnožio u ćeliji u koju je najprije ušao, on se dalje u ostale ćelije širi na dva načina: plazmodezmijama te preko provodnih elemenata. Plazmodezmijama virusi se šire od ćelije do ćelije, a provodnim elementima na veće udaljenosti. Zanimljivo je da se i neki virusi ne mogu kretati kroz plazmodezmije. No, pridoda li se takvom pojedinom virusu u ćeliji jedan drugi virus, koji može prolaziti kroz plazmodezmije, tada prvi virus, uz pomoć drugog, prolazi kroz plazmodezmije u susjednu ćeliju. Slično je s virusima koji su normalno u biljci ograničeni na floemsko tkivo; oni se tek uz prisutnost nekog drugog virusa (virus-pomagač) mogu proširiti iz floema u druga tkiva. Osim toga, dokazano je da virusi stvaraju jedan ili više specifičnih proteina koji sudjeluju u njihovu širenju u biljci. To su tzv. virusni transportni proteini. Danas još nije poznat mehanizam s pomoću kojega transportni proteini omogućuju virusu kretanje iz jedne u drugu ćeliju. Jedna od pretpostavki jest da ti proteini mijenjaju na neki način plazmodezmije koje nakon toga propuštaju virus da prođe kroz njih. U nekim slučajevima biljka-domaćin svojim obrambenim mehanizmima ograničava replikaciju virusa samo na stanice u koje je virus ušao za vrijeme inokulacije i ne dopušta mu da se širi u susjedne stanice. Što se tiče širenja virusa kroz provodne elemente (tkiva), zna se da virus u te elemente, u većini slučajeva, ulazi zajedno s asimilatima te se dalje širi do korijena i drugih dijelova biljke. Kad virus tako dospije na neko određeno mjesto u biljci, on izlazi iz provodnih elemenata te ulazi u parenhimno tkivo, odakle se polako dalje širi plazmodezmijama u ostale stanice. Izlaženje virusnih čestica iz provodnih elemenata te njihovo ulaženje npr. u ćelije mezofila sistemno inficiranih listova zbiva se uz pomoć virusnih transportnih proteina. Virus se šire kroz stabljiku a da se u njoj ne repliciraju. Smatra se da se oni šire na veće udaljenosti uglavnom kroz floem (www.bioloji.net).

3.3. Fiziološke promjene u inficiranoj biljci

Virusna infekcija najčešće mijenja ove fiziološke procese: smanjuje fotosintezu, pojačava disanje, smanjuje količinu hormona rasta. Fotosinteza se može smanjiti 20 do 50 %. U zaraženih biljaka disanje se u većini slučajeva pojačava, i to najviše u fazi pojavljivanja simptoma, a poslije se ono približava normalni. Disanje se može povećati 20 do 200 %. U virusno inficiranoj biljci mogu nastati i promjene u sintezi proteina. Dosadašnja istraživanja pokazuju da virus malo mijenja ukupnu količinu proteina; on više utječe na sastav ukupnih

proteina u biljci. Sintezom virusnih čestica stvaraju se velike količine kapsidnoga virusnog proteina (www.bioloji.net).

Domaćinske biljke koje reagiraju na virusnu infekciju hipersenzitivnom reakcijom stvaraju u stanicama lista više topljivih proteina kao odgovor na nastanak bolesti. Ti se proteini nazivaju proteinima PR, tj. proteinima povezanim s patogenezaom (od engl. pathogenesis-related proteins (www.bioloji.net)).

3.4. Prijenos biljnih virusa

Da bi opstali, biljni se virusi kao obligatni paraziti moraju od vremena do vremena prenositi iz zaraženih biljaka na zdrave, nezaražene biljke. Ako se virus nalazi u jednogodišnjoj ili dvogodišnjoj biljci, on će se morati češće prenositi na zdrave biljke nego ako se nalazi u nekoj višegodišnjoj biljci.

Biljni se virusi, ne mogu adsorbirati na površinu biljne stanice. Razlog tomu je činjenica što se na površini biljne stanice nalazi kutikula ili kutinizirani slojevi te čvrsta stanična stijenka na kojoj nema receptora za koje bi se virusne čestice mogle vezati. Isto tako, biljni virusi nisu sposobni sami probiti staničnu stjenku biljke i ući u unutrašnjost stanice. Prema tome, biljni virusi u svojem razvojnem ciklusu ne prolaze fazu adsorpcije, niti, kako se čini, fazu samostalnog ulaženja u stanicu. Oni ulaze u stanicu domaćina pasivno preko rana u epidermi biljnih stanica, pa se zbog toga za biljne viruse kaže da su paraziti rane. Prenosjenje virusa od bolesne na zdravu biljku preko rana naziva se mehaničkim prijenosom virusa. U prirodi on se zbiva posredovanjem životinjskih ili biljnih organizama; ti organizmi probijaju staničnu epidermu radi uzimanja soka kojim se hrane. Svi organizmi koji prenose viruse s jedne biljke na drugu nazivaju se vektorima. Mehanički prijenos u prirodi bez sudjelovanja vektora, tj. neposrednim kontaktom bolesne i zdrave biljke, ograničen je samo na neke viruse (www.bioloji.net).

Mehaničkim se prijenosom virusi u prirodi ne šire često

Neki se virusi mogu mehanički prenijeti s inficirane na zdravu biljku kad se listovi inficirane biljke za vrijeme vjetrovita vremena trljaju o listove susjednih zdravih biljaka. Mehanički je prijenos moguć i preko kontakta korijena zdrave biljke s korijenom zaražene

biljke. Ako se u tlu nađu ostaci tkiva zaraženog ili čak same virusne čestice adsorbirane na tlo, mlade sadnice često će se inficirati tim virusom. Infekcija nastaje tako što se korjenčići oštete za vrijeme probijanja kroz grube čestice tla. Češća je pojava da se virusi mehanički prenose za vrijeme agrotehničke obrade usjeva. Na primjer neki se virusi mogu preneti kontaminiranim rukama, odjećom i alatom (www.biolozii.net).

Insekti su najčešći prenosioci virusa

Među organizmima koji prenose viruse (vektori) najviše je insekata. Oko 94 % vrsta pripada razredu Arthropoda, a 6 % razredu Nematoda; većinu artropodnih vektora (oko 99 %) čine insekti. Više od 70 % insekata koji prenose biljne viruse pripada redu Homoptera. Tom redu pripada i porodica Aphididae (lisne uši) čiji su članovi najvažniji prenosioci biljnih virusa (www.biolozii.net).

Lisne uši su najvažniji prenositelji virusa

Lisne uši se hrane biljnim sokom. Sišući sok zaraženih biljaka (u prvom redu iz lista), one mogu prenositi biljne viruse na tri načina: neperzistentan, semiperzistentan i perzistentan način, pa zbog toga govorimo o neperzistentnim, semiperzistentnim i perzistentnim virusima (Juretić, 2002).

- Neperzistentan način prijenosa virusa

→ Virus ulazi u kukca za vrijeme njegova hranjenja biljnim sokom. Vrijeme „uzimanja” virusa vrlo je kratko, može trajati od samo nekoliko sekundi do nekoliko minuta. Virus se može prenijeti na zdravu biljku odmah nakon što je kukac rilcem probio epidermu biljke (faza inokulacije virusom).

→ Kukci razmjerno brzo nakon napuštanja zaraženih biljaka (obično unutar četiri sata) gube sposobnost daljnjeg zaražavanja drugih biljaka. To se događa zato što se neperzistentni virusi zadržavaju samo na usnim dijelovima insekta. Ovi se virusi ne razmnožavaju u unutrašnjosti kukca. Smatra se da je neperzistentan način prijenosa virusa u pasivan proces u kojemu se virus prenosi preko usnih dijelova kukca kontaminiranih virusom.

- Perzistentan način prijenosa virusa

→ Virusi koji se prenose lisnim ušima na perzistentan ili cirkulativan način imaju ove karakteristike:

- Faza usvajanja virusa traje dugo. Iako neke lisne uši mogu prenijeti pojedini perzistentan virus nakon što je faza usvajanja virusa na inficiranoj biljci trajala razmjerno kratko (npr. 20 minuta), ipak je prijenos mnogo uspješniji ako je vrijeme usvajanja virusa trajalo između šest i dvanaest sati.

- Kukac ne može odmah nakon usvajanja virusa prenijeti virus na biljku. Kod ove vrste prijenosa postoji latentni period koji traje 12 ili više sati. U tom razdoblju kukac, iako sadrži virione, ne može ih prenijeti na zdravu biljku.

- Nakon latentnog perioda kukac je sposoban duže vrijeme zaražavati zdrave biljke. On može najmanje sedam dana biti izvor virusnog inokuluma. To je vrijeme, međutim, obično znatno duže, a katkad kukac, nakon što je jednom usvojio virus, može cijelog života ostati izvor virusne zaraze. Perzistentan virus zadržava se u kukcu u svim razvojnim stadijima koji se smjenjuju u njegovom životnom ciklusu i ta je pojava poznata opisana kao transstadijalni prijenos virusa (www.bioloji.net).

- Semiperzistentan način prijenosa virusa

Ima virusa, koji se po načinu prijenosa lisnim ušima nalaze između neperzistentnih i perzistentnih virusa. To su tzv. semiperzistentni virusi. Oni su ne cirkuliraju unutar svojih vektora, no njihov vektor ipak zadržava sposobnost da ih prenosi kroz tri ili četiri dana. Vektor može usvojiti virus za 30 minuta hranjenja, ali je prijenos obično znatno uspješniji ako je hranjenje vektora na inficiranoj biljci trajalo nekoliko sati. Ono što je zajedničko semiperzistentnim i perzistentnim virusima jest to da se i jedni i drugi nalaze u floemu biljaka. Zbog toga kod oba ova tipa virusa vektor mora svojim rilcem probijati duboko u biljno tkivo kako bi usvojio virus i kako bi ga poslije, prilikom ponovnog hranjenja prenio u druge biljke (www.bioloji.net).

Nematode prenositelji virusa

Nematode koje žive u zemlji važni su vektori biljnih virusa. Oni se hrane sadržajem stanica biljnog korijenja. Glavni dio njihova usnog uređaja jest bodež kojim probijaju površinu korijena i pomoću kojeg sišu sadržaj stanice. Taj je bodež u pojedinim rodova dosta

modificiran. Prijenosni mehanizam sliči onom kojim se neperzistentni virusi prenose lisnim ušima (www.bioloji.net).

Prijenos virusa sjemenom

Prijenos virusa sjemenom ima veliku važnost ne samo za širenje virusa nego i za kontinuirano održavanje štetnih virusnih bolesti biljaka u prirodi. Virus se prenosi sjemenom preko različitih dijelova sjemenke.

- Neki se prenose preko sjemene ljuske

Kod tih sjemenki dolazi do (površinske) kontaminacije sjemenke, pa se virus može eliminirati ako se takve sjemenke tretiraju nekim hemijskim sredstvima, npr. fosfatima. Neki se drugi virusi mogu također naći na površini nezrelih sjemenki. No, nakon pune zriobe, kad se sjemenke dobro osuše, virus nestaje s njihove površine.

- Drugi način prijenosa virusa sjemenom jest prijenos preko sjemenog zametka (embrija) biljke. Takav prijenos imaju virusi koji ulaze u embrionalne stanice. Većina biljnih virusa koji se prenosi sjemenom, prenosi se preko embrija, pa je to najvažniji način prijenosa virusa sjemenom. Zna se da je za prijenos virusa preko embrija nužno da se matična biljka rano u svojem životu inficira virusom. Do zaraze u tom slučaju mora doći prije cvatnje i prije nego biljka stvori ženske gamete. Iz toga proizlazi da se infekcija zbiva preko ženskih gameta. U pogledu prijenosa virusa od matične biljke na zametak još je dosta nejasnoća (www.bioloji.net).

Polen kao prenosioc virusa

Neki se virusi mogu prenositi polenom zaraženih biljaka. Inficirani polen pri oprašivanju zdravih biljaka može zaraziti ženske gamete. Vjerojatno je da virusi koji se prenosi polenom ulaze u jajnu stanicu zajedno s muškim gametama kroz polenovu cjevčicu (www.bioloji.net).

Prijenos vegetativnim organima

Iz zaraženih biljaka koje se vegetativno razmnožavaju virusi se na nove biljke mogu prenositi npr. reznicama, cijepljenjem, lukovicama.

3.5.Simptomi virusnih biljnih bolesti

Virusne zaraze uzrokuju različite promjene ili simptome na biljkama, od tipičnih po kojima se lako raspoznaju do netipičnim po kojima su vrlo slični drugim živim ili neživim poremećajima. Najvažnije neželjene promjene na biljkama uzrokovane virusnim bolestima su smanjeni rast ili “patuljavost”, žućenje, mozaik, prstenasta pjegavost, šarenilo i/ili malformacija cvijeta, uvijanje lišća i deformacija plodova (www.gospodarski.hr).

Simptomi biljnih viroza su većinom vidljivi po cijelim biljkama (tzv. “sistemične” zaraze), a nisu lokalizirani na pojedinim organima kao primjerice većina gljivičnih i bakterijskih bolesti. U sljedeću vegetaciju virusi se prenose na zaostalim biljnim ostacima, višegodišnjim domaćinima (korovima i kulturnim vrstama), sjemenu, prezimljujućim populacijama vektora i vegetativnim organima za umnažanje (npr. gomoljima, lukovicama, reznicama, podlogama, plemkama (www.gospodarski.hr)).

Vrlo je važno napomenuti da za razliku od bakterija koje se liječe antibioticima, virusi su otporni, stoga su tu važne samo preventivne mjere.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom radu, primjenom mehaničke inokulacije zeljastih test-biljaka, provjerena je prisutnost mehanički prenosivih biljnih virusa iz inokuluma priređenom od listova rajčice sa simptomima koji su podsjećali na virusnu zarazu.

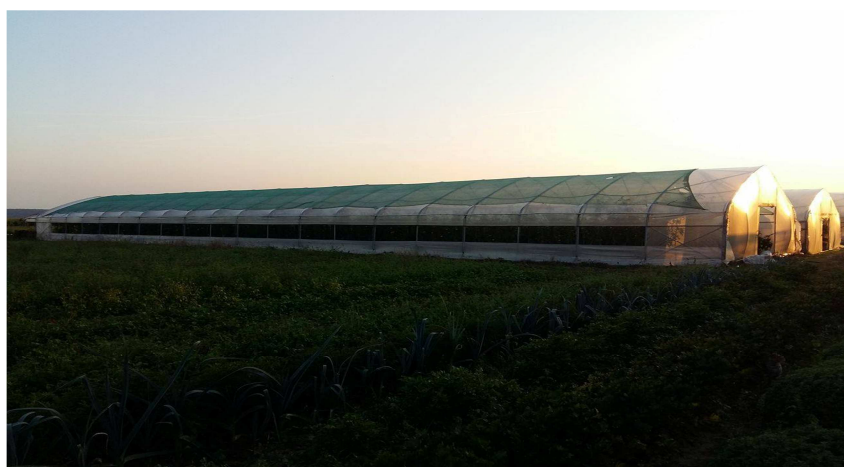
3.1. Lokacija pokusa – OPG Cugovčan

Lokacija prikupljanja biljnog materijala, kao i samog izvođenja dijela pokusa, je OPG Cugovčan, Poljani, Grubišno Polje (slika 4).



Slika 4. OPG Cugovčan (original)

OPG Cugovčan ima dugogodišnju tradiciju uzgoja povrća u zaštićenim prostorima (slika 5) te na otvorenom. Kroz godine, puno se naučilo o povrtnim kulturama kao i o njihovom uzgoju.



Slika 5 . Zaštićeni prostori. (original)

Prinosi su iz godine u godinu sve bolji, no u posljednjih nekoliko godina, unatoč dobroj brizi i njezi kultura, primijećen je pad prinosa. Otklonjeni su drugi razlozi koji su u novije vrijeme tome doprinosili, npr. suzbijanje bakterioza te štetnika. Pretpostavilo se da su najvjerojatnije i virusi značajan uzrok padu prinosa. Kako je rajčica jednogodišnja kultura koja se sije iz sjemena, potrebno je istaći da se na ovom OPG-u novi sadni materijal svake godine kupuje, te se pretpostavlja da je izvor zaraze virusima ili inficirani sadni materijal, ili se radi o mogućoj virusnoj zarazi rajčice putem vektora.

Polazeći od pretpostavke da su simptomi na listovima rajčice simptomi viroze, obavljeno je uzorkovanje, a biljni materijal je u svježem stanju dostavljen u Laboratorij Zavoda za fitopatologiju SuZG AF.

3.2. Biotest

Biljni se virusi, ne mogu adsorbirati na površinu biljne stanice. Razlog tomu jest činjenica što se na površini biljne stanice nalazi kutikula ili kutinizirani slojevi, te čvrsta stanična stijenka na kojima nema receptora za koje bi se virusne čestice mogle vezati (Juretić, 2002).

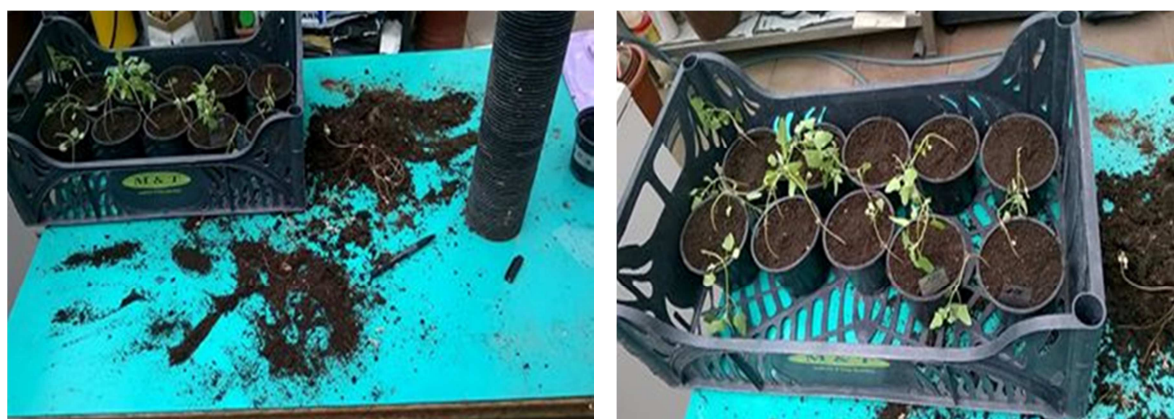
Virusi se mehaničkim prijenosom u prirodi na samoniklim biljnim vrstama ne prenose često jer se na njima razmjerno rijetko stvaraju rane kroz koje bi virus, bez posrednika, ušao u stanicu. Prilikom agrotehničke obrade usjeva češće dolazi do stvaranja rana na biljkama, te se na taj način može omogućiti ulazak virusa u stanicu (Juretić, 2002).

3.2.1. Priprema pokusa

Za izvedbu pokusa bili su potrebni:

- tarionik s tučkom
- fosfatni pufer
- karborundum (silicijev karbid)
- test-biljke
- listovi rajčice
- sterilno tlo
- posudice
- voda

Odabrali smo zeljaste biljke indikatore koje će nam poslužiti u ovome pokusu, te ih posadili u posudice (slika 6 i 7).



Slika 6 i 7. Sadnja biljaka indikatora (original).

Za provedbu mehaničke inokulacije odabrane su biljke za koje je poznato da su domaćini pojedinih važnih virusa rajčice (cit. prema Halupecki, 1997), a to su sljedeće biljne vrste tj. kultivari:

1. *Chenopodium amaranticolor*,
2. *Chenopodium quinoa*,
3. *Datura stramonium*,

4. *Nicotiana glutinosa*,
5. *Nicotiana megalosiphon*,
6. *Nicotiana tabacum* "Xanthi",
7. *Lycopersicon esculentum* "Rutgers".

Zeljaste biljke indikatore trebalo je zalijevati i voditi brigu o njima nepunih mjesec dana prije kako bi došle u punu kondiciju za provedbu pokusa (slika 8 i 9).



Slika 8 i 9. Njega biljaka-inikatora (original).

Nekoliko dana iza presađivanja zeljastih biljaka indikatora, pripremili smo fosfatni pufer (tablica 7 i slika 10) koji je korišten u pokusu mehaničke inokulacije:

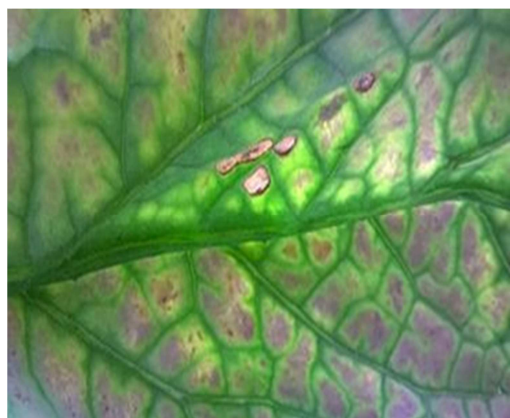
Tablica 7. Priprema Na/K fosfatnog pufera za mehaničku inokulaciju.

Za pripremu Na_2HPO_4 i $KH_2PO_4 \rightarrow$ smjese 500mM otopine Na_2HPO_4 i KH_2PO_4 u volumnom omjeru 7:2	
4,968 g Na_2HPO_4	$\rightarrow$ nadoliti do 70 ml = 500 mM otopine
1,361 g KH_2PO_4	$\rightarrow$ nadoliti do 20 ml = 500 mM otopine
Priredene otopine pomiješati = 90 ml pufera	



Slika 10. Fosfatni pufer (original).

Sljedeći korak je bila je maceracija prikupljenih listova rajčice sa simptomima viroze (slika 11 i 12) u tarioniku pomoću tučka. Radilo se s listovima rajčice sa sistemčnim, klorotičnim i nekrotičnim simptomima, koji su zahvaćali cijelu površinu lisnih plojki. Maceracija listova rajčice obavljena je uz dodatak fosfatnog pufera koji je stabilizirao kiselost dobivenog biljnog soka u kojemu se, moguće, nalaze virusi (virusni inokulum). Dalje u pokusu korišten je samo biljni sok, odvojen od ostataka biljnog tkiva.



Slika 11 i 12. Prikupljeni virotični listovi rajčice (original).

3.2.2. Provedba pokusa

Zeljaste biljke-indikatore (slika 13) trebalo je mehanički oštetiti kako bi došlo do zaraze, ukoliko biljni sok iz lista uzorkovane rajčice sadrži mehanički prenosiv virus.



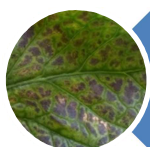
Slika 13. Zeljaste biljke indikatori (original).

Biotest mehaničkom inokulacijom se provodio na način da su zeljaste biljke-indikatori inokulirane nakon ranjavanja njihovih listova, a kao izvor inokulum a korištena je smjesa pufera i maceriranih listova, sukladno ranije opisanoj metodici (Halupecki, 1997). Površina lista zeljaste biljke-indikatora se lagano posipala karborundumom (silicijev karbid) koji ranjava površinu lista. Nakon ranjavanja biljke utrljavanjem karborunduma u list biljke, porculanskim tučkom se nanosi virusni inokulum tj. homogenat listova biljke sa simptomima (rajčica) priređen u tarioniku s fosfatnim puferom. Potrebno je ovaj postupak provoditi vrlo nježno, pazeći da se površina lista previše ne ošteti što bi dovelo do odumiranja biljnog tkiva zbog ozljeđivanja, a ne zbog virusne zaraze (slika 14).

Mehanički je inokulirano po 5 biljaka iz svake testirane vrste/varijeteta i to u trenutku kada su imale po 5 do 7 pravih listova (inokulacija je vršena na trećem najmlađem listu od vrha biljke), osim u slučaju rajčice "Rutgers" kod koje su inokulirani kotiledoni.

Na isti način su u svakoj od 7 pokusnih skupina biljaka po 2 biljke u svakoj skupini inokulirane sterilnom destiliranom vodom (-) kontrola. Pozitivne kontrole nije bilo jer cilj ovog rada nije bila determinacija virusne vrste.

Nakon inokulacije ,biljke su nakon 5 dana preseljene u platenik OPG Cugovčan u Grubišno Polje te su se i dalje njegovale i zalijevale u periodu od dva mjeseca, te se pratilo da li će doći do pojave simptoma virusne infekcije, te njihov razvoj.



listovi rajčice



fosfatni pufer



tretirane biljke

Slika 14 . Postupak provedbe biotesta (original).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Simptomi koji su podsjećali na simptome viroze razvili su se na 2 od ukupno 5 biljaka vrste *Nicotiana tabacum* "Xanthi". Radilo se o primarnom simptomu u vidu lokaliziranog žućenja lista pri vrhu lisne plojke, nakon čega se, u obje biljke sa simptomima, 3 tjedna nakon inokulacije, razvila nekroza parenhima uz žile na vršnom dijelu plojke.

Svi klijanci rajčice "Rutgers" su se osušili u periodu od 10 dana nakon mehaničke inokulacije. Oba klijanca iz kontrolne skupine preživjela su mehaničku inokulaciju sterilnom destiliranom vodom što je pokazatelj da mehanička inokulacija nije nepovratno oštetila listove test-biljaka.

Na niti jednoj od ostalih 25 inokuliranih biljaka nisu uočeni simptomi.

Obzirom da je inokulirano ukupno 35 biljaka u 7 skupina, ukupan broj biljaka sa patološkim promjenama nakon mehaničke inokulacije je bio 7 (ili 20 %).



Slika 15. Razvijena nekroza parenhima uz žile na vršnom dijelu lista biljke *Nicotiana tabacum* "Xanthi" kao rezultat mehaničke inokulacije biljnim sokom virotične rajčice obavljene tri tjedna ranije (desno). Lijevo je list kontrolne biljke (inokuliran sterilnom destiliranom vodom).

Postoji potreba za testiranjem potencijalno virotičnih biljaka primjenom jednostavnijih tehnika koje su izvedive i na terenu, a čiji rezultati, premda ne mogu biti precizni, mogu biti vrlo korisni (npr. pravovremna eliminacija virotične biljke će spriječiti daljnje širenje viroze).

Pretpostavka s kojom se ušlo u eksperiment, da će se pojedini zeljasti domaćini u biotestu pokazati kao uspješne indikatorske vrste za viroze rajčice, je potvrđena rezultatima ovog rada te bi se vrsta *Nicotiana tabacum* "Xanthi", uz rajčicu, mogla preporučiti kao biljka izbora za provođenje preliminarne provjere prisutnosti virusnog inokuluma u biljkama rajčice u proizvodnji.

Uočen je i jedan od glavnih nedostataka mehaničke inokulacije, u smislu da je primjenjiva samo u preliminarnoj detekciji mehanički prenosivih virusa rajčice, dok ne pokriva viroze čiji uzročnici se prenose isključivo putem vektora.

Ova tehnika zahtjeva istovremenu provedbu na većem broju zeljastih vrsta, koje je potrebno prethodno pažljivo odabrati, sukladno simptomima viroze, ali i sukladno vrsti zaražene biljke, ali uz gotovo zanemarivo ulaganje, omogućuje eliminaciju sumnje u moguće abiotičke uzroke nastanka virozama sličnih patoloških promjena na rajčicama.

5. ZAKLJUČAK

- U proizvodnji rajčice važno je moći razlikovati abiotičke od biotičkih djelovanja koji rezultiraju štetnim promjenama na biljkama.
- Postoji potreba za testiranjem potencijalno virotičnih biljaka primjenom jednostavnijih tehnika koje su izvedive i na terenu, a čiji rezultati, premda ne mogu biti precizni, mogu biti vrlo korisni (npr. pravovremna eliminacija virotične biljke će spriječiti daljnje širenje viroze).
- U biotestu na zeljastim domaćinima iz 7 vrsta/kultivara uspješnom se u ekspresiji simptoma viroze iz rajčice, uz klijance rajčice "Rutgers", pokazala i vrsta *Nicotiana tabacum* "Xanthi" kod koje su simptomi uočeni na 2 biljke.
- Pretpostavka s kojom se ušlo u eksperiment, da će se pojedini zeljasti domaćini u biotestu pokazati kao uspješne indikatorske vrste za viroze rajčice, je potvrđena rezultatima ovog rada te bi se vrsta *Nicotiana tabacum* cv. "Xanthi", uz rajčicu, mogla preporučiti kao biljka izbora za provođenje preliminarne provjere prisutnosti virusnog inokuluma u biljkama rajčice u proizvodnji.
- Na osnovi rezultata ovog rada vrsta *Nicotiana tabacum* "Xanthi" pokazala se prikladnom za testiranje viroza rajčice.
- Iako bi trebalo dodatno testirati isti virusni izolat na pravim listovima rajčice "Rutgers", klijanci ove sorte rajčice pokazali su se najosjetljivijima na inokulum iz rajčice s virusnim simptomima, te se mogu preporučiti za provedbu mehaničke inokulacije.
- Uočen je i jedan od glavnih nedostataka mehaničke inokulacije, u smislu da je primjenjiva samo u preliminarnoj detekciji mehanički prenosivih virusa rajčice, dok ne pokriva viroze čiji uzročnici se prenose isključivo putem vektora.

6. POPIS LITERATURE

1. Agroklub (2016), < <http://www.agroklub.com/povrcarstvo/zastite-rajcicu-od-bolesti-i-stetnika/9629> > , Pristupljeno 19.9.2016.
2. Agroklub (2016) < <http://www.agroklub.com/povrcarstvo/koncentricna-pjegavost-na-povrcu/9680/>> Pristupljeno 19.9.2016.
3. Agroklub (2016) < <http://www.agroklub.com/povrcarstvo/novi-gastronomski-hit-vino-od-rajcica/7354/>> Pristupljeno 15.9.2016.
4. Agroportal (2016) < <http://www.agroportal.hr/agro-baza/zastitna-sredstva/fungicidi/4300> > , Pristupljeno 19.9.2016.
5. Biolozi. (2016)< http://www.biolozi.net/upload/Anin_drugi_deo.pdf > Pristupljeno 6.9.2016.
6. Enciklopedija (2016) < <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=49353> > , Pristupljeno 13.9.2016.
7. Gospodarski list.(2016) < <http://www.gospodarski.hr/Publication/2014/23-24/vrlo-tetni-i-sve-ei-biljni-virusi/8122#.V9HG2vmLTIU>> Pristupljeno 6.9.2016.
8. Halupecki, E. (1997) Molekularna i biološka svojstva izolata virusa CMV iz korovnih biljaka neretvanske doline. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
9. Juretić, N. (2002) Osnove biljne virologije; Školska knjiga, Zagreb.
10. Lešić R., Borošić J., Buturac I., Herak-Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2004) Povrcarstvo; Zrinski, Čakovec.
11. Maceljski, M., Cvjetković, B., Ostojić, Z., Igrc Barčić, J., Pagliarini, N., Oštrec, Lj., Čizmić, I. (1997). Zaštita povrća od štetočinja; Znanje, Zagreb.
12. Matotan, Z. (2004) Suvremena proizvodnja povrća; Nakladni zavod Gobus, Zagreb
13. Ministarstvo poljoprivrede (2016) < <http://www.mps.hr/default.aspx?id=5859> > , Pristupljeno 13.9.2016.
14. Pinova (2016) < http://pinova.hr/hr_HR/baza-znanja/povrcarstvo/rajcica/morfoloska-svojstva-rajcice > Pristupljeno 19.9.2016.
15. Škole (2016) < http://www.skole.hr/dobro-je-znati/osnovnoskolci?news_id=10153> , Pristupljeno 6.9.2016.

7. ŽIVOTOPIS

Tajana Glogovšek rođena je 3.7.1991. godine u Bjelovaru. Iz rodne Podravine 1995. godine seli u Grubišno Polje. Tamo završava osnovnoškolsko i srednjoškolsko gimnazijsko obrazovanje, te 2011. godine upisuje Agronomski fakultet u Zagrebu, usmjerenje Hortikultura. Godine 2013. stječe zvanje univ. bacc. ing. agr. Hortikulture. Iste godine upisuje diplomski studij Povrćarstvo, a 2014. g. i drugi diplomski studij Fitomedicina.