

Djelotvornost prirodnog enzima u suzbijanju sive plijesni rajčice (*Botrytis cinerea*)

Šivak, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:738185>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Luka Šivak

Sveučilišni diplomski studij

Smjer Ekološka poljoprivreda

DJELOTVORNOST PRIRODNOG ENZIMA U SUZBIJANJU SIVE PLIJESNI (*Botrytis cinerea*)

Diplomski rad

Osijek, 2021.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Luka Šivak

Sveučilišni diplomski studij

Smjer Ekološka poljoprivreda

DJELOTVORNOST PRIRODNOG ENZIMA U SUZBIJANJU SIVE PLIJESNI (*Botrytis cinerea*)

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Jasenka Čosić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor
3. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član

Osijek, 2021.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Značaj i uzgoj rajčice.....	3
2.2. Značajne bolesti rajčice	4
2.2.1. Plamenjača rajčice	5
2.2.2. Crna (koncentrična) pjegavost	6
2.2.3. Lisna pjegavost	7
2.2.4. Fuzarioza.....	8
2.2.5. Siva plijesan	9
2.3. Mjere koje se upotrebljavaju prilikom zaštite rajčice od bolesti	11
2.4. Ekološka poljoprivreda.....	13
2.5. Ekološki uzgoj i zaštita rajčice	14
3. MATERIJAL I METODE.....	19
3.1. Postavljanje prvog pokusa	19
3.1.1. Uzgoj kulture <i>Botrytis cinerea</i> na hranjivoj podlozi.....	19
3.1.2. Priprema inokulata od <i>Botrytis cinerea</i>	20
3.1.3. Priprema rajčica za umjetnu infekciju	23
3.1.4. Inokulacija rajčica	24
3.1.5. Opis i priprema prirodnih enzima	25
3.1.6. Tretiranje plodova rajčice s prirodnim enzimima	26
3.2. Postavljanje drugog pokusa	27
4. REZULTATI.....	29
4.1. Rezultati prvog pokusa	29
4.1.1. Prvo mjerenje promjera lezija u prvom pokusu	29
4.1.2. Drugo mjerenje promjera lezija u prvom pokusu	30
4.1.3. Treće mjerenje promjera lezija u prvom pokusu	30
4.1.4. Značajnost utjecaja tretmana na promjer lezija u prvom pokusu	31
4.2. Rezultati drugog pokusa	34
4.2.1. Prvo mjerenje promjera lezija u drugom pokusu	34
4.2.2. Drugo mjerenje promjera lezija u drugom pokusu	35
4.2.3. Značajnost utjecaja tretmana na promjer lezija u drugom pokusu	38
5. RASPRAVA.....	40
6. ZAKLJUČAK	44

7. POPIS LITERATURE	45
8. SAŽETAK.....	50
9. SUMMARY	51
10. POPIS TABLICA.....	52
11. POPIS SLIKA	53
12. POPIS GRAFIKONA	55
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	
BASIC DOCUMENTATION CARD	

1. UVOD

Rajčica (*Solanum lycopersicum*) je jednogodišnja biljka iz porodice pomoćnica (*Solanaceae*), podrijetlom iz srednje i južne Amerike, a u Europu je stigla u 16. stoljeću nakon kolonizacije američkog kontinenta (Jones Benton, 1999.).

Ivšić Majić i Vukša Nahod (2017.) navode da je: „Imenica rajčica izvedena od riječi raj i prevedenica je prema njemačkome regionalnom Paradiesapfel (doslovno ‘rajska jabuka’), odnosno prema austrijsko-bavarskome Paradeis(er)“. Riječ rajčica se upotrebljava samo u standardnom hrvatskom jeziku, dok se u drugim hrvatskim dijalektima mogu pronaći drugi nazivi poput: paradajz, paradič, paradajsija, jabučica, pomidor, pomidoro, poma, kumidor, kavada.

U početku se rajčica uzgajala kao ukrasna biljka i zbog svoj intenzivnog mirisa se dugo vremena smatrala otrovnom. Botanički, ne pripada povrću kao što većina ljudi misli, već voću (bobicama) iako joj plod nije toliko sladak kao kod ostalog voća. Dosta ljudi ju i dalje smatra povrćem jer se najčešće poslužuje u salatama ili kao dio glavnog jela (Bahadur Bhandari i sur., 2016.). Upravo je zbog toga nastala poznata izreka Miles Kingtona koja glasi: „Znanje je znati da je rajčica voće, a mudrost je ne staviti je u voćnu salatu.“ Koristi se kao svježa ili prerađena, a svakodnevnoj ljudskoj prehrani doprinosi zbog svojih posebnih nutritivnih vrijednosti.

Danas je rajčica kao povrtna kultura raširena po cijelom svijetu, a za uzgoj je posebno odgovara umjereni klimatski pojas. Lako se uzgaja na otvorenim površinama te isto tako i u zatvorenim prostorima gdje se može proizvoditi tijekom cijele godine. Nije zahtjevna kultura i ne traži previše ulaganja, ali je dosta osjetljiva, to jest sklona je napadu bolesti.

Povišene temperature u kombinaciji s visokom postotkom vlage u zraku su glavni razlog pojave bolesti na rajčici. Tada se prvenstveno pojavljuju gljivične bolesti koje su prilagođene i najbolje se razvijaju u takvom, za njih savršenom, okruženju te su zbog toga u mogućnosti prouzročiti velike štete. U značajne gljivične bolesti na rajčici se ubrajaju: plamenjača rajčice, crna (koncentrična) pjegavost, lisna pjegavost, fuzarioza, siva plijesan i druge.

Ljudi često zanemaruju preventivne, odnosno agrotehničke mjere koje su značajne kako bi zaštitili kulturu od napada neželjenih štetnih organizama. Upravo radi toga probleme obično rješavaju tek kada se oni pojave bilo to mehaničkim ili fizikalnim mjerama.

Osim navedenih mjera postoje i one kojima ljudi nerijetko pribjegavaju, a to su upravo kemijske mjere. Za razliku od bioloških mjera koje se baziraju na prirodnim rješenjima zaštite bilja, kemijske mjere su isključivo sintetičke (umjetne).

Konvencionalnim sintetičkim sredstvima za suzbijanje bolesti se brzo i u relativno kratko vrijeme može riješiti izvor i širenje zaraze gljivičnih te u ograničenoj mjeri bakterijskih bolesti. Ono uz sve svoje prednosti, donosi po zdravlje i okoliš opasne probleme ako se ta sredstva ne koriste pravilno, to jest ako se ne poštuju načela dobre poljoprivredne prakse. Upravo zbog tog rizika ljudi sve više okreću ka uporabi ekoloških (prirodnih) proizvoda. Ti se proizvodi po brzini djelovanja, jačini, intenzitetu možda i ne mogu uvijek mjeriti sa sintetičkim, ali će im agroekosustav te naposljetku i naše zdravlje biti znatno „zahvalniji“.

Danas se mogu povesti razne rasprave o nedostacima i prednostima konvencionalne u odnosu na ekološku poljoprivredu. Renko i Bošnjak (2009.) objašnjavaju: „Smanjenje upotrebe pesticida, herbicida i umjetnih gnojiva na poljima smanjuje količinu kemijskih ostataka u prehrambenim proizvodima, a to je značajno ako se promatra u kontekstu da djeca u prve dvije godine života stječu 50 % rizika za razvijanje raka u starijoj dobi.“ S druge strane: „...neupotreba sintetskih spojeva uzrokuje opasnosti za sigurnost hrane, a to su opasnosti koje su bile pod kontrolom upravo zahvaljujući pesticidima i herbicidima - to su zagađenost patogenim mikroorganizmima iz stajskog gnojiva i nastanak kancerogenih mikotoksina koji su rezultat metabolizma mikroorganizama“ (Renko i Bošnjak, 2009.).

Prema Znaor (1996.): “Smisao ekološke poljoprivrede nije u negiranju i odbacivanju pozitivnih dostignuća konvencionalne poljoprivrede, već u pronalaženju boljih ekoloških rješenja tamo gdje je to najpotrebnije.”

Glavna svrha ovoga rada je pokušati utvrditi kakva je učinkovitost prirodnog enzima prilikom kurativne zaštite plodova rajčice koji su umjetno zaraženi sivom plijesni čiji je uzročnik gljiva *Botrytis cinerea*.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Značaj i uzgoj rajčice

Rajčica (*Lycopersicon esculentum* Mill. syn: *Solanum lycopersicum*) pripada porodici *Solanaceae* koja je u literaturi poznata kao porodica pomoćnica ili negdje se još navodi i naziv ponoćnice (eng. nightshade). Latinski naziv ove porodice je dobio ime prema latinskoj riječi *Solanum* koja u prijevodu znači „biljke iz noćne smjene“. Povrće iz ove porodice čini oko 20 % svjetske proizvodnje povrća, a porodicu sačinjava oko 85 rodova s oko 3000 vrsta iz tropskih i suptropskih predjela (Jones Benton, 1999.).

Rajčica sadrži nevjerojatan izvor važnih hranjivih sastojaka poput vitamina C, likopena, i β -karotena, a svi oni imaju pozitivne učinke na ljudsko zdravlje. Ostale, za zdravlje važne nutritivne komponente koje sadrži su velike količine kalija i drugih minerala te isto tako organskih kiselina poput limunske, okslanske, fumarne, askorbinske i maleinske koje osiguravaju uravnoteženost kiselina i baza u organizmu. Ona se može jesti u svježem stanju ili se koristi u prerađivačkoj industriji u proizvodnji sokova, umaka, juha, kečapa i koncentrata (Bergougnoux, 2013.).

Jedna je od najraširenijih kultura u svijetu te ekonomski predstavlja najvažniju povrtnu kulturu. Prema Bahadur Bhandari (2016.) na svjetskoj razini se rajčica uzgaja na oko 4.8 milijuna hektara po podacima iz 2012. godine, a godišnji svjetski prinos iznosi oko 182 milijuna tona rajčice. Kina je trenutno vodeća država u svijetu po proizvodnji ove kulture s udjelom od 33,75 %, a proizvodi oko 61 milijun tona godišnje. Iza Kine slijede Indija sa 19,37 te SAD sa 12,61 milijuna tona godišnje (<https://www.agroberichtenbuitenland.nl>).

U Hrvatskoj se rajčica uzgaja na oko 6.500 hektara površine sa prosječnim prinosom od 16 t/ha (Milašinović, 2020.). Ukupna proizvodnja rajčice za 2020. godinu je iznosila 39.544 tone što je poslije kupusa druga najprinosnija povrtna kultura (<https://www.agroklub.com>). Prema „Zeleno izvješće“ kupus i svježja rajčica su jedine kulture u Republici Hrvatskoj koje se približavaju razini samodostatnosti, a ona je za kupus iznosila 83,96 % te za rajčicu 71,67 % (<https://poljoprivreda.gov.hr>).

Lako se uzgaja u staklenicima, plastenicima, vrtovima te na otvorenom polju. Prema Matotan (2004.) iako se rajčica najčešće uzgaja na otvorenom, one uzgojene u zatvorenom prostoru su isplativije i imaju veće prinose zbog mogućnosti kontroliranja mikroklimatskih uvjeta.

Ako se sjetva/sadnja radi na otvorenom, potrebno ju je obaviti u proljeće kada zatopli, to jest kada nema naglih temperaturnih varijacija (polovica travnja do polovice svibnja). Minimalna temperatura potrebna za klijanje je 10 °C, dok je optimalna od 22 – 25 °C. Za kvalitetan rast, rajčici odgovaraju temperature između 18 i 22 °C te vlažnost zraka od 55 – 65 %. Zahtjeva veliku količinu svjetlosti kako bi se pravilno razvijala i rasla. Biljke obično narastu od jednog pa kod nekih sorti i do tri metra u visinu, a u dubinu oko jednog i pol metra. Zbog toga im potrebno postaviti potpornje u obliku drvenih kolaca na otvorenom ili plastificiranih konopaca spuštenih ka biljkama sa stropa krovne konstrukcije zaštićenog prostora. Ako se u kojem slučaju želi prekinuti rast rajčice obavlja se postupak dekapitacije, to jest zakidanja vrhova kako bi se dobili bolji i kvalitetniji plodovi na donjim etažama vegetativnog dijela biljke. Važno je i obavljati postupak pinciranja, odnosno zakidanja zaperaka kao i uklanjanja donjeg starog lišća kako bi se smanjila lisna masa biljke. To je bitno raditi zbog bolje prozračnosti usjeva i kako bi biljka mogla ravnomjerno raspodijeliti hranjiva na mjesta kojima je najpotrebnije. Inače nije od kultura koje traži obilno zalijevanje jer zbog kvalitetno razvijenog korijenovog sustava dobro podnosi sušu, ali u fazi cvatnje i oblikovanja plodova bi bilo poželjno joj osigurati dovoljne količine vode. Prilikom zalijevanja treba paziti da se zalijeva pravilno po tlu oko stabljike, a nikako po stabljici, listovima ili plodovima. Zbog bolje praktičnosti bilo bi poželjno imati sustav navodnjavanja kap po kap. Nepravilnim zalijevanjem je dovodimo u opasnost od zaraze različitim bolestima jer je upravo vlaga glavni razlog pojave istih (<https://www.agroklub.com>).

2.2. Značajne bolesti rajčice

Proteklih nekoliko godina uslijed klimatskih fluktuacija dolazi do povećane opasnosti od bolesti, posebno na plodovitom povrću. Patogenima za nastanak i razvoj pogoduju više temperature te posebno visoka relativna vlažnost zraka. Postoji popriličan broj bolesti rajčice koje su je u stanju zaraziti te ostaviti svoj trag u smislu smanjenja prinosa ili kvalitete uroda.

Prema Ćosić i sur. (2006.) s obzirom na vrstu uzročnika, bolesti rajčice se mogu podijeliti u dvije skupine:

1. Prvoj skupini pripadaju bolesti koje su prouzrokovane napadom mikroorganizama (parazitski uzročnici) kao što su: bakterije, gljive, fitoplazme, virusi, viroidi, rikecije te drugo.
2. U drugoj skupini se nalaze bolesti čiji je razlog nastanka izazvan nezaraznim fizičkim ili kemijskim čimbenicima (neparazitski uzročnici), a to su oštećenja uzrokovana herbicidima (fitotoksičnost), nepovoljni faktori okoliša te nutritivni ili fiziološki poremećaji.

Najznačajnije bolesti su one iz prve skupine (skupine mikroorganizama). Oboljenja izazvana parazitskim uzročnicima su izuzetno zarazna jer se u povoljnim uvjetima mogu relativno brzo širiti s jedne biljke na drugu.

Posljednjih godina se sve više priča o bakterijskim i virusnim bolestima s kojima se poljoprivrednici ipak i dalje rijetko susreću. Ako se takve bolesti u kojem slučaju pojave mogu izazvati jako velike štete upravo zbog nepripremljenosti i neiskustava samih poljoprivrednih proizvođača. Naročito štetne su se pokazale: bakterijsko venuće rajčice (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*), bakterijska pjegavost rajčice (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) te virusna pjegavost i venuće rajčice (Ivić, 2019.).

Gljivične bolesti su one bolesti koje poljoprivrednicima stvaraju najviše problema. Upravo se u praksi i najčešće očituju takve bolesti čiji su najpoznatiji uzročnici parazitne gljive s mikozama koje su u mogućnosti doprinijeti velikoj i nepovratnoj šteti na proizvodnim površinama (Jovićević i sur., 2006.).

2.2.1. Plamenjača rajčice

Plamenjača rajčice je jedna od najizraženijih, najrasprostranjenijih i ekonomski najštetnijih gljivičnih oboljenja rajčice. Uzrokovana je pseudogljivom imena *Phytophthora infestans* koje se u pogodnim uvjetima brzo razvijaju te inficiraju sve dijelove biljke tijekom bilo kojeg stadija vegetacije (Nelson, 2008.). Najveća opasnost od zaraze ili širenja bolesti je poslije učestalih ljetnih kiša kada visoka vlažnost u zraku pogoduje stvaranju micelija na naličju listova. Preduvjeti za razvoj bolesti su još povoljniji ako je sorta grmolikog izgleda s puno lišća jer se na taj način vlaga duže zadržava.

Najpovoljniji uvjeti za razvoj plamenjače su kada je temperatura između 18 i 22 °C pri relativnoj vlažnosti zraka od 60 – 90 %. Tada se javljaju prvi simptomi u vidu sivkasto-zelenih te sivkasto-smeđih pjega na donjim listovima koji kasnije postepeno sve više tamne te se na kraju skroz osuše i otpadnu. Infekcija se od donjih listova nastavlja širiti u visinu zahvaćajući stabljiku s ostatkom gornjih listova te na kraju i same plodove. Bolest se na stabljici očituje u obliku eliptičnih pjega koje s vremenom mijenjaju boju od svijetle pa sve prema tamnijoj nijansi. Prstenaste pjege zahvaćaju parenhimsko tkivo te na taj način blokiraju protok hranjivih tvari u gornji dio što uzrokuje progresivno sušenje čitave biljke. Zaraženi plodovi se prepoznaju po nastanku tamnih lezija koje se s vremenom šire te poprimaju brončanu boju što u konačnici rezultira truljenjem i otpadanjem plodova (<https://www.agroklub.com>).



Slika 1. Listovi i plodovi rajčice zaraženi plamenjačom

(izvor: <https://www.syngenta.hr>)

2.2.2. Crna (koncentrična) pjegavost

Crna ili koncentrična pjegavost je gljivično oboljenje na rajčici prouzročeno gljivicom *Alternaria solani*. Inače se ova bolest u engleskom jeziku naziva „early blight“ što bi u prijevodu na hrvatski značilo „rana palež“. Upravo kako naziv govori, zaraza se većinom pojavljuje ranije u sezoni, najčešće tijekom vlažnog vremena. Iako, vlažnost ne mora predstavljati glavni uvjet infekcije ovom gljivom, ali je jasno da se u vlažnom okruženju izuzetno brzo širi (<https://www.biovirt.com>).

Crna pjegavost obično napada biljku kada je u fazi određenog šoka, kada joj je smanjena otpornost, odnosno oslabljen imunitet. To se najčešće događa prilikom promjene vremena kada biljka doživljava temperaturne šokove u vidu naglih padova ili povišenja temperature zraka. Ovoj bolesti također pogoduje ako je biljka uzgajana na slabo plodnom tlu, tijekom suše ili je napadnuta od strane nekih drugih štetnih organizama (<https://www.biovirt.com>).

Crna pjegavost jednako inficira sadnice kao i biljke u već podmakloj vegetaciji. Kod sadnica se zaraza očituje kroz tamne mrlje na kotiledonima, stabljici i pravim listovima. Dok se kod starijih biljaka na donjem lišću pojavljuju tamnosmeđe mrlje s tamnim koncentričnim prstenovima. Kako bolest napreduje tako se lišće sve više počinje sušiti te uslijed intenzivnog napada skroz odumire i otpada. Ishod svega je da biljka proizvodi nekvalitetne i blijede plodove. Gljiva dobro preživljava u zaraženom tkivu biljke ili u tlu koje ju okružuje, a uspješno se prenosi vjetrom, tlom, kišom ili kišnicom koja se koristi za navodnjavanje (Muimba-Kankolongo, 2018.).



Slika 2. Crna (koncentrična) pjegavost lista rajčice

(izvor: <https://www.apsnet.org>)

2.2.3. Lisna pjegavost

Lisna pjegavost je također jedna od čestih gljivičnih bolesti koje napadaju rajčicu, a uzrokovana je gljivicom *Septoria lycopersici*. Spore ove gljive se prenose zaraženim sjemenom, nepravilnim navodnjavanjem, česticama tla, insektima te zaraženom opremom. Iako ovo oboljenje ne pravi velike materijalne štete, ono se jako brzo širi i može uzrokovati opadanje lišća te na taj način dovodi do slabijeg i sporijeg sazrijevanja plodova. Uz to ova bolest je sposobna oslabiti imunitet biljke te napraviti povoljne uvjete za napad nekih drugih bolesti, kao što je na primjer crna pjegavost lista s kojom je često ljudi znaju zamijeniti zbog velike sličnosti u izgledu simptoma (<https://www.thespruce.com>).

Kao i druge gljivične bolesti, tako se i ova najčešće pojavljuje poslije dužih razdoblja vlage i vlažnih uvjeta koji su pogodni za razvoj ove skupine bolesti. Zaraza najčešće nastupa tijekom toplih i suhih dana nakon pojave prvih plodova, iako se može pojaviti u bilo kojoj fazi vegetacije biljke. Simptomi se manifestiraju na donjem lišću u vidu kružnih lezija te se nastavljaju dalje na stabljiku i peteljke. Sami plodovi su jako rijetko zahvaćeni. Sivkasto-bijela boja u središtu razvijenih lezija s tamnim rubovima i žutim obrubom je najočitiiji znak prepoznavanja ove bolesti. Kako bolest napreduje lezije postaju sve veće (čak se i spajaju), listovi počinju žutjeti i uvijati se što na kraju rezultira njihovim potpunim sušenjem te odumiranjem (Panthee i Chen, 2010.).

Gljiva dalje nastavlja živjeti u otpalom biljnom materijalu rajčice, korovu ili u tlu gdje je sposobna i prezimiti. Spore su vrlo prilagodljive, dobro se skrivaju i čekaju idealne uvjete za ponovnu zarazu (<https://www.thespruce.com>).



Slika 3. Lisna pjegavost rajčice

(izvor: <https://www.weedimages.org>)

2.2.4. *Fuzarioza*

Mnogi abiotski čimbenici mogu biti uzročnici venuća rajčice poput visokih temperatura ili nedostatka vode. Međutim do venuća također može doći pod utjecajem parazitskih nametnika od kojih je za rajčicu specifična gljivica *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sever i Cvjetković, 2016.).

Prema Ćosić i sur. (2006.) gljiva je poprilično otporna i sposobna je prezimiti u tlu do devedeset centimetara dubine u obliku hlamidospora te može nanijeti ozbiljne štete. Konidije i hlamidospore se razvijaju u zoni korijenovog sustava odakle se vodom za navodnjavanje prenose od biljke do biljke. Također se bolest može prenijeti zaraženim sjemenom, zbog čega su sadnice posebno ugrožene. Ponekad mlade biljke dobivene iz takvog sjemena znaju propasti bez nekakvih vidljivih vanjskih simptoma. Za zarazu zahtjeva povoljne uvjete, a to su visoka temperatura zraka i tla (26 – 28 °C) te niska relativna vlažnost tla.

Žućenje donjih listova je jedan od glavnih simptoma ove bolesti koja se obično javlja sredinom vegetacije. Zaraza prvo može zahvatiti samo jedan dio donjih listova pa se s dodatnim razvojem može proširiti na stabljiku te naposljetku i na ostatak lisne mase. Takvi zaraženi listovi počinju mijenjati boju prema nijansi smeđe, uvijaju se prema dolje i u konačnici odumiru (Sever i Cvjetković, 2016.).

Na uzdužnom presjeku stabljike se mogu vidjeti provodni snopovi s nekrotičnim promjenama koje su nastale uslijed djelovanja patogena. Na taj je način parazit onemogućuje normalan protok vode u ostale dijelove biljke što je rezultira venućem biljke, najčešće poslije zamatanja prvih plodova (Ćosić i sur., 2006.).



Slika 4. Fuzarioza rajčice

(izvor: <http://www.tomatodirt.com>)

2.2.5. Siva plijesan

Siva plijesan je ekonomski značajna bolest koja osim rajčica inficira i druge važne poljoprivredne kulture, a uzročnik je polifagna vrsta *Botrytis cinerea*. Naziv ove gljivice dolazi prema grčkoj riječi „*botryos*“ što u prijevodu znači grozd i riječi iz latinskog jezika „*cinereus*“ koja znači siv ili pepeljast. To su riječi koje odlično opisuju morfološke osobine gljive prilikom manifestacije na zaraženim biljkama (Miličević, 2016.).

Tijekom uzgoja rajčice na otvorenom, rijetko kada će doći do zaraze ovim patogenom. On se najčešće pojavljuje prilikom uzgoja u zaštićenom prostoru na način da napada biljke čiji je imunitet (vitalnost) oslabljen ili se javlja na vegetativnim organima koji su mehanički oštećeni (Jovičević i sur., 2006.). Zatvoreni prostori poput plastenika ili staklenika, ako se ne vodi dovoljno brige, mogu stvoriti odlične uvjete za snažnu infekciju ovim parazitom. Njemu za rast i razvoj najviše odgovaraju mikroklimatski uvjeti sa ustajalim zrakom, umjerenom temperaturom (oko 25 °C) te visokom vlagom (preko 85 %) (Gleason i Edmunds, 2006.).

Simptomi zaraze se mogu pojaviti na svim vegetativnim organima rajčice te u različitim stadijima vegetacije. Na listovima, cvjetovima i stabljici se očituju kao nekroze ili paleži, dok se na plodovima manifestiraju u obliku pjega ili truleži. Postoji i mogućnost pojave sivo-smeđeg micelija na zahvaćenim organima tijekom jače infekcije. Visoka relativna vlažnost zraka posebno pogoduje sivkastoj sporulaciji plijesni te povećava mogućnost inokulacija. Zaraženi plodovi su u stanju potpuni propasti te prenijeti zarazu na ostatak plodova u grozdu. Na nerazvijenim (zelenim) plodovima se može pojaviti takozvana srebrna pjegavost. Na takvim pjegama se ne stvara micelij što ne utječe na urod već na kvalitetu i tržišnu vrijednost plodova rajčice (Miličević, 2016.). Williamson i sur. (2007.) navode da ozbiljna šteta može nastupiti tek nakon žetve naizgled zdravih i zrelih plodova rajčice kada se prilikom transporta i skladištenja mogu pojaviti simptomi sive plijesni. Tada je bolest zapravo u ranijoj fazi neprimjetno ušla u tkivo i samo je čekala povoljne uvjete za svoj razvoj.

Na proizvodnoj površini gljiva kao saprofit nastavlja živjeti na odumrlim biljnim ostacima i u korovu te tu i prezimljuje u obliku micelija ili sklerocija. Aktivira se ponovno nakon dolaska optimalnih uvjeta kada stvara konidiofore na čijim se krajevima stvaraju brojne konidije jer u prirodi rijetko stvara spolne spore (askospore). Konidije se dalje nastavljaju širiti vjetrom, kišom te zaraženim sjemenom. I do trideset dana nakon nastanka su sposobne proklijati na biljkama (Williamson i sur., 2007.).



Slika 5. Siva plijesan na plodu rajčice

(izvor: <https://vegetablegrowersnews.com>)

2.3. Mjere koje se upotrebljavaju prilikom zaštite rajčice od bolesti

Neovisno o tipu proizvodnje svaki se proizvođač susreće sa problemima napada bolesti, a u uzgoju povrća oni predstavljaju vrlo ozbiljan problem jer svojim prisustvom umanjuju proizvodne kapacitete. Bez adekvatne zaštite, sigurna i uspješna proizvodnja nije moguća. Pravilna tehnologija uzgoja je preduvjet uspješne zaštite od bolesti (Parađiković, 2009.).

Prije svega je potrebno shvatiti da fokus prilikom zaštite rajčice nije na kurativnim mjerama (liječenje), nego na preventivnim, to jest onim mjerama koje trebaju spriječiti ili smanjiti napad određenih bolesti. Biljke koje rastu u optimalnim uvjetima imaju snažan imunitet, a zdravi rast je osnova u borbi protiv štetnih organizama.

Prema Parađiković (2009.) primjenom plodoređa, korištenjem efikasnih agrotehničkih mjera, uporabom kvalitetnog sjemena te pravilnim navodnjavanjem pomažemo kulturi da se razvije na što zdraviji način, to jest da ne pridonosi pojavi različitih bolesti. Također treba upotrebljavati sorte otporne ili tolerantne na ekonomski značajne bolesti kako bi se spriječile velike štete. Bitno je obaviti i pravilnu gnojidbu jer zbog prevelike količine dušika u tlu biljka stvara meko tkivo i na taj način pogoduje nametnicima da lakše prodiru u njenu unutrašnjost.

Jovičević i sur. (2006.) navode kojih se još preventivnih mjera treba pridržavati kako bi proizvodnja rajčice bila rentabilna:

- dezinfekcija pribora, alata i zaštićenog prostora;
- uništavanje biljnih ostataka iz prethodne vegetacije;
- optimalna temperatura zraka u zaštićenom prostoru;
- optimalna temperatura tla i vlažnost zraka;
- optimalan sklop biljaka;
- prozračivanje zaštićenog prostora;
- pravilna identifikacija bolesti;
- kvalitetan izbor preparata za suzbijanje bolesti;
- optimalno vrijeme i način primjene preparata.

Ako se bolest pojavila, suzbijanje bolesti ovisi o tome kakvog je podrijetla, to jest kojem izvoru zaraze pripada određena bolest. Stoga je bitno što brže ustanoviti uzrok bolesti (biotski i abiotski činitelji). Upravo radi brze i pravilne identifikacije nastalog problema potrebno je uložiti vremena u edukaciju o zaštiti bilja da bi se što ranije obavile odgovarajuće mjere kako bi se šteta od bolesti smanjila na minimum.

Ostale značajne mjere koje se upotrebljavaju prilikom zaštite rajčice su:

- A) mehaničke,
- B) fizikalne,
- C) kemijske,
- D) biološke mjere.

A) Mehaničke mjere su one mjere kojima se bolesti nastoji suzbiti strojnom ili pak ručnom obradom, što također i uključuje bilo koji drugi vid uporabe mehaničke sile poput: sječe, orezivanja, usisavanja, skupljanja, krčenja i ostalog. Osnovno značenje ovih mjera je da se potpuno odstrane ili smanje vektori biljnih bolesti. Ove mjere su se nekada prije puno više rabile na otvorenom za razliku od danas kada se pretežno upotrebljavaju na manjim površinama, kao što su zatvoreni prostori, a isto tako u poluprofesionalnoj ili u amaterskoj poljoprivrednoj proizvodnji (Ćosić i Ilić, 2019.).

B) U fizikalne mjere spadaju one u kojima se upotrebljava nekakav oblik energije (toplina, svjetlost, radijacija, zvuk, boja) u borbi protiv nametnika. Jedan od efektivnih primjera fizikalnih mjera na malim površinama je upravo solarizacija, to jest prirodna dezinfekcija tla uz pomoć sunčeve energije. Provodi se na način da se prethodno usitnjeno i navlaženo tlo (oko 60 % vlažnosti) tijekom najtoplijih dana prekrije prozirnrom plastičnom folijom te tako pokriveno ostane narednih šest tjedana (Ivić, 2014.). Ovim načinom se učinkovito suzbijaju ekonomski značajni nametnici u zatvorenim prostorima jer se u intenzivnoj proizvodnji najčešće proizvodi bez primjene plodoreda, stoga je njihova pojava izražajna nego u drugim oblicima proizvodnje. Ostale važne fizikalne mjere su: termička sterilizacija tla pregrijanom parom (vrlo učinkovita, ali izrazito skupa mjera), tretmani vrućom vodom u proizvodnji sjemena i sadnog materijala.

C) Kemijske mjere su najučinkovitiji, ali isto tako i najskuplji oblik zaštite protiv bolesti i uzročnika istih. Kako proizvodnja postaje intenzivnija, primjena kemijskih sredstva postaje potrebna jer oni omogućuju postizanje konstantno visokih prinosa. (<https://www.enciklopedija.hr>). Konvencionalna sredstva za zaštitu su u velikoj mjeri sintetičkog podrijetla te su prirodi skroz nepoznate tvari. Ove supstance su teško razgradive ili posve nerazgradive, stoga ih je kao takve teško kontrolirati i predvidjeti njihovo „kretanje“. Uz njihovu veliku toksičnost po zdravlje životinja i ljudi, poseban problem predstavlja i pojava rezistentnosti (<http://www.fazos.unios.hr>).

D) Biološke mjere uključuju uporabu korisnih organizama koji na osnovu svojih karakteristika smanjuju broj štetnih organizama ili ih pak posve eliminiraju (<https://www.enciklopedija.hr>). „Biološko suzbijanje biljnih bolesti uglavnom obuhvaća primjenu komercijaliziranih bioloških pripravaka (biofungicidi) na bazi anatagonističkih mikroorganizama (bakterija, gljiva i dr.), čiji se antagonizam s uzročnicima biljnih bolesti ili biljnim patogenima temelji na interakcijama antibioze, kompeticije, parazitizma (hiperparazitizam i mikoparazitizam) i inducirane biljne rezistentnosti“ (Miličević i Kaliterna, 2014.). Danas se može pronaći više od 100 bioloških pripravaka čija su osnova 14 vrsta bakterija te 12 vrsta gljiva.

2.4. Ekološka poljoprivreda

„Ekološka poljoprivreda, koja je izvan granica Hrvatske poznatija pod nazivom “organska” (engl. *organic agriculture*), je najjednostavnije rečeno poljoprivredna metoda koja proizvodi hranu iz zdrave i cjelovite zajednice zemlje i biljaka bez upotrebe mineralnih gnojiva, GM organizama, pesticida i drugih sintetičkih kemijskih preparata. Ekološka poljoprivreda dugoročno poboljšava kvalitetu tla i doprinosi povećanju biološke raznolikosti“ (Puđak i Bokan 2011.).

Za razliku od konvencionalne, ekološka proizvodnja je nešto kompleksnija jer zahtjeva dosta znanja i mora biti organizirana sukladno s posebnim propisima. Proizvodnju strogo nadgleda odabrana ekološka nadzorna stanica (kontrolno tijelo) koja je ovlaštena od Ministarstva poljoprivrede te se brine da proizvođač poštuje pravila i da radi shodno s hrvatskom zakonskom regulativom usklađenom s onom koju je propisuje Europska unija.

Nakon određenog vremena proizvođač, ukoliko ispuni sve regulative, može podnijeti zahtjev za certifikaciju, to jest dobivanje eko znaka koji potvrđuje da je njegova proizvodnja u skladu sa propisima te da takve proizvode može plasirati na tržište pod nazivom “ekološki”, odnosno sa oznakom „Ekoproizvod“ (Mešić i sur., 2016.).

Prema Pejnović i sur. (2012.) zadnjih nekoliko godina veliki broj razvijenih država, posebice onih u Europskoj uniji, bilježi ubrzan trend rasta i razvoja ekološke (organske) poljoprivrede. Ipak to možda nije samo odraz promjena u poljoprivredi već i društva generalno. Na bavljenje ekološkom poljoprivredom se ne mora promatrati kroz djelatnost (smjer poljoprivredne proizvodnje), već se može gledati kao na određeni suvremeni svjetonazor, to jest stil života koji teži ka povećanju kvalitete života za sve pojedince.

U svijetu je 2017. bilo 69,8 milijuna hektara (1,4 % ukupnih obradivih poljoprivrednih površina svijeta) pod ekološkom proizvodnjom, a broj registriranih ekoloških proizvođača je iznosio 2,9 milijuna te se taj broj nastavlja povećavati iz godine u godinu (<https://www.fibl.org>). Iste godine je u Europskoj uniji zabilježeno 12,8 milijuna hektara pod ekološkom proizvodnjom što je udio od 7,2 % ukupnih obradivih poljoprivrednih površina (Grgić i sur., 2019.).

U Republici Hrvatskoj je također tijekom zadnjih dvadeset godina zabilježen rast površina pod ekološkom proizvodnjom kao i broj ekoloških poljoprivrednika. Početkom 21. stoljeća je u Upisnik subjekata u ekološkoj proizvodnji bilo upisano svega nekoliko proizvođača.

Usljedio spori rast između 2000. – 2003. godine kada je bilo upisano 130 ekološka poljoprivrednika te onda brži porast od 2003. – 2008. godine koji je krajem godine brojio 474 subjekta (Pejnović i sur., 2012.). Prema podacima Ministarstva poljoprivrede 1.789 ekoloških poljoprivrednih proizvođača je bilo upisano 2013. godine, a 2019. je taj broj iznosio čak 5.548 (<https://poljoprivreda.gov.hr>). Isto tako je u razdoblju od 2013. do 2019. godine izražen porast površina sa 40.660 hektara (2,59 % udio ukupne korištene poljoprivredne površine) na 108.169 hektara (udio od 7,18 %).

Voćarstvo i povrćarstvo su još uvijek slabo zastupljeni svojim udjelom po površini u ekološkoj proizvodnji dok nepobitno najvećim udjelom prednjače ratarstvo i stočarstvo (pašnjaci). Iz podataka Državnog zavoda za statistiku za 2018. godinu može se vidjeti da se ekološko povrće trenutno uzgaja na površini od oko 422 hektara sa prinosom od 2151 tone (<https://www.dzs.hr>).

2.5. Ekološki uzgoj i zaštita rajčice

Osnovni preduvjet za proizvodnju ekološke presadnice rajčice je prije svega kvalitetno sjeme (po mogućnosti sjeme otporne, autohtone sorte), a ono treba biti kupljeno isključivo kao ekološki certificirano ili dobiveno iz vlastite ekološke proizvodnje. Nakon toga je bitno poduzeti prvi korak preventivne zaštite protiv patogena, a to je priprema kupke za sterilizaciju sjemena. Rajčica uzgojena na organski način sklonija je napadu zemljišnih patogena od one uzgojene na konvencionalni način, jer se u konvencionalnoj poljoprivredi najčešće koristi pilirano sjeme ili se kemijska zaštita obavi prije sjetve. Pilirano sjeme je obloženo posebnim premazom koji sadrži hranjive elemente, stimulatore rasta, fungicide i pesticide koji su kao sintetske tvari strogo zabranjeni u ekološkoj proizvodnji (<https://www.agroklub.com>).

Tretman kupke podrazumijeva namakanje ekološkog sjemena u punomasno mlijeko ili u otopinu efektivnih mikroorganizama (kompleksna smjesa različitih korisnih gljivica i bakterija) te se tim načinom dobiva zaštita slična onoj u konvencionalnom uzgoju, ali na sasvim prirodan način. Kada se sjeme prosušilo, slijedi sjetva u plastične posude. Sjetva se može obaviti na način da se po jedno sjeme stavlja u posudu napunjeno supstratom (najbolje prosijani aktivni kompost sa dodatkom zeolita) ili više sjemenja po posudi, a takva metoda poslije (kada se biljke razvijaju) zahtjeva postupak pikiranja te premještanja u posebne posude. Kasnije je potrebno povremeno zalijevati, eventualno dodati organskog dehidriranog gnojiva i čekati da biljke narastu dovoljno da ih se može presaditi u zaštićeni prostor ili na otvoreno. Kada je došlo vrijeme sadnje presadnica, poželjno je pripremiti posebnu biološku otopinu (biofungicid) u koju se namaču korijeni rajčice. Većinski sastav smjese (99 %) od koje se pravi otopina je sitno mljeveni zeolit te preostalih 1 % čini skupina gljivica *Trichoderma*. Riječ je o gljivicama koje se nastanjuju u blizini korijena rajčice te putem kompeticije konkuriraju za hranu i prostor ostalim patogenim mikroorganizmima, to jest uzročnicima bolesti među kojima su od izrazitog značaja: *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* i *Botrytis cinerea*. Uz to produkti metabolizma gljivica *Trichoderma* su razni enzimi i hormoni koji utječu povoljno na razvoj i cvatnju te naposljetku i bolji urod. Nakon natapanja korijenja u otopini potrebno je pripremiti tlo i obaviti gnojidbu isključivo organskim gnojivima jer su umjetna gnojiva zabranjena u ekološkoj proizvodnji te se poslije toga može započeti sa sadnjom presadnica. Uz svaku presadnicu se može posaditi bosiljak jer on pozitivno djeluje na plodnost te kasnije i na okus plodova (<https://www.youtube.com>).

Nadalje se prati rast i razvoj rajčice te se daljnji uzgoj ne razlikuje pretjerano od konvencionalnog, osim kada je u pitanju prihrana te kurativna zaštita uslijed pojave bolesti jer se te mjere moraju obaviti na potpuno prirodan (ekološki) način.

U ekološkom uzgoju je najvažnije djelovati preventivno, to jest „bolje je spriječiti, nego liječiti“. Stoga je potrebno pronaći nove ili primjenjivati već ustaljene preventivne metode zaštite rajčice kao što su: plodored, pravilna gnojidba (bez upotrebe umjetnih gnojiva), biološka zaštita, korištenje otpornih sorti te poboljšanje i održavanje bioraznolikosti tla.

Prema Neeson (2008.) održavanje tla „zdravim“ je prva mjera obrane od bolesti. Ako ono ima visoku biološku aktivnost, visoku razinu organske tvari, dobru strukturu i bogato je hranjivim elementima, na takvom tlu rastu „zdravije“ i otpornije biljke koje su manje podložne napadu štetnih organizama.

Poljoprivrednici u ekološkoj proizvodnji koriste prirodne metode suzbijanja bolesti te je to jedan od razloga zašto ekološka poljoprivreda zahtijeva puno više truda i rada nego ostali tipovi poljoprivredne proizvodnje. „Ekološki prihvatljive mjere zaštite bilja su one mjere koje nisu opasne za ljude i korisne organizme, koje ne onečišćuju okoliš, koje minimalno narušavaju uspostavljenu ravnotežu organizama i što manje imaju negativno djelovanje na raznolikost vrsta u prirodi“ (Igrc Barčić i Maceljski, 2001.).

Od relativno novih metoda preventivne ekološke zaštite važno je spomenuti efektive mikroorganizme koji u kombinaciji sa češnjakom i koprivom daju izvrsno zaštitno sredstvo te prirodni pojačivač rezistentnosti biljaka (inducirana otpornost). Oni se otopljeni u vodi nanose po rajčici i na taj način se u vegetativni prostor donosi oko osamdesetak korisnih mikroorganizama, a svrha im je borba protiv štetnih gljivica čije bi spore mogle stići zrakom ili iz tla. Također jedna od izvrsnih, a jeftinih metoda preventivne zaštite je špricanje rajčice kombinacijom neobranog mlijeka s vodom u omjeru 1:10. Ta otopina je odlična za zaštitu rajčice od gljivičnih bolesti na otvorenom, zbog toga što se u mlijeku nalaze korisne bakterije mliječne kiseline, a one onemogućuju rast gljivica te zakiseljuju sredinu koja poslije nije povoljna za razvoj istih. To su sasvim prirodni načini obrane koji ne štete niti biljkama, niti okolišu, a najvažnije je da ne štete niti ljudskom zdravlju (<https://www.youtube.com>).

U ekološkoj poljoprivredi se uz efikasne preventivne mjere također primjenjuje kombinacija mehaničkih, fizikalnih te bioloških mjera zaštite bilja. Kemijske mjere se u strogo zabranjene jer se nastoji zaštititi agroekosustav. On kao takav ne smije ugrožavati ostale prirodne ekosustave zagađenjem raznim agrokemikalijama koje se inače koriste u konvencionalnoj poljoprivredi.

Prema Šiljković (2001.) iako se možda intenzivnom proizvodnjom dobivaju veći prinosi i plodnost je uspješnija, takva je proizvodnja na „duge staze“ izrazito štetna te destruktivna na cjelokupni ekosustav. To se najbolje može vidjeti kroz očigledno prekomjerno i neracionalno trošenje neobnovljivih prirodnih resursa narušavajući tako prirodnu ravnotežu za razliku od ekološke proizvodnje koja teži ka održivom razvoju (Bogović, 2018.).

Upravo zbog toga se u ekološkoj poljoprivredi koriste prirodna kurativna sredstva za zaštitu bilja koja su dopuštena sukladno posebnim propisima o ekološkoj proizvodnji. Jasno je da je kurativno suzbijanje neželjenih organizama samo nadopuna obaveznim preventivnim mjerama ukoliko su se štetni organizmi pojavili (<http://www.fazos.unios.hr>).

Dopuštena kurativna zaštitna sredstva u ekološkoj proizvodnji (<http://www.fazos.unios.hr>):

Botanički pesticidi:

Ekstrakcija neotrovnog, pretežno ljekovitog i začinskog bilja: kopriva, kamilica, paprika, ružmarin, luk, češnjak, pelin, rabarbara, preslica, hren, obični vratić, bazga.

Čaj od preslice je odličan u kontroli gljivičnih oboljenja. Dok se ekstrakt hrena koristi u borbi protiv truleži.

Također se mogu pronaći i komercijalni preparati na bazi biljaka iz ove skupine botaničkih pesticida. Jedan od najpopularnijih je "SPS" (Schumachers Pflanzensaft) napravljen od ekstrakta divljeg bilja, a djelotvoran je protiv sive plijesni i truleži. "Bio-S" i "Milsana" su još jedni od komercijalnih preparata koji su učinkoviti u borbi sa gljivičnim bolestima.

Preparati na mineralnoj bazi:

Preparati na bazi sumpora i bakrene soli su najznačajniji preparati u ovoj skupini koji djeluju kao izvrsni fungicidi. S tim da je uporaba bakrenih sredstava ograničena na 3 kg/ha godišnje radi sprječavanja prevelike akumulacije bakra u tlu. Zbog fitotoksičnosti sumpora pri višim temperaturama kao zamjena se koristi vodeno staklo koje pridonosi otpornosti biljaka.

Kalijev permanganat i soda bikarbona također djeluju fungicidno, iako neki smjerovi ekološke proizvodnje kalijev permanganat ograničavaju samo na pripremu kupki za namakanje sjemena.

Propolis:

Propolis je izvanredno zaštitno sredstvo jer je prirodni stimulator obrane biljka (inducirana otpornost) te ima antibakterijska i antigljivična svojstva.

Primjenjuje se u obliku vodene otopine, alkoholne otopine, hidro-alkoholne otopine, smjese hidro-alkoholne otopine s koloidnim sumporom i propolisnog ulja (samljeveni propolis pomiješan s uljem) s hidro-alkoholnom otopinom.

Prirodni enzim:

Prirodni ili bio enzim je organska otopina koja nastaje fermentacijom različitog voća, povrća, šećera i vode. Uz razne mogućnosti i namjene, ova otopina se pokazala i kao odlična prilikom suzbijanja određenih štetnih organizama (<https://alternativa-za-vas.com>).

Ovakav preparat se da lako napraviti u svakom kućanstvu, samo za njegovo korištenje je potrebno pričekati određeno vrijeme. Na tržištu se mogu i kupiti ovakvi gotovi (aktivirani) proizvodi, a jedan od poznatijih domaćih brendova je „Prirodni enzim“ iz „BZ Arka naša“.

Ovaj proizvod je potpuno organski, dobiven iz organskog sastava (kore voća i povrća, melasa ili smeđi šećer te voda).

Proizvođač navodi da je on izvrsno preventivno zaštitno sredstvo, odlično organsko gnojivo, prirodni hormon rasta, dobar fungicid i insekticid (naročito protiv lisnih ušiju), antiseptik te posjeduje još razna višestruka pozitivna svojstva (<https://www.foodbevg.com>).

Također navodi: „Dosadašnji rezultati su izvrsni i slični ostalim kulturama voća i povrća, od kojih je rajčica pokazala izvanredan napredak primjenom enzima navodnjavanjem ili folijacijom, plodovi su u konačnici bili veći, finiji, a cijela biljka jača, a samim time i zdravija te otpornija na moguće bolesti jer dodavanjem enzima biljka jača imunitet“ (<https://www.foodbevg.com>).

3. MATERIJAL I METODE

Cilj ovog istraživanja je bio ispitati djelotvornost prirodnog enzima kao kurativnog sredstva u suzbijanju *Botrytis cinera* na umjetno inficiranim plodovima rajčice, kroz dva odvojena pokusa od kojih svaki trajao po sedam dana.

Pokuse smo postavili u laboratoriju Zavoda za fitomedicinu na Fakultetu agrobiotehničkih znanosti u Osijeku.

3.1. Postavljanje prvog pokusa

U prvom pokusu smo koristili 24 ploda rajčice (kupljenih na tržnici) koje smo podijelili u četiri grupe sa po šest plodova u svakoj. Plodove smo umjetno inficirali gljivom *Botrytis cinerea* te su u upotrebi bile dvije verzije prirodnog enzima i voda kojima smo plodove tretirali kurativno svaki dan zavisno od grupe u kojoj se nalazili. Također jedna od grupa je bila i kontrola bez umjetne infekcije. Promjene na plodovima smo promatrali i bilježili kroz idućih sedam dana od postavljanja pokusa.

3.1.1. Uzgoj kulture *Botrytis cinerea* na hranjivoj podlozi

Prije postavljanja pokusa je bilo potrebno iz pohranjene kulture uzgojiti aktivnu kulturu *Botrytis cinerea* na hranjivoj podlozi. Za uzgoj je korišten krumpir dekstrozni agar (PDA).



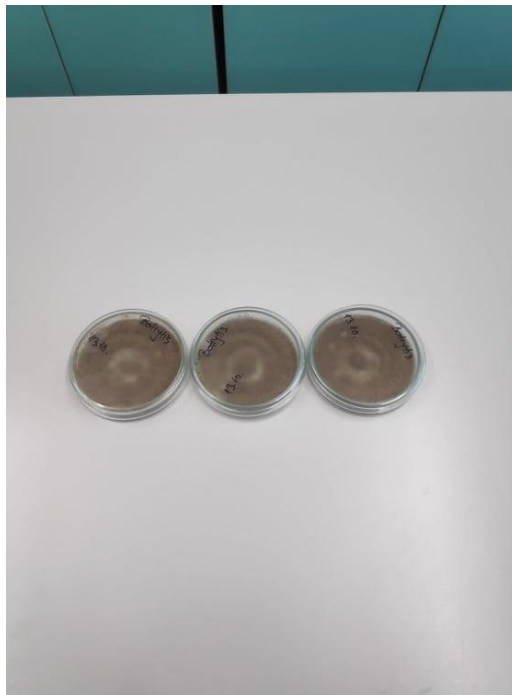
Slika 6. Pohranjeni uzorak *Botrytis cinerea*

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Sam proces nacjepljivanja se obavljao u laminariju čija je površina prethodno detaljno dezinficirana. Za obavljanje nacjepljivanja je bilo potrebno pripremiti Petrijeve zdjelice gdje se nalazi hranjiva podloga u kojima će se razvijati kultura. Steriliziranom iglom smo izvadili gljivu iz bočice i premjestili na hranjivu podlogu (PDA) gdje je uzgajana kroz 14 dana na temperaturi od 20 °C.

3.1.2. Priprema inokulata od *Botrytis cinerea*

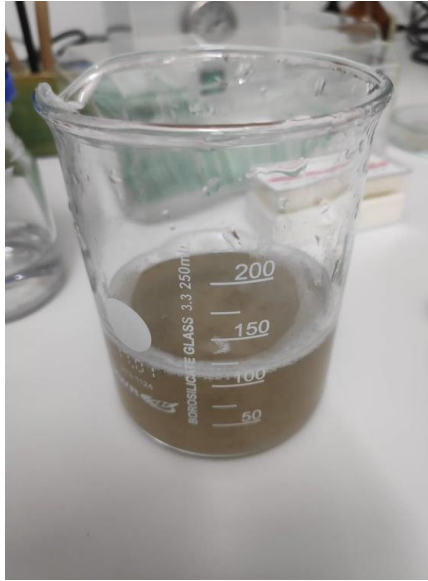
Kultura *Botrytis cinerea* na hranjivoj podlozi (Slika 7.) je korištena za pripremu inokulata koji će biti ucjepljen u rajčice.



Slika 7. Uzgojena kultura *Botrytis cinerea* na hranjivoj podlozi (PDA)

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Uzeli smo Petrijeve zdjelice i odnijeli u laminariju gdje smo pažljivo sastrugali micelij te uzeli spore steriliziranim skalpelom koje smo zatim prenijeli u laboratorijsku čašu ispunjenu sterilnom vodom. Kada se u čaši nakupilo dovoljno spora, dobili smo suspenziju. U suspenziju smo dodali Tween 80 (Slika 8.) koji služi kao raspršivač spora tj. ne da sporama da se “drže” zajedno. Zatim smo suspenziju stavili u multipraktik na miješanje (Slika 9.).



Slika 8. Suspenzija spora sa dodatkom Tween 80

(autor: Luka Šivak, 2020.)



Slika 9. Homogeniziranje inokulata

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Suspenziju smo prenijeli u Neubauer hemocitometar (Slika 10.) kako bi se pod mikroskopom odredila željena koncentracija spora ($5 \times 10^6/\text{ml}$) koja će se rabiti kao inokulat prilikom cijepljenja rajčice. Hemocitometar se koristi za brojanje raznih mikročestica ili mikroorganizama. Inače prvotna namjena mu je bila za brojanje krvnih zrnaca, ali se i koristi za brojanje spora.



Slika 10. Prenosjenje suspenzije u Neubauer hemocitometar

(autor: Luka Šivak, 2020.)



Slika 11. Konidiofori i konidije *Botrytis cinerea* pod mikroskopom

(autor: Zavod za fitomedicinu, 2020.)

Dobivena koncentracija spora iznosila je $4,45 \times 10^7$ /ml. Stoga je tu koncentraciju bilo potrebno razrijediti na traženu od 5×10^6 /ml. Za 20 ml željenog inokulata je bilo potrebno pomiješati 17,76 ml sterilne vode i 2,24 ml suspenzije spora (Slika 12.).



Slika 12. Željena koncentracija inokulata u menzuri

(autor: Luka Šivak, 2020.)

3.1.3. Priprema rajčica za umjetnu infekciju

Prije svega odvojili smo nepravilne, mehanički oštećene i „na oko“ vidljivo bolesne rajčice te su odabrane one zrele i najzdravije, izgledom i veličinom dosta slične. Dakle, odabrali smo 24 rajčice koje smo prvo lagano oprali pod mlazom vode iz slavine te su dezinficirane sa 70 %-nim alkoholom (trideset sekundi), isprane u destiliranoj vodi (jedna minuta) (Slika 13.) i zatim stavljene na papirnatu podlogu gdje su se sušile na sobnoj temperaturi.



Slika 13. Sterilna voda, destilirana voda i 70%-ni alkohol

(autor: Luka Šivak, 2020.)

3.1.4. Inokulacija rajčica

Prije umjetne infekcije smo načinili mehanička oštećenja na rajčici u koje će se ubrizgavati inokulat. Sa sterilnom iglom smo napravili male rupice na rajčici dubine i promjera oko dva milimetra (Slika 14.).



Slika 14. Mehaničko oštećivanje rajčice sterilnom iglom

(autor: Luka Šivak, 2020.)

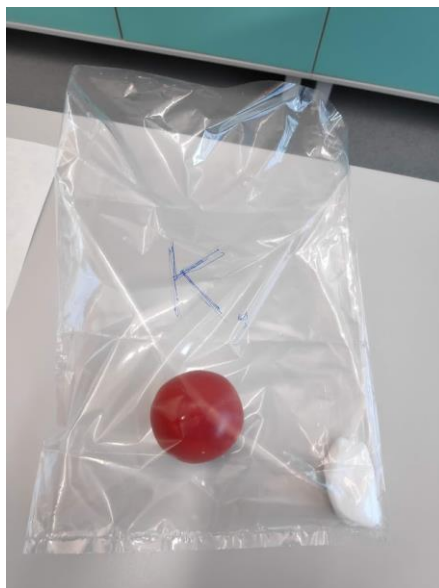
Zatim smo rajčice umjetno inficirali sa već ranije pripremljenom suspenzijom spora *Botrytis cinerea* (Slika 15.).



Slika 15. Ubrizgavanje inokulata *Botrytis cinerea* u plod rajčice

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Nakon inokulacije smo svaku rajčicu stavili u prethodno označenu plastičnu vrećicu sa komadićem navlažene vate kako bi se održala vlažnost samog ploda (Slika 16.)



Slika 16. Rajčica smještena u plastičnu vrećicu

(autor: Luka Šivak, 2020.)

3.1.5. Opis i priprema prirodnih enzima

Prirodni enzim (Slika 17.) iz braniteljske zadruga se prodaje u komercijalne svrhe i cilj ovog istraživanja je ispitati njegovu učinkovitost u suzbijanju *Botrytis cinerea*. Dalje u ovom istraživanju proizvod se spominje pod nazivom „komercijalni“.



Slika 17. Prirodni enzim iz „BZ Arka naša“

(izvor: <https://prirodnienzim.com>)

U istraživanju smo koristili i enzim koji smo sami priredili na bazi otpadaka različitog voća i povrća (900 g) koji bi u konačnici trebao imati slično djelovanje originalnom tj. komercijalnom proizvodu. Ovaj proizvod, u daljnjem tekstu pod nazivom „domaći“, je korišten u istraživanju paralelno uz komercijalni kako bi se provjerile moguće efikasnosti oba proizvoda na razvoj sive plijesni.

Oba enzima su se koristila na isti način, špricanjem po plodu (kurativno) u omjerima 1:20 (Slika 18.), kako proizvođač navodi ako se bolest već pojavila. Na 190 ml vode ide 10 ml enzima. Prije miješanja sa vodom enzime smo procijedili kroz tanku gazu kako bi se odbacio sav mogući talog koji bi mogao zablokirati raspršivač prilikom apliciranja enzima na rajčice.



Slika 18. Otopine enzima u omjeru 1:20 zajedno sa suspenzijom spora *Botrytis cinerea*

(autor: Luka Šivak, 2020.)

3.1.6. Tretiranje plodova rajčice s prirodnim enzimima

U četiri skupine smo smjestili po šest plodova za svaki od sljedećih pokusa koje su špricane prirodnim enzimom po mjestu oštećenja odmah nakon inokulacije te naknadno svaki dan poslije, kako bi uvidjeli značaj prirodnog enzima na razvoj sive plijesni.

Tretmani:

- (B) 15 μ l *Botrytis cinerea* – špricano vodom,
- (KOM) 15 μ l *Botrytis cinerea* – špricano komercijalnim enzimom u omjeru 1:20,
- (DOM) 15 μ l *Botrytis cinerea* – špricano domaćim enzimom u omjeru 1:20,
- (K) kontrola – sterilnom iglom mehanički oštećena rajčica špricana vodom (bez inokulata).

Drugog dana od postavljanja pokusa zbog prevelike vlage unutar plastične vrećice smo odlučili plodove premjestiti na Petrijeve zdjelice. Sljedećih nekoliko dana smo pratili promjene na rajčicama i redovno špricali plodove (prirodni enzim ili voda) zavisno o pokusnoj grupi u kojoj su se nalazile.

3.2. Postavljanje drugog pokusa

U drugom pokusu smo odlučili koristiti više plodova rajčice (20 komada po tretmanu), kupljenih na različitim mjestima, jer smo nastojali ispitati djelotvornost enzima kroz još nekoliko pokusnih skupina pripremljenih prema drugačijoj metodi u odnosu na prvi pokus.

Priprema pokusa je trajala identično prethodnom gdje smo prvo oprali rajčice te smo ih zatim dezinficirali i stavili na sušenje (detaljan postupak pripreme se nalazi u prvom pokusu). Dok su se rajčice sušile na sobnoj temperaturi krenuli smo sa označavanjem Petrijevih zdjelica te s pravljenjem rasporeda za nove pokusne grupe. Kada su se plodovi osušili, raspodijelili smo ih u zdjelice i na svakom plodu sterilnom iglom napravili mehanička oštećenja u obliku malih rupica dubine i promjera dva milimetra.

Za razliku od prvog puta, ovaj put smo odlučili inokulaciju raditi na način da se u rupice prvo ubrizga prirodni enzim 30 μl pa se tek nakon dva sata inokulira sa suspenzijom spora *Botrytis cinerea* 15 μl iste koncentracije od $5 \times 10^6/\text{ml}$ kao u prvom pokusu. Za prirodne enzime je važno spomenuti da smo ovaj put uz razrijeđeni omjer 1:20 i koristili originalni omjer 1:10 izravno iz boce. Također smo imali i kontrolne skupine u koje smo nakon enzima ubrizgavali 15 μl vode.

Tretmani su bili sljedeći:

- (Dr) domaći prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:20 + 15 μl vode,
- (Kr) komercijalni prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:20 + 15 μl vode,
- (Drg) domaći prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:20 + 15 μl *Botrytis cinerea*,
- (Krg) komercijalni prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:20 + 15 μl *Botrytis cinerea*,
- (Dog) domaći prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:10 + 15 μl *Botrytis cinerea*,
- (Kog) komercijalni prirodni enzim 30 μl u omjeru 1:10 + 15 μl *Botrytis cinerea*,
- (Kg) 30 μl vode + 15 μl *Botrytis cinerea*.

U prethodnom pokusu smo rajčice držali u laboratoriju pokraj prozora na sobnoj temperaturi. Dok smo se u ovom pokusu odlučili za držanje u kontroliranim uvjetima u ispitnoj klima komori (Slika 19.) koju smo namjestili da radi neprestano od 0 – 24 sata pri temperaturi od 24 °C i vlažnosti od 75 %. Sljedećih sedam dana su rajčice bile unutar komore gdje smo u nekoliko navrata promatrali i bilježili promjene te isto kao i u prvom pokusu kurativno špricali plodove odgovarajućim prirodnim enzimima ili vodom zavisno o pokusnoj grupi.



Slika 19. Plodovi rajčice u ispitnoj klima komori

(autor: Luka Šivak, 2020.)

4. REZULTATI

4.1. Rezultati prvog pokusa

Prvi pregled rajčica je uslijedio nakon 24 sata od postavljanja pokusa i niti na jednom plodu iz pokusnih grupa B, KOM, DOM i K nije bilo promjena.

4.1.1. Prvo mjerenje promjera lezija u prvom pokusu

Već nakon 48 sati smo počeli uočavati prve znakove promjena na plodovima rajčica u obliku stvaranja blagih lezija na mjestu infekcije kod pokusnih grupa B, KOM i DOM, dok je K očekivano ostala nepromijenjena. Također kod istih skupina je tkivo ploda dosta omekšalo i došlo je do vidljive promjene u boji, odnosno tamnjenja tkiva oko mjesta inokulacije. Na istom mjestu se kod nekih plodova može i primijetiti blago raspucavanje tkiva.



Slika 20. Plodovi nakon 48 sati od postavljanja prvog pokusa

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Nakon mjerenja promjera lezija smo odlučili plodove premjestiti iz plastičnih vrećica u Petrijeve zdjelice zbog velike vlage koja se stvarala u vrećicama. Plodove smo zatim poprskali prirodnim enzimima i vodom te pričekali do sutra za nove rezultate.

Tablica 1. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 48 sati u prvom pokusu

TRETMAN	PROSJECI PROMJERA LEZIJA (cm)
B	0,78
KOM	0,96
DOM	0,98
K	0

4.1.2. Drugo mjerenje promjera lezija u prvom pokusu

Poslije 72 sata mogli smo primijetiti kako su se lezije proširile u predjelu inokulacije kod svih pokusnih grupa, osim K kod koje nema promjene. Također po prvi puta, kod određenih plodova, su vidljivi sporodohiji gljive uslijed pojave sporulacije na mjestima umjetne infekcije. Tkivo postaje mekanije i dolazi do jačeg raspucavanja istoga kod plodova kod kojih je proces već započeo, dok kod nekih plodova tek započinje, oko područja punkcije.



Slika 21. Plodovi nakon 72 sata od postavljanja prvog pokusa

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Uobičajeno, nakon mjerenja promjera lezija, plodove smo poprskali njihovim enzimima/vodom te smo sljedeće mjerenje i pregled izvršili tek poslije dva dana jer je uslijedio vikend.

Tablica 2. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 72 sata u prvom pokusu

TRETMAN	PROSJECI PROMJERA LEZIJA (cm)
B	2,27
KOM	2,06
DOM	1,82
K	0

4.1.3. Treće mjerenje promjera lezija u prvom pokusu

Treće i posljednje mjerenje promjera lezija koje su se ovaj put drastično proširile opet u svim pokusnim grupama, osim K. Izgled plodova je također znatno promijenjen u predjelu infekcije gdje je u većini slučajeva siva plijesan zahvatila skoro 1/3 obujma rajčice. Tkivo je izrazito mekano i vodenasto te se micelij gljive značajno proširio unutar rajčice.



Slika 22. Plodovi nakon 144 sata od postavljanja prvog pokusa

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Ovo je bio sedmi dan od kada smo postavili pokus i počeli s kurativnim tretiranjem prirodnim enzimima. Taj dan smo odlučili stati s ovim dijelom eksperimenta jer nismo vidjeli nikakvih znakova poboljšanja nakon tretiranja prskanjem po plodovima. Stoga smo donijeli odluku da započnemo novi pokus čiji bi pristup trebao biti sličan, a opet malo drugačiji, u nadi da će se ovaj put enzimi pokazati efikasnijima.

Tablica 3. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 144 sata u prvom pokusu

TRETMAN	PROSJECI PROMJERA LEZIJA (cm)
B	3,47
KOM	4,64
DOM	4,97
K	0

4.1.4. Značajnost utjecaja tretmana na promjer lezija u prvom pokusu

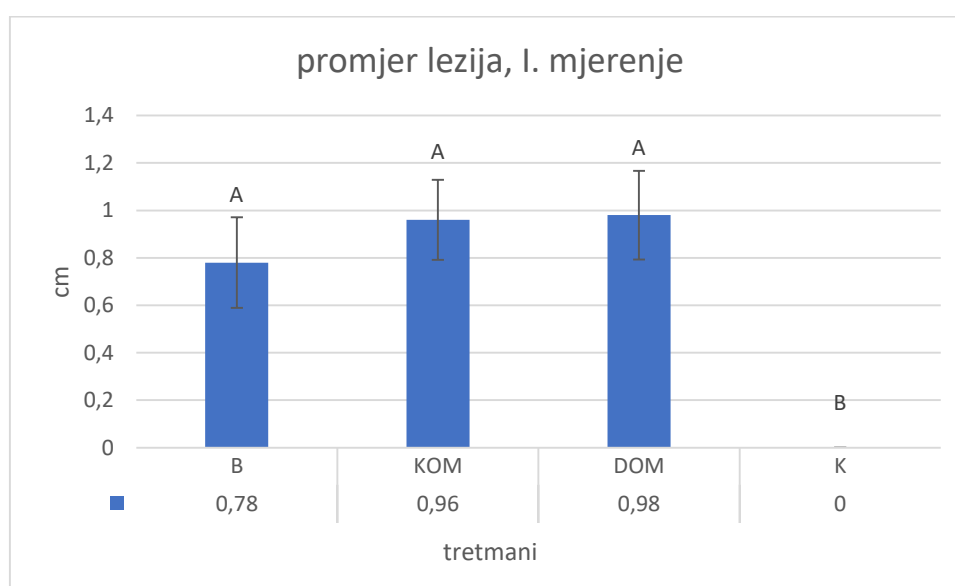
U našem slučaju statistička obrada podataka je obavljena prema Fisher's least significant difference (LSD) postupku, „Fisherov postupak s najmanje značajnom razlikom“ (LSD).

Proučavani tretmani u prvom pokusu pokazali su značajan utjecaj na promjer lezija pri prvom, drugom te trećem mjerenju (Tablica 4.)

Tablica 4. Značajnost utjecaja tretmana u prvom pokusu

	prvo mjerenje		drugo mjerenje		treće mjerenje	
	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F
tretmani	8,61	0,0007	16,58	<.0001	27,17	<.0001

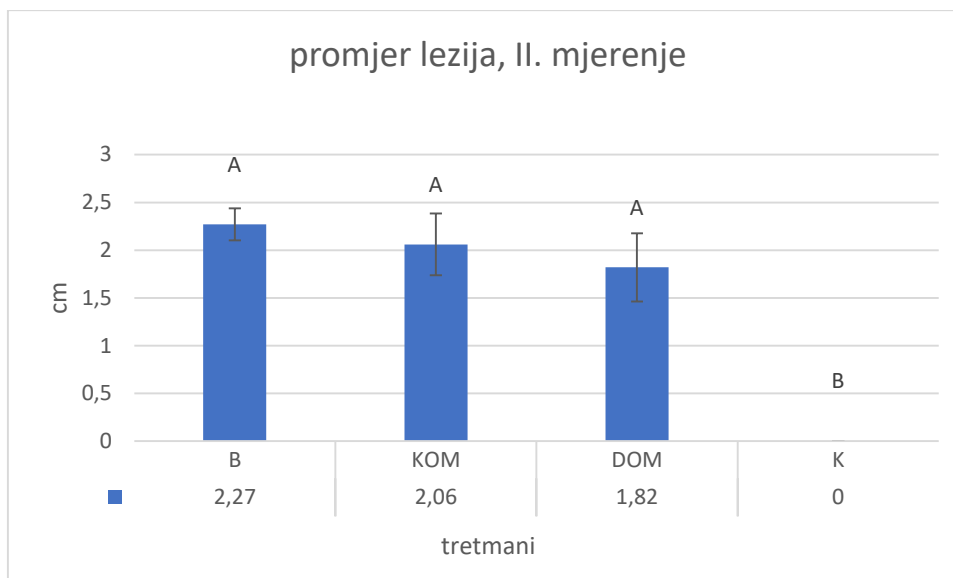
Tretmani su, po ukupnom prosjeku prvog mjerenja, imali značajan utjecaj na promjer lezija. Najveći promjer lezija zabilježen je u tretmanu DOM te zatim redom slijede tretmani KOM i B, dok se u tretmanu K lezije nisu očitovale (Grafikon 1.).



Značajne razlike između tretmana označene su različitim slovima prema LSD testu ($P \leq 0,05$).

Grafikon 1. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom prvog mjerenja u prvom pokusu

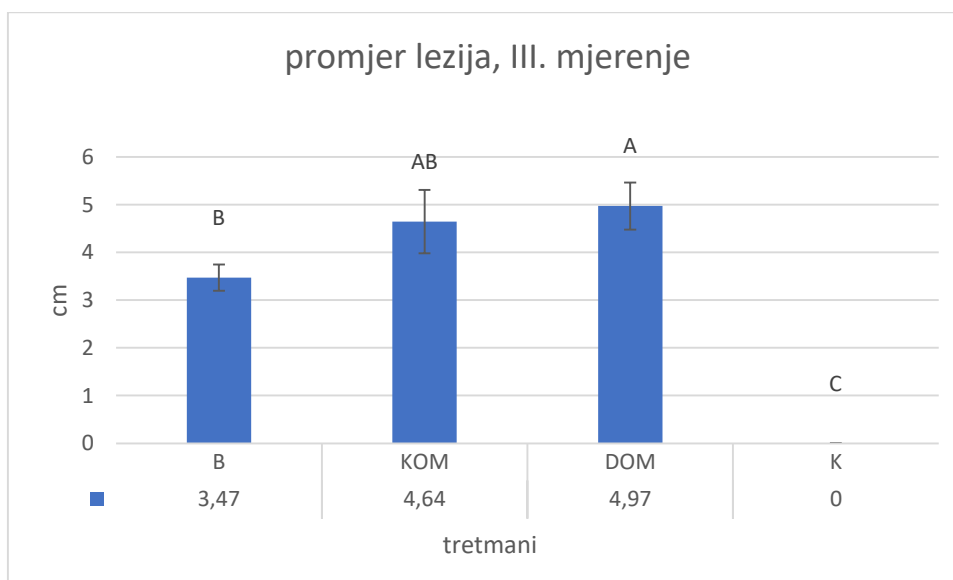
Tretmani su, po ukupnom prosjeku drugog mjerenja, imali značajan utjecaj na promjer lezija. Najveći promjer lezija zabilježen je u tretmanu B te zatim redom slijede tretmani KOM i DOM, dok se u tretmanu K lezije nisu očitovale (Grafikon 2.).



Značajne razlike između tretmana označene su različitim slovima prema LSD testu ($P \leq 0,05$).

Grafikon 2. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom drugog mjerenja u prvom pokusu

Tretmani su, po ukupnom prosjeku trećeg mjerenja, imali značajan utjecaj na promjer lezija. Najveći promjer lezija zabilježen je u tretmanu DOM te zatim redom slijede tretmani KOM i B, dok se u tretmanu K lezije nisu očitovale (Grafikon 3.).



Značajne razlike između tretmana označene su različitim slovima prema LSD testu ($P \leq 0,05$).

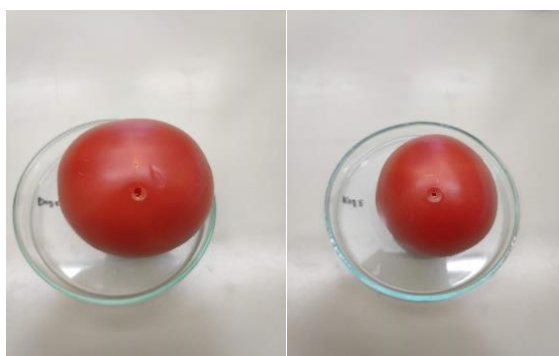
Grafikon 3. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom trećeg mjerenja u prvom pokusu

4.2. Rezultati drugog pokusa

U prvom pregledu nakon 24 sata nismo primijetili nikakve znakove promjene u pokusnim grupama Dr, Kr, Drg, Krg, Dog i Kog. Taj dan smo odlučili napraviti i još jednu grupu (Kg) u čije smo plodove prvo ubrizgali 30 μ l vode, a nakon dva sata 15 μ l suspenzije *Botrytis cinerea*.

4.2.1. Prvo mjerenje promjera lezija u drugom pokusu

Nakon 48 sati počinjemo primjećivati prve promjene samo na nekim od plodova, konkretno iz pokusnih grupa Dog i Kog gdje je došlo do pojavljivanja malih ulegnuća oko mjesta inokulacije. Ostale grupe su i dalje bez ikakvih promjena.



Slika 23. Plodovi u pokusnim grupama Dog i Kog

(autor: Luka Šivak, 2020.)



Slika 24. Plodovi u pokusnim grupama Dr, Kr, Drg, Krg i Kg

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Obavili smo mjerenja na plodovima koji su pokazali prve promjene te smo ih sve pošpricali enzimom/vodom, zavisno od grupe u kojima su se nalazile.

Tablica 5. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 48 sati u drugom pokusu

TRETMAN	PROSJECI PROMJERA LEZIJA (cm)
Dr	0
Kr	0
Drg	0
Krg	0
Dog	0,6
Kog	0,58
Kg	0

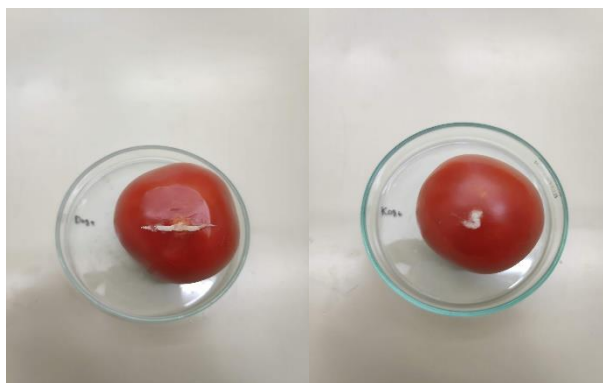
4.2.2. Drugo mjerenje promjera lezija u drugom pokusu

Šesti dan u pokusnim grupama Dr i Kr su svi plodovi očekivano ostali nepromijenjeni. Dog i Kog su imali značajne promjene u vidu proširenja promjera lezija i pojave micelija na mjestu inokulacije kod većine plodova. Grupe Drg i Krg su pokazale zanimljive rezultate. Za razliku od prošlog mjerenja ipak je došlo do pojave lezija kod većine plodova. Kod nekih je plodova došlo i do pojave micelija te vidljivog raspucavanja tkiva oko mjesta infekcije. Interesantno je to da čak sedam plodova iz grupe Drg i tri ploda iz grupe Krg nisu pokazale simptome bolesti, barem prema onom što se „golim okom“ moglo vidjeti izvana.



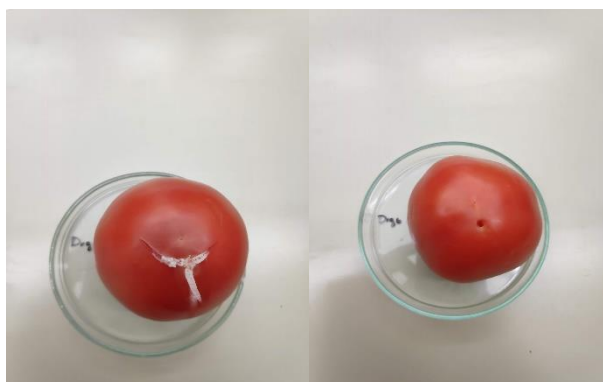
Slika 25. Plodovi u pokusnim grupama Dr i Kr nepromijenjeni

(autor: Luka Šivak, 2020.)



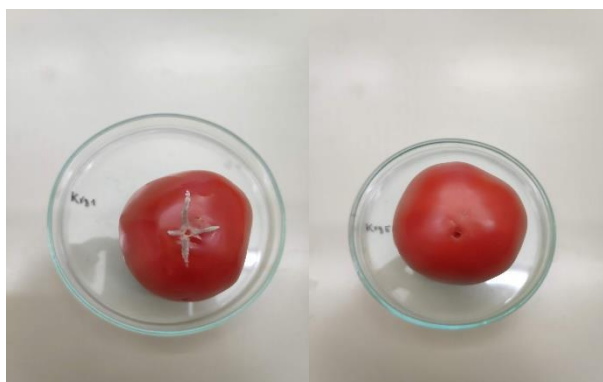
Slika 26. Oboljeli plodovi u pokusnim grupama Dog i Kog

(autor: Luka Šivak, 2020.)



Slika 27. Pokusna grupa Drg sa primjerom ploda koji je obolio i onoga koji nije

(autor: Luka Šivak, 2020.)



Slika 28. Pokusna grupa Krg sa primjerom ploda koji je obolio i onoga koji nije

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Izmjerali smo promjere lezija te smo taj dan odlučili odbaciti većinu pokusnih grupa jer se bolest ipak očitovala na većini plodova koji su bili umjetno inficirani.

Tablica 6. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 120 sati u drugom pokusu

TRETMAN	PROSJECI PROMJERA LEZIJA (cm)
Dr	0
Kr	0
Drg	1,32
Krg	2,37
Dog	2,99
Kog	3,39
Kg	1,83

Prilikom drugog promatranja i mjerenja pokusne grupe Kg svi plodovi su pokazali simptome sive plijesni.



Slika 29. Pokusna grupa Kg

(autor: Luka Šivak, 2020.)

Dan poslije, preostali plodovi su se očitovali još intenzivnijim simptomima za razliku od jučerašnjeg promatranja.

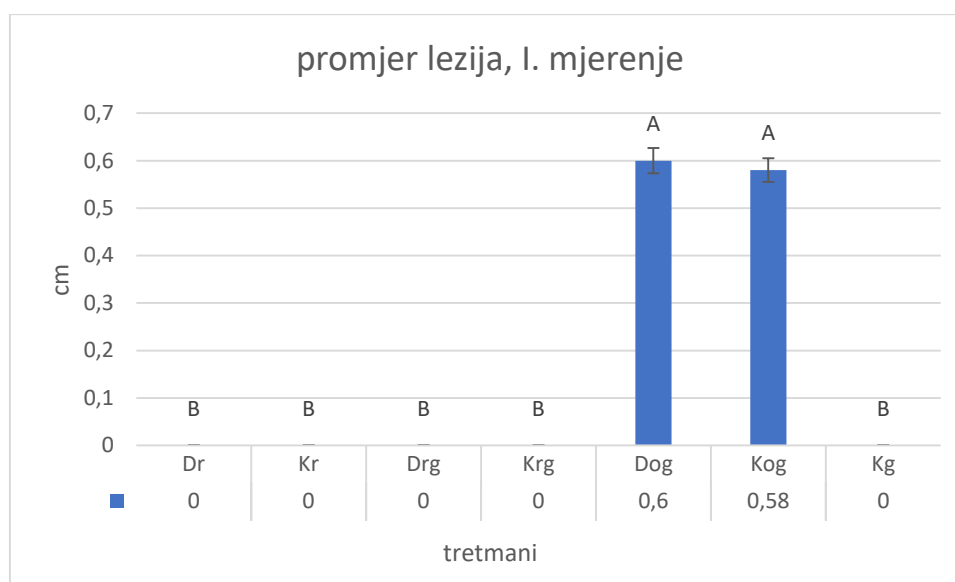
4.2.3. Značajnost utjecaja tretmana na promjer lezija u drugom pokusu

Proučavani tretmani u drugom pokusu pokazali su također značajan utjecaj na promjer lezija pri prvom i drugom mjerenju (Tablica 7.)

Tablica 7. Značajnost utjecaja tretmana u drugom pokusu

	prvo mjerenje		drugo mjerenje	
	F vrijednost	Pr > F	F vrijednost	Pr > F
tretmani	596,78	<.0001	7,77	<.0001

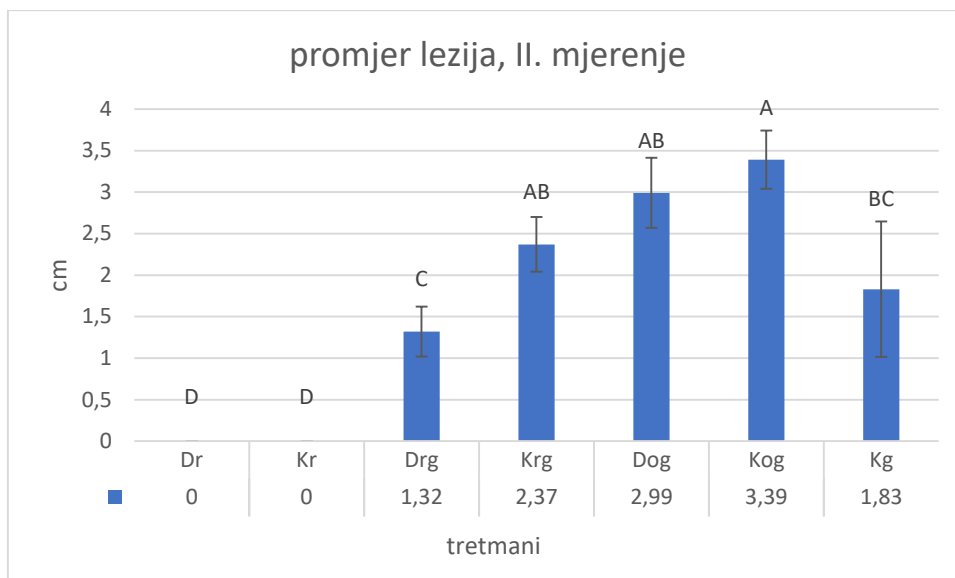
Tretmani su, po ukupnom prosjeku prvog mjerenja, imali značajan utjecaj na promjer lezija. Najveći promjer lezija zabilježen je u tretmanu Dog te zatim u tretmanu Kog, dok se u tretmanima Dr, Kr, Drg, Krg i Kg nisu očitovale lezije (Grafikon 4.).



Značajne razlike između tretmana označene su različitim slovima prema LSD testu ($P \leq 0,05$).

Grafikon 4. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom prvog mjerenja u drugom pokusu

Tretmani su, po ukupnom prosjeku drugog mjerenja, imali značajan utjecaj na promjer lezija. Najveći promjer lezija zabilježen je u tretmanu Kog te zatim redom slijede tretmani Dog, Krg, Kg i Drg; dok se u tretmanima Dr i Kr nisu očitovale lezije (Grafikon 5.).



Značajne razlike između tretmana označene su različitim slovima prema LSD testu ($P \leq 0,05$).

Grafikon 5. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom drugog mjerenja u drugom pokusu

5. RASPRAVA

Jedna od najznačajnijih posliježetvenih bolesti rajčice je siva plijesan. Uzročnik bolesti *Botrytis cinerea* ima dva životna ciklusa (spolni i nespolni), a nespolni tip je taj koji u proizvodnji rajčice čini velike štete. U fazi nespolnog stadija se stvara veliki broj konidija na konidioforima koje inficiraju plodove rajčice te na taj način uzrokuju njihovo propadanje. Visoka relativna vlažnost zraka (90 %) i povoljne temperature (15 – 20 °C) su od izrazitog značaja za pojavljivanje i infekciju ovom gljivom (Grgić, 2016.).

Znanstvenici su određenim istraživanjima otkrili kako je razvoj *Botrytis cinerea* zapravo dosta kompleksniji nego što se mislilo. Grgić (2016.) navodi: „Razvoj bolesti regulira se tijekom infekcije, a gljiva stvara razvojne prilagodbe koje odgovaraju razvojnom stadiju infekcije. Infekcije ovom gljivom su dinamične, to jest odvijaju se značajne modulacije prema povratnoj reakciji biljke domaćina na infekciju.“ Naime ovaj parazit ima sposobnost ubrzati zrenje rajčica, iz razloga što može svoj razvoj prilagoditi potrebama infekcije zbog mogućnosti interakcije sa domaćinom, odnosno biljkom. Vrste koje imaju takvu sposobnost prilagodbe predstavljaju opasnost na način da stvaraju povoljne uvjete za napad nekih drugih bolesti ili će razviti otpornost na zaštitne mjere (Fillinger i Elad, 2015.)

U prirodi je patogena *Botrytis cinerea* jako teško za kontrolirati jer može inficirati veliki broj različitih biljnih vrsta, ima razne načine napada i ima odličnu sposobnost preživljavanja kao micelij ili konidija te na dulje vrijeme može preživjeti kao sklerocija. Upravo zbog razloga njegove izvanredne prilagodbe, uporaba bilo koje pojedinačne mjere zaštite će imati jako slabe učinke. Izrazito je važno dobro se educirati prije nego se poduzmu bilo kakve mjere prilikom suzbijanja ovog patogena. Potrebno je dobro poznavati interakciju između domaćina i patogena te najvažnije okruženje u kojem ova gljiva djeluje kao i njenih konkurentskih patogenih mikroorganizama (Williamson i sur., 2007.).

Preventivne mjere koje se najčešće poduzimaju prilikom suzbijanja sive plijesni su: održavanje pravilne higijene u zaštićenom prostoru, sterilizacija tla i komposta, upotreba otpornih (autohtonih) sorti, optimalan sklop biljaka, pravilna gnojidba, oprezno i pravovremeno navodnjavanje, obavezno prozračivanje i održavanje relativne vlažnosti zraka ispod 80 %, pinciranje i uklanjanje zaraženih biljnih ostataka (Jovićević i sur., 2006.).

Prilikom zaštite mogu se koristiti i fungicidi (botriticidi) iz više kemijskih skupina na bazi različitih djelatnih tvari koji imaju drugačiji način djelovanja kako bi se spriječila pojava rezistentnosti gljive. Pyrus 400 SC je fungicid iz skupine anilinopirimidina na bazi djelatne tvari *pirimetanil*, a može se koristiti tri puta tijekom vegetacije. Teldor SC 500 je fungicid iz skupine hidroksianilida na bazi djelatne tvari *fenheksamida*, a najčešće se koristit prilikom uzgoja rajčice na otvorenom. Fungicidi Driza WG i Sabuesco su iz skupine dikarboksimida na bazi djelatne tvari *iprodion*. Prvi je namijenjen za zaštitu rajčica na otvorenom, dok se drugi može primjenjivati i u otvorenom (jednom tijekom vegetacije) i u zatvorenom (do tri puta u vegetaciji) tipu proizvodnje rajčice. Također postoje i fungicidi koji su bazirani na dvije djelatne tvari, a to su fungicid Switch 62,5 WG (*fludioksonil* i *ciprodinil*) te fungicid Signum (*piraklostrobin* i *boskalid*). Oba se mogu koristiti i u zatvorenom i u otvorenom tipu uzgoja rajčice (Miličević, 2016.)

Za suzbijanje štetnih patogena se najviše koriste sintetički fungicidi jer doprinose kvaliteti te povećanom prinosu kulture. Usprkos tome, njihova primjena se pokušava smanjiti ili skroz izbaciti zbog negativnog utjecaja po okoliš, a i zbog sve veće pojave rezistentnosti uzročnika bolesti (Grgić, 2016).

Postoje mnogi preparati na bazi prirodnih sastojaka ili korisnih mikroorganizama koji mogu biti alternativna zamjena kemijskim preparatima prilikom zaštite rajčice.

Kao što je već ranije navedeno u radu, ekološki poljoprivrednici u Hrvatskoj prilikom borbe sa gljivičnim patogenima koriste zaštitna sredstva na prirodnoj bazi, a posebno biofungicide gdje određeni korisni mikroorganizmi postižu dobre rezultate, najčešće u vidu preventivne zaštite. Oni djeluju antagonistički na patogena produktima svoga metabolizma (antibiotici, toksini, hormoni, spore) kao i kompeticijom u borbi za prostor i hranjiva (Grahovac i sur., 2009.).

Od učinkovitih prirodnih mikroorganizama koji su uspješni u suzbijanju *Botrytis cinerea*, Ivić i Cvjetković (2021.) navode *Bacillus amyloliquefaciens*. Već desetljećima je poznato kako nekoliko vrsta bakterija iz roda *Bacillus* imaju vrlo efektivno djelovanje u borbi protiv patogena na biljkama. Pojedini sojevi *Bacillus amyloliquefaciens* (*B. subtilis*) se posebno ističu. Oni su uglavnom izolirani iz rizosfere ili filofere biljaka, a mogu djelovati na nekoliko načina. Kompeticija je jedan od glavnih načina kojom se ova bakterija nastoji izboriti s patogenim organizmima oduzimajući im hranjiva i prostor na biljnim organima. Također procesom antibioze proizvodi određene spojeve kao što su na primjer lipopeptidi koji imaju toksično djelovanje na patogene gljive. Ona nema toliko značajno kurativno djelovanje, već preventivno kao i većina bioloških fungicida koji za suzbijanje fitopatogenih gljiva koriste mikroorganizme.

Gao i sur. (2018.) u svom istraživanju, na temelju molekularne detekcije te morfoloških i biokemijskih karakteristika, su iz zdrave biljke rajčice identificirali i izolirali novi soj bakterije *Pseudomonas* koji su nazvali QBA5. Određenim testovima i eksperimentima su potvrdili da klijanje konidija i rast micelija u prisutnosti QBA5 postaju znatno inhibirani. Također su otkrili da QBA5 djeluje destruktivno na membranu konidija, to jest ona postaje ozbiljno oštećena. Sveukupno podatci pokazuju da postoji značajan potencijal za QBA5 kao izvrsnog preventivnog, ali i kurativnog zaštitnog sredstva prilikom zaštite rajčice od sive plijesni kako za plodove, tako i za čitavu biljku.

U ekološkom uzgoju rajčice, sivu plijesan je dosta teško kontrolirati pogotovo ako se već pojavila jer njenog uzročnika *Botrytis cinerea* odlikuje značajna genetska varijabilnost te reproduktivni kapacitet (<https://hr.house-tips.net>).

Ahmed i sur. (2016.) su odlučili ispitati hipotezu da će se inhibicijom klijavosti konidija *Botrytis cinerea* pomoću određenih prirodnih ekstrakata znatno smanjiti posliježetveni gubitci rajčice. Kroz razna ispitivanja su došli do zaključka da određeni ekstrakti dvije vrste čili papričica *Capsicum chinense* cv. Datil i *Capsicum annuum* cv. Carnival pri koncentracijama od 40 % inhibiraju klijavost spora na način da uzrokuju njihovu oksidaciju i razaranje stanica. Tim ispitivanjem su potvrdili svoju hipotezu. Ova dva potpuna prirodna preparata mogu biti dobra alternativa sintetičkim fungicidima jer špricanjem po plodu mogu djelovati kao zaštita rajčice preventivno, ali i što je najvažnije kurativno od uzročnika sive plijesni.

Grgić (2016.) je ispitao djelotvornost 22 različita eterična ulja na rast micelija *Botrytis cinerea*. On navodi: „Pokus je proveden u *in vitro* uvjetima na KDA podlozi u 2 ponavljanja. Ulja su primijenjena u tri količine (3, 5 i 7 μ l), a porast micelija mjeren je 4 puta tijekom 12 dana (svaka tri dana jedno mjerenje).“ Najboljim, to jest potencijalnim alternativnim zaštitnim sredstvima su se pokazali ulja timijana i đumbira. Ulje timijana je naročito pokazalo svoj izuzetan antifungalni učinak, odnosno imalo je najveću zonu inhibicije.

Jedan tip ekoloških zaštitnih preparata su i prirodni enzimi koji se mogu lako pripremiti sa sastojcima koji se svakodnevno koriste u domaćinstvu. Tijekom našeg istraživanja smo koristili vlastiti prirodni enzim pripremljen na bazi otpadaka različitog voća i povrća, ali paralelno uz njega smo i koristili „Prirodni enzim“ iz „BZ Arka naša“ koji je također baziran na ostacima, to jest korama voća i povrća; na vodi te melasi i šećeru.

Ovaj rad ne pokušava umanjiti generalna djelovanja i koristi prirodnih enzima, a još manje komercijalnog enzima iz braniteljske zadruge „Arka naša“, ali se nažalost oba enzima nisu pokazala djelotvorna konkretno za suzbijanje *Botrytis cinerea* na rajčici prema metodama koje smo koristili u našim eksperimentima.

6. ZAKLJUČAK

Siva plijesan je jedna od najznačajnijih posliježetvenih bolesti rajčice. U kontroli ovog patogena koriste se različite strategije.

Cilj ovog rada je bio utvrditi djelotvornost prirodnog enzima u suzbijanju *Botrytis cinerea* na umjetno zaraženim plodovima rajčice.

On se nije pokazao djelotvornim prema metodama koje smo koristili u našim dvama eksperimentima. Ipak smo našim pokusima napravili savršene uvjete za razvoj bolesti. Uz to, plodovi nisu bili u svom prirodnom okruženju, niti na stabljikama gdje biljka može reagirati vlastitom obranom protiv patogena (inducirana otpornost).

7. POPIS LITERATURE

- Ali Ahmed, F., Sipes, B.S., Alvarez, A. M. (2016): Natural Products to Control Postharvest Gray Mold of Tomato Fruit – Possible Mechanisms; Research article; Department of Plant and Environmental Protection Sciences; J Plant Pathol Microbiol 7: 367
- Bahadur Bhandari, N., Bhattarai, D., Aryal, M. (2016.): Demand and Supply Situation of Tomato in Nepal; Government of Nepal, Ministry of Agriculture Development; Hariharbhawan, Lalitpur, 2072/2073
- Bergougnoux, V. (2013): The history of tomato: from domestication to biopharming; Biotechnol Adv.; 32(1):170–89
- Bogović, M. (2013): Uloga i značaj ekološke poljoprivrede; Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za stručnu podršku razvoju poljoprivrede i ribarstva; savjetodavna
- Ćosić, J., Jurković, D., Vrandečić, K. (2006): Praktikum iz fitopatologije; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; Poljoprivredni fakultet Osijek
- Ćosić, J. i Ilić, J. (2019): Okolišno prihvatljiva zaštita bilja; Okolišno prihvatljiva zaštita bilja od uzročnika bolesti; Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek; 15–27
- Fillinger, S. i Elad, Y. (2016.): Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems; Springer International Publishing Switzerland; p. 6
- Gao P., Qin J., Li D., Zhou S.. (2018.): Inhibitory effect and possible mechanism of a Pseudomonas strain QBA5 against gray mold on tomato leaves and fruits caused by Botrytis cinerea; Research article; PLoS ONE; 13(1)
- Gleason, M. L. i Edmunds, B. A. (2006.): Tomato diseases and disorders; Department of Plant Pathology; Iowa State University
- Grahovac, M., Inđić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009.): Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi; pregledni rad; Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za fitomedicinu i zaštitu životne sredine; 24(4), 245–258
- Grgić, I., Ivanković, M., Čagalj, M., Miličević, M. i Sušac Zrakić, M. (2019.): Ekološka poljoprivredna proizvodnja Hrvatske i turizam; prethodno priopćenje; Glasnik zaštite bilja, 42 (4); 8–13
- Grgić, S. (2016.): Antifungalno djelovanje eteričnih ulja na gljivu *Botrytis cinerea*; diplomski rad; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; Poljoprivredni fakultet Osijek
- Igre Barčić, J. i Maceljki, M. (2001): Ekološki prihvatljiva zaštita bilja od štetnika; Čakovec; Zrinski.
- Ivić, D. (2014.): Agrotehničke, mehaničke i fizikalne mjere u zaštiti bilja od bolesti; stručni rad; Glasilo biljne zaštite; Vol. 14 / Br. 5; 391–399

- Ivić, D. (2019.): Bakterijske i virusne bolesti rajčice i paprike u Hrvatskoj; stručni rad; Glasnik zaštite bilje; Br. 3; 34–42
- Ivić, D. i Cvjetković, B. (2021.): Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj – Fungicidi; stručni rad; Glasilo biljne zaštite; Vol. 21 / Br. 1–2; 212–214
- Ivšić Majić, D. i Vukša Nahod, P. (2017.): Paradajzi i pomidori – od rajske do zlatne jabuke; Odakle nam riječi?; hrvatski jezik, Br. 4
- Jones Benton, J. (1999.): Tomato plant culture: in the field, greenhouse, and home garden; CRC Press Library of Congress Cataloging
- Jovičević, D., Gvozdinović, Đ., Bugarški D. (2006.): Bolesti paprike i paradajza; stručni rad; "Zbornik radova", Sveska 42; Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad; 333–344
- Matotan, S. (2004.): Suvremena proizvodnja povrća; stručni priručnik; Nakladni zavod Globus, Zagreb
- Mešić, A., Pajač Živković, I., Židovec, V., Krasnić, M., Čajkulić, A. (2016.): Ekološka biljna proizvodnja u Hrvatskoj i njezino označavanje; pregledni članak; Glasilo biljne zaštite; Vol. 16 / Br. 6; 563–577
- Milašinović, S. (2020.): Hidroponski uzgoj rajčice; diplomski rad; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
- Miličević, T. (2016.): Siva plijesan rajčice (*Botrytis cinerea* Pers.); stručni rad; Glasilo biljne zaštite; Vol. 16 / Br. 5; 497–499
- Miličević, T. i Kaliterna, J. (2014.): Biološko suzbijanje bolesti kao dio integrirane zaštite bilja; stručni rad; Glasilo biljne zaštite; Vol. 14 / Br. 5; 410–415
- Muimba-Kankolongo, A. (2018.): Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa, Challenges and Opportunities for Improvement; Academic Press; 205–274
- Neeson, R. (2008.): Organic fruit production; Primefact 805; NSW Department of Primary Industries
- Nelson, Scot C. (2008.): Late blight of tomato (*Phytophthora infestans*); Honolulu (HI): University of Hawaii; 10 p. (Plant Disease; PD-45)
- Panthee, D. R., i Chen, F. (2010): Genomics of fungal disease resistance in tomato; Current genomics; 11(1), 30–39
- Parađiković, N. (2009.): Opće i specijalno povrćarstvo; Poljoprivredni fakultet, Osijek; 536 str.
- Pejnović, D., Ciganović, A., Valjak, V. (2012.): Ekološka poljoprivreda Hrvatske: problemi i mogućnosti razvoja; Izvorni znanstveni članak; Hrvatski geografski glasnik 74/1, 141–159

- Puđak, J. i Bokan, N. (2011.): Ekološka poljoprivreda – indikator društvenih vrednota; Institut za društvena istraživanja u Zagrebu; Sociologija i prostor; 137–163
- Renko, S. i Bošnjak, K. (2009.): Aktualno stanje i perspektive budućeg razvoja tržišta ekološke hrane u Hrvatskoj; ekonomski pregled; 60 (7–8) 369-395
- Sever, Z. i Cvjetković, B. (2016.): Venuća rajčice uzrokovana patogenim gljivama iz rodova *Verticillium* i *Fusarium*; stručni rad; Glasilo biljne zaštite; Vol. 16 / Br. 5; 505–508
- Šiljković, Ž. (2001.): Južna Europa u ostvarenju koncepta organske poljoprivrede; izvorni znanstveni članak; Geoadria, Zadar; Vol. 6; 93–112
- Znaor, D. (1996.): Ekološka poljoprivreda : poljoprivreda sutrašnjice; Nakladni zavod Globus, Zagreb
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., van Kan, J. A. L. (2007): Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease; Mol Plant Pathol; 8(5):561–80

Internetske stranice

- Agroklub (2021.): Odakle dolazi TOP 10 uzgajivača rajčica u Hrvatskoj?; <https://www.agroklub.com/povrcarstvo/odakle-dolazi-top-10-uzgajivaca-rajcica-u-hrvatskoj/68968/>; datum pristupa: 12.08.2021.
- Agroklub: Rajčica; <https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/rajcica-169/>; datum pristupa: 13.08.2021.
- Agroklub (2019.): Plamenjača rajčice: Kako spriječiti, liječiti i izliječiti; <https://www.agroklub.com/povrcarstvo/plamenjaca-rajcice-kako-sprijeciti-lijeciti-i-izlijeciti/50319/>; datum pristupa: 15.08.2021.
- Agroklub (2020.): Pilirano sjeme - novi trend u poljoprivredi; <https://www.agroklub.com/ratarstvo/pilirano-sjeme-novi-trend-u-poljoprivredi/57626/>; datum pristupa: 24.08.2021.
- Alternativa za vas: Fusarium wilt on tomatoes; [http://www.tomatodirt.com/fusarium-wilt.html#gallery\[pageGallery\]/0/](http://www.tomatodirt.com/fusarium-wilt.html#gallery[pageGallery]/0/); datum pristupa: 15.08.2021.
- American Phytopathological Society: Bio enzim, čudesno rješenje za čisti i ekološki dom; <https://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/bio-enzim>; datum pristupa: 30.08.2021.
- BioVRT – u skladu s prirodom (2013.): Bolesti rajčice; <https://www.bioVRT.com/bolesti-rajcice/>; datum pristupa: 15.08.2021.
- Bruce Watt, University of Maine: Septoria leaf spot (*Septoria lycopersici*); <https://www.weedimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5507223>; datum pristupa: 16.08.2021.

- Državni zavod za statistiku (2019.): Ekološka proizvodnja u 2018.; https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2019/01-01-19_01_2019.htm; datum pristupa: 23.08.2021.
- FiBL (2019.): The world of Organic Agriculture 2019; <https://www.fibl.org/en/shop-en/2020-organic-world-2019>; datum pristupa: 23.08.2021.
- Foodbevg: Prirodni enzim – čuvar doma i okoliša; <https://www.foodbevg.com/HR/Zagreb/1467618610183545/Prirodni-enzim---%C4%8Dugar-doma-i-okoli%C5%A1a>; datum pristupa: 30.08.2021.
- Hrvatska enciklopedija; Zaštita bilja; mrežno izdanje; Leksikografski zavod Miroslav Krleža <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=66933>; datum pristupa: 21.08.2021.
- House – tips: Botrytis, siva plijesan na rajčici; <https://hr.house-tips.net/6646449-botrytis-on-tomato-gray-mold-on-the-fruit>; datum pristupa: 30.08.2021.
- Kington, M. <https://www.dnevno.hr/ekalendar/zanimljivosti-iz-povijesti/imaj-otvoren-um-ali-ne-toliko-otvoren-da-ti-mozak-ispadne-van-72861/>; datum pristupa: 13.07.2021.
- Kemmitt, G. (2002.): Pinta-preta (*Alternariose*) da batata e tomate; <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/PotatoTomatoPort.aspx>; datum pristupa: 15.08.2021.
- Ministarstvo poljoprivrede (2021.): <https://poljoprivreda.gov.hr/ekoloska/199>; datum pristupa: 23.08.2021.
- Ministrie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (2020.): <https://www.agroberichtenbuitenland.nl/actueel/nieuws/2020/02/13/higher-tomato-yields-in-morocco-than-in-spain>; datum pristupa: 12.08.2021.
- Prirodni enzim shop: Natural Enzyme 500 ml <https://prirodnienzim.com/proizvod/natural-enzyme-500-ml/?lang=en>; datum pristupa: 22.08.2021.
- Syngenta Hrvatska (2019.): Plamenjača rajčice (*Phytophthora infestans*) <https://www.syngenta.hr/news/plodovito-povrce/plamenjaca-rajcice-phytophthora-infestans>; datum pristupa: 15.08.2021.
- The spruce (2021): Identifying and Controlling Septoria Leaf Spot; <https://www.thespruce.com/identifying-and-controlling-septoria-leaf-spot-of-tomato-1402974>; datum pristupa: 16.08.2021.
- Vegetable Growers News (2020.): How to deal with botrytis in greenhouse tomatoes; <https://vegetablegrowersnews.com/article/how-to-identify-and-control-botrytis-in-greenhouse-tomatoes/>; datum pristupa: 16.08.2021.
- Vrtlarica (2018.): Eko rajčice; <https://www.youtube.com/watch?v=DZMT5YYByvQ>; datum pristupa: 24.08.2021.
- Zaštita protiv bolesti, štetočina i korova; <http://www.fazos.unios.hr/upload/documents/26-eko-za%c5%a1tita%20bilja.pdf>; datum pristupa: 21.08.2021.

Zeleno izvješće (2014.): Godišnje izvješće o stanju poljoprivrede u 2013. godini; Ministarstvo poljoprivrede, Ulica grada Vukovara 78, Zagreb; https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/poljoprivredna_politika/zeleno_izvjesce/Zeleno_izvjesce_2014.pdf; datum pristupa: 12.08.2021.

8. SAŽETAK

Danas se mnogi poljoprivrednici odlučuju za uzgoj rajčice prvenstveno radi lakog i nezahtjevnog načina kultivacije koji se može obavljati na otvorenom polju ili pak u zaštićenom prostoru. Inače je od kultura koja je dosta osjetljiva, zbog toga se treba dobro educirati prilikom zaštite ove biljke od napada raznih neželjenih organizama.

Bolesti na rajčici mogu uzrokovati velike štete, od kojih su od iznimnog značaja one prouzrokovane gljivicama. Siva plijesan je jedna od ekonomski najznačajnijih posliježetvenih gljivičnih oboljenja, a njen uzročnik je parazit *Botrytis cinerea*.

Za zaštitu od ovog patogena, najvažnije je poduzeti određene preventivne mjere prije nego što se uopće započne sa proizvodnjom. Nažalost uvijek postoji mogućnost da se on kasnije ipak pojavi jer ga karakterizira izuzetna sposobnost prilagodbe i rezistentnosti. Postoje razni prirodni preparati koji se koriste u zaštiti protiv gljivičnih patogena, najčešće u ekološkoj poljoprivredi. Međutim nisu svi jednako efikasni prilikom suzbijanja određenih parazita.

Stoga smo mi ovim radom htjeli ispitati učinkovitost jednog od prirodnih preparata, to jest prirodni enzim koji je ispitan kroz dva različita eksperimenta i nažalost nije se pokazao efikasnim u suzbijanju *Botrytis cinerea* na umjetno zaraženim plodovima rajčice.

Ključne riječi: rajčica, *Botrytis cinerea*, zaštita bilja, ekološka poljoprivreda, prirodni enzim

9. SUMMARY

Today, many farmers choose to grow tomatoes primarily because of the easy and undemanding way of cultivation that can be done in the open field or in a protected area. Usually it is a culture that is quite sensitive, so people need to be well educated when protecting this plant from attacks by various unwanted organisms.

Tomato diseases can cause great damage, of which those caused by fungi are extremely significant. Gray mold is one of the most economically significant post-harvest fungal diseases, and its cause is the parasite *Botrytis cinerea*.

To protect against this pathogen, the most important thing is to take certain preventive measures before starting production at all. Unfortunately, there is always the possibility that it may appear later, because it is characterized by an exceptional ability to adapt and resistance. There are various natural preparations that are used in the curative protection against fungal pathogens, most often in organic agriculture. However, not all are equally effective in controlling certain parasites.

Therefore, with this paper we wanted to examine the effectiveness of one of the natural preparations, ie a natural enzyme that was tested through two different experiments and unfortunately did not prove effective in controlling *Botrytis cinerea* on artificially infected tomato fruits.

Key words: tomato, *Botrytis cinerea*, plant protection, organic farming, natural enzyme

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 48 sati u prvom pokusu....	29
Tablica 2. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 72 sata u prvom pokusu ...	30
Tablica 3. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 144 sata u prvom pokusu .	31
Tablica 4. Značajnost utjecaja tretmana u prvom pokusu.....	32
Tablica 5. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 48 sati u drugom pokusu..	35
Tablica 6. Prosjek promjera izmjerenih lezija po tretmanima nakon 120 sati u drugom pokusu	37
Tablica 7. Značajnost utjecaja tretmana u drugom pokusu.....	38

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Listovi i plodovi rajčice zaraženi plamenjačom	6
Slika 2. Crna (koncentrična) pjegavost lista rajčice.....	7
Slika 3. Lisna pjegavost rajčice	8
Slika 4. Fuzarioza rajčice.....	9
Slika 5. Siva plijesan na plodu rajčice	10
Slika 6. Pohranjeni uzorak <i>Botrytis cinerea</i>	19
Slika 7. Uzgojena kultura <i>Botrytis cinerea</i> na hranjivoj podlozi (PDA).....	20
Slika 8. Suspenzija spora sa dodatkom Tween 80	21
Slika 9. Homogeniziranje inokulata.....	21
Slika 10. Prenosenje suspenzije u Neubauer hemocitometar.....	22
Slika 11. Konidiofori i konidije <i>Botrytis cinerea</i> pod mikroskopom	22
Slika 12. Željena koncentracija inokulata u menzuri.....	23
Slika 13. Sterilna voda, destilirana voda i 70%-ni alkohol.....	23
Slika 14. Mehaničko oštećivanje rajčice sterilnom iglom	24
Slika 15. Ubrizgavanje inokulata <i>Botrytis cinerea</i> u plod rajčice	24
Slika 16. Rajčica smještena u plastičnu vrećicu	25
Slika 17. Prirodni enzim iz „Bz Arka naša“	25
Slika 18. Otopine enzima u omjeru 1:20 zajedno sa suspenzijom spora <i>Botrytis cinerea</i>	26
Slika 19. Plodovi rajčice u ispitnoj klima komori.....	28
Slika 20. Plodovi nakon 48 sati od postavljanja prvog pokusa.....	29
Slika 21. Plodovi nakon 72 sata od postavljanja prvog pokusa	30
Slika 22. Plodovi nakon 144 sata od postavljanja prvog pokusa	31
Slika 23. Plodovi u pokusnim grupama Dog i Kog	34

Slika 24. Plodovi u pokusnim grupama Dr, Kr, Drg, Krg i Kg	34
Slika 25. Plodovi u pokusnim grupama Dr i Kr nepromijenjeni	35
Slika 26. Oboljeli plodovi u pokusnim grupama Dog i Kog	36
Slika 27. Pokusna grupa Drg sa primjerom ploda koji je obolio i onoga koji nije	36
Slika 28. Pokusna grupa Krg sa primjerom ploda koji je obolio i onoga koji nije	36
Slika 29. Pokusna grupa Kg	37

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom prvog mjerenja u prvom pokusu	32
Grafikon 2. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom drugog mjerenja u prvom pokusu	33
Grafikon 3. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom trećeg mjerenja u prvom pokusu	33
Grafikon 4. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom prvog mjerenja u drugom pokusu	38
Grafikon 5. Prosječne vrijednosti i standardne pogreške proučavanih tretmana za promjer lezija (cm) izmjerenih tijekom drugog mjerenja u drugom pokusu	39

Djelotvornost prirodnog enzima u suzbijanju sive plijesni (*Botrytis cinerea*)

Luka Šivak

Sažetak

Danas se mnogi poljoprivrednici odlučuju za uzgoj rajčice prvenstveno radi lakog i nezahtjevnog načina kultivacije koji se može obavljati na otvorenom polju ili pak u zaštićenom prostoru. Inače je od kultura koja je dosta osjetljiva, zbog toga se treba dobro educirati prilikom zaštite ove biljke od napada raznih neželjenih organizama. Bolesti na rajčici mogu uzrokovati velike štete, od kojih su od iznimnog značaja one prouzrokovane gljivicama. Siva plijesan je jedna od ekonomski najznačajnijih posliježetvenih gljivičnih oboljenja, a njen uzročnik je parazit *Botrytis cinerea*. Za zaštitu od ovog patogena, najvažnije je poduzeti određene preventivne mjere prije nego što se uopće započne sa proizvodnjom. Nažalost uvijek postoji mogućnost da se on kasnije ipak pojavi jer ga karakterizira izuzetna sposobnost prilagodbe i rezistentnosti. Postoje razni prirodni preparati koji se koriste u zaštiti protiv gljivičnih patogena, najčešće u ekološkoj poljoprivredi. Međutim nisu svi jednako efikasni prilikom suzbijanja određenih parazita. Stoga smo mi ovim radom htjeli ispitati učinkovitost jednog od prirodnih preparata, to jest prirodni enzim koji je ispitan kroz dva različita eksperimenta i nažalost nije se pokazao efikasnim u suzbijanju *Botrytis cinerea* na umjetno zaraženim plodovima rajčice.

Mentor: prof. dr. sc. Karolina Vrandečić

Broj stranica: 57

Broj slika: 29

Broj tablica: 7

Broj grafikona: 5

Broj literaturnih navoda: 60

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: rajčica, *Botrytis cinerea*, zaštita bilja, ekološka poljoprivreda, prirodni enzim

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

- 1. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, predsjednik**
- 2. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor**
- 3. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, član**

Rad je pohranjen u: u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek i u digitalnom repozitoriju diplomskih i završnih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek.

Efficacy of a natural enzyme in the control of gray mold (*Botrytis cinerea*)

Luka Šivak

Abstract

Today, many farmers choose to grow tomatoes primarily because of the easy and undemanding way of cultivation that can be done in the open field or in a protected area. Usually it is a culture that is quite sensitive, so people need to be well educated when protecting this plant from attacks by various unwanted organisms. Tomato diseases can cause great damage, of which those caused by fungi are extremely significant. Gray mold is one of the most economically significant post-harvest fungal diseases, and its cause is the parasite *Botrytis cinerea*. To protect against this pathogen, the most important thing is to take certain preventive measures before starting production at all. Unfortunately, there is always the possibility that it may appear later, because it is characterized by an exceptional ability to adapt and resistance. There are various natural preparations that are used in the curative protection against fungal pathogens, most often in organic agriculture. However, not all are equally effective in controlling certain parasites. Therefore, with this paper we wanted to examine the effectiveness of one of the natural preparations, ie a natural enzyme that was tested through two different experiments and unfortunately did not prove effective in controlling *Botrytis cinerea* on artificially infected tomato fruits.

Mentor: prof. dr. sc. Karolina Vrandečić

Number of pages: 57

Number of figures: 29

Number of tables: 7

Number of charts: 5

Number of references: 60

Original in: Croatian

Key words: tomato, Botrytis cinerea, plant protection, organic farming, natural enzyme

Thesis defended on date:

Reviewers:

- 1. prof. dr. sc. Jasenka Ćosić, president**
- 2. prof. dr. sc. Karolina Vrandečić, mentor**
- 3. prof. dr. sc. Mirjana Brmež, member**

The paper is stored in: in the Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences in Osijek.