



**REGIONALNI CENTAR
KOMPETENTNOSTI**
Poljoprivredno šumarska
škola Vinkovci



Priručnik za proizvodnju sadnog materijala u voćarstvu i vinogradarstvu

Darko Preiner
Martina Skendrović Babojelić



Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog socijalnog fonda.



**REGIONALNI CENTAR
KOMPETENTNOSTI**
Poljoprivredno šumarska
škola Vinkovci

Priručnik za proizvodnju sadnog materijala u voćarstvu i vinogradarstvu

Darko Preiner

Martina Skendrović Babojelić

Vinkovci, 2023.



Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog socijalnog fonda.

Nakladnik:

Regionalni centar kompetentnosti
"Centar za suvremene tehnologije i obrazovanje u poljoprivredi"
Poljoprivredno šumarska škola Vinkovci

Za nakladnika:

Ružica Zucić, dipl. ing., ravnateljica

Autori:

Izv. prof. dr. sc. Darko Preiner
Prof. dr. sc. Martina Skendrović Babojelić

Recenzent:

Vehid Ibraković, dipl. ing., izvrstan stavjetnik

Lektura:

Maja Bukna, prof.

Uređenje, grafičko uređenje i oblikovanje naslovne stranice:

Studio HS internet d.o.o., Osijek

Tisk:

Studio HS internet d.o.o., Osijek

Naklada:

150 primjeraka

CIP zapis dostupan u računalnom katalogu NSK Zagreb

ISBN:



Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog socijalnog fonda.

Sadržaj priručnika isključiva je odgovornost Poljoprivredno šumarske škole Vinkovci.

Za više informacija o EU fondovima posjetite mrežnu stranicu Ministarstva regionalnoga razvoja i fondova Europske unije www.strukturnifondovi.hr.

PREDGOVOR

Priručnik za proizvodnju sadnog materijala u voćarstvu i vinogradarstvu prikazuje osnovne načine proizvodnje sadnog materijala voćnih vrsta i vinove loze te opis postupka razmnožavanja ovih vrsta u *in vitro* uvjetima. Priručnik je namijenjen učenicima i nastavnicima srednjih strukovnih škola. Osim postupaka proizvodnje sadnog materijala, prikazana je i sažeta teoretska osnova vezana uz tehnike razmnožavanja i proizvodnju sadnica. Priručnik se sastoji od triju poglavlja: 1. Proizvodnja sadnog materijala u vinogradarstvu, 2. Proizvodnja sadnog materijala u voćarstvu i 3. *In vitro* postupci razmnožavanja u voćarstvu i vinogradarstvu.

1. PROIZVODNJA SADNOG MATERIJALA U VOĆARSTVU

Voćne vrste mogu se razmnožavati na dva načina: vegetativno i generativno. U prirodi se i spontanim putem voćne vrste razmnožavaju istim načinima, a novi organizmi (voćke) koji nastaju imaju specifična svojstva, ovisno o načinu razmnožavanja na koji su nastale.

Postoji vrlo velika razlika u načinu razmnožavanja između voćnih vrsta, iz razloga što mogućnosti vegetativnog, odnosno generativnog razmnožavanja nisu jednake za sve voćne vrste.

Spoznaje i iskustva o fiziološkim svojstvima vrste i mogućnosti razmnožavanja primjenjuju se u rasadničarskoj proizvodnji u cilju što kvalitetnije, brže, jednostavnije i jeftinije proizvodnje sadnog materijala.

U intenzivnoj voćarskoj proizvodnji proširenje je vegetativno razmnožavanje, dok se generativno razmnožavanje koristi uglavnom u proizvodnji podloga (sjemenjaka) na koje se cijepe željene sorte.

Svojstva voćnih vrsta ovisno o načinu razmnožavanja

Svojstva voćnih vrsta razmnoženih iz sjemena

Razmnožavanje voćaka iz sjemena u cilju dobivanja finalnog proizvoda - sadnica, odnosno buduće voćke, vrlo je ograničeno u voćarskoj proizvodnji.

Dva su osnovna razloga zbog kojih se sadnice u voćarstvu ne dobivaju generativnim putem, nego na neki od vegetativnih načina razmnožavanja:

1. Voćke razmnožene iz sjemena (sjemenjaci, sijanci) vrlo su raznolike po morfološkim svojstvima, bujnosti i kvaliteti ploda - svojstva matičnih biljaka ne prenose se vjerno na potomstvo. Kulturne sorte, razmnožene sjemenom, daju u pravilu plodove lošije kvalitete od majčinske biljke.
2. Voćke razmnožene iz sjemena vrlo kasno ulaze i potrebno je više godina da bi ušle u razdoblje rodnosti (10, 15, pa čak i do 20 godina).

Svojstva voćnih vrsta razmnoženih vegetativnim načinom

Mnoge voćne vrste se u prirodi spontano razmnožavaju vegetativnim putem. Međutim, u praksi se znatno više koriste razni načini vegetativnog razmnožavanja koji se ne javljaju u prirodi, a temelje se na nekim biološkim zakonitostima, posebno na vrlo izraženoj mogućnosti regeneracije. Vegetativnim razmnožavanjem vjerno se prenose svojstva roditelja na potomstvo te voćke ranije ulaze u razdoblje rodnosti.

Ovisno o prirodnim mogućnostima kod vegetativnog razmnožavanja voćaka razlikuju se dva osnovna načina:

- a) UKORJENJVANJE (nadzemnog dijela voćke ili korijena)
- b) CIJEPLJENJE

Svojstva voćnih vrsta nastalih ukorjenjivanjem dijelova nadzemnog sustava

Voćke imaju mogućnost u određenim uvjetima stvarati korijen i na pojedinim dijelovima nadzemnih organa. Ovo svojstvo različito je izraženo kod pojedinih voćnih vrsta, a sposobnost stvaranja korijena na nadzemnim dijelovima više je izražena kod nižih vrsta (grmolikih i polugrmolikih – npr. lijeske, smokve, maline, kupine, ribiza i drugih), a manje kod voćaka stablašica (npr. kod jabuke, šljive i dunje se mogu uspješno proizvesti vegetativne podloge ukorjenjivanjem dijelova izbojka, dok se ostale vrste rijetko razmnožavaju ukorjenjivanjem). Međutim, ovo svojstvo također dosta ovisi, osim o vrsti, i sorti voćke, tj. neke sorte u okviru vrste dobro razvijaju korijen na nadzemnom dijelu, a neke ne.

Voćne vrste koje imaju sposobnost stvaranja korijena na dijelovima nadzemnog sustava mogu se uzgajati na vlastitom korijenu te se u rasadničarskoj proizvodnji koriste specijalni uređaji i metode kojima se stimulira ukorjenjivanje. Na taj način obavlja se jednostavnije razmnožavanje ovih voćnih vrsta. Istraživanja su pokazala da ovako razmnožene voćke ulaze u fazu rodnosti vremenski približno cijepljenim voćkama.

Svojstva voćnih vrsta razvijenih iz korijena

Većina voćnih vrsta ima sposobnost razvoja vegetativnog prirasta iz korijena, a taj mladi nadzemni dio voćke koji raste iz podzemnoga dijela - korijena, naziva se

IZDANAK. Kod nekih vrsta ova sposobnost tjeranja izdanaka više je izražena, npr. kod divljih oblika jabuke i kruške te kod pojedinih sorti šljive. Voćke proizvedene iz korijenovog izdanka uglavnom dolaze u fazu rodnosti kasnije nego cijepljene voćke, a u nekim slučajevima istovremeno, npr. šljiva i višnja.

Pri korištenju korijenovih reznica u razmnožavanju voćaka zapaženo je da se veći postotak ukorjenjivanja postiže kod reznica dobivenih od korijena mlađih sjemenjaka. Ovo može imati praktično značenje kod primjene ovog načina razmnožavanja koji je inače slabo raširen u rasadničarskoj proizvodnji.

PROIZVODNJA VOĆNIH SADNICA

Voćne sadnice proizvode se u voćnim rasadnicima koji moraju biti osposobljeni za visokokvalitetnu proizvodnju. Kvaliteta voćnih sadnica jedan je od vrlo važnih čimbenika voćarske proizvodnje i zato je rasadničarska proizvodnja obuhvaćena posebnim zakonskim propisima koji određuju uvjete proizvodnje i kvalitete samog materijala – autentičnost sorte i podloge, starost, razvijenost, zdravstveno stanje sadnica itd. Proizvodnju sadnog materijala za prodaju smiju obavljati samo registrirani rasadnici u kojima nadležni organi obavljaju kontrolu. Voćne sadnice proizvode se najčešće cijepljenjem, a samo neke voćne vrste razmnožavaju se na vlastitom korijenu, najčešće ukorjenjivanjem.

Voćna sadnica dobivena nekim od načina cijepljenja predstavlja simbiont između podloge i plemke i karakteristična je za voćke stablašice. Kvalitetnim odabirom korijena (podloge) postiže se niz prednosti: smanjena bujnost nadzemnog dijela, ranija cvatnja i ulazak u rodnost, otpornost na niske temperature, otpornost na sušu, otpornost na teška tla, otpornost na veće količine fiziološki aktivnog vapna u tlu, bolja kvaliteta cvjetova (plodova), otpornost na bolesti i štetnike i druge.

Kod voćnih vrsta koje se razvijaju na vlastitom korijenu - NEMA SIMBIOZE (autovegetativno razmnožavanje) - malina, kupina, ribiz, ogrozd, lijeska, dunja, smokva, maslina.

Sadnice nekih voćnih vrsta sve se češće razmnožavaju u laboratorijskim uvjetima (*in vitro*). Mikrorazmnožavanjem se podloge i sadnice dobivaju vegetativnim putem iz meristemskog tkiva, a takav način omogućuje brže razmnožavanje i veću proizvodnju zdravstveno ispravnog reproduksijskog sadnog materijala u kontroliranim uvjetima, tijekom cijele godine, te dobivanje voćnih sadnica identičnih matičnoj biljci. U dalnjem tekstu navedeni su postupci i načini proizvodnje voćnih sadnica.

Proizvodnja podloga

I vegetativne i generativne podloge proizvode se razmnožavanjem s matičnih stabala (matičnjaci za proizvodnju sjemena i matičnjaci za proizvodnju vegetativnih podloga).

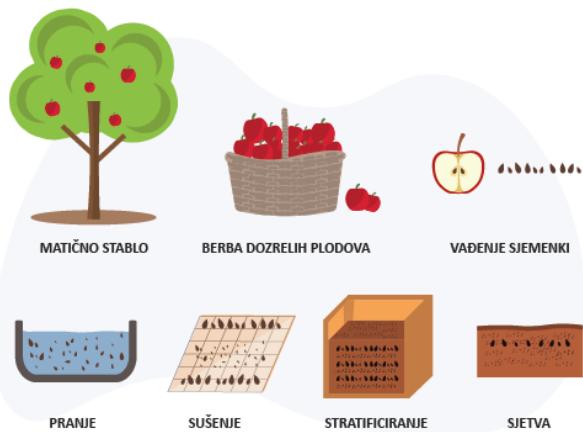
Matična stabla moraju biti pod stalnim stručnim nadzorom zbog kontrole zdravstvene ispravnosti.

Proizvodnja generativnih podloga

Postupak proizvodnje generativnih podloga voćnih vrsta sastoji se od: izbora matičnih stabala, podizanja matičnih nasada za proizvodnju sjemena, sakupljanja plodova i vađenja sjemenki, prosušivanja, klasiranja i čuvanja sjemenki, ispitivanja klijavosti i energije klijanja sjemena, stratificiranja i sjetve sjemena, nege sjemenjaka te vađenja, klasiranja i trapljenja sjemenjaka kao podloga za cijepljenje. Važno je s matičnih stabala uzeti zrele plodove, a nakon vađenja sjeme treba spremiti na način da se omogući jarovizacija (vernalizacija) ili mirovanje sjemena pod određenim uvjetima (Ilustracija 1).

Jarovizacija ili vernalizacija sjemena je postupak pri kojem se ubrzava proces prolaska kroz razdoblje nižih temperatura, kako bi mogle prijeći iz vegetativne u generativnu fazu. Postupak kojim se postiže i ubrzava proces jarovizacije naziva se stratifikacija sjemena.

Stratifikacija dolazi od riječi *stratus = sloj* i predstavlja slaganje sloja muljevitog pjeska i sloja sjemenki (koštica) s ciljem pospješivanja razgradnje hormona mirovanja (dormena) i pospješivanja klijanja sjemenki. Može se provoditi na dva načina: u podrumskim prostorijama (na temperaturi oko 8 °C) naizmjeničnim slaganjem sloja pjeska i sjemenki u sanduke (Ilustracija 2) ili direktnom sjetvom na otvoreno u jesen (u sjemenište ili cjepilnjak) gdje se također slaže sloj pjeska, sloj sjemenki.



Ilustracija 1. Postupak sa sjemenom za proizvodnju generativnih podloga voćnih vrsta.



Ilustracija 2. Sanduk za stratifikaciju

Ilustracija 3. Položaj sjemenke oraha pri sjetvi



Slika 1. Izgled proklijale sjemenke oraha

Najbolje je sjemenke slagati u jednom sloju, eventualno dva, jer ako ima više slojeva, efikasnost stratifikacije je loša zbog smanjene vlage i neadekvatne temperature. Stratifikacija traje različito ovisno o voćnoj vrsti i uvjetima u kojima se provodi (Tablica 1).

Kod vrsta gdje se sjeme nalazi unutar koštice, sije se kada se koštica malo otvori (Slika 1). Ukoliko koštica nije otvorena, dolazi do upitnosti klijanja. *Specifičnost oraha*: orah se sije kada se pojavi klin korjenčić koji se prethodno prikrati skalpelom. Tim postupkom osigurava se bolje razgranjenje korijena oraha (Ilustracija 3).

Tablica 1. Trajanje stratifikacije sjemena pojedinih voćnih vrsta

VRSTA	TEMPERATURA °C	TRAJANJE STRATIFIKACIJE
Marelica	5	3 - 4 tjedna
Bajam	5	4 tjedna
Kaki	10	2 - 3 mjeseca
Jabuka (<i>M. silvestris</i>)	2 - 7	2 - 3 mjeseca
Kruška (<i>P. communis</i>)	0 - 4	2 - 3 mjeseca
Jagoda	0 - 1	3 mjeseca
Mirobalana	2 - 4	3 mjeseca
Orah (<i>J. regia</i>)	2 - 4	3 mjeseca
Vinova loza	0,5 - 4	3 mjeseca
Rašeljka (<i>P. mahaleb</i>)	4	3 - 5 mjeseci
Breskva	4	3 - 4 mjeseca
Trešnja	2 - 4	4 mjeseca
Šljiva	5 - 8	5 mjeseci
Ljeska	0 - 4	Nekoliko mjeseci
Kesten (<i>C. mollissima</i>)	0 - 4	Nekoliko mjeseci

Izvor: Hartmann i Kaster, 1968.

Proizvodnja vegetativnih podloga voćnih vrsta

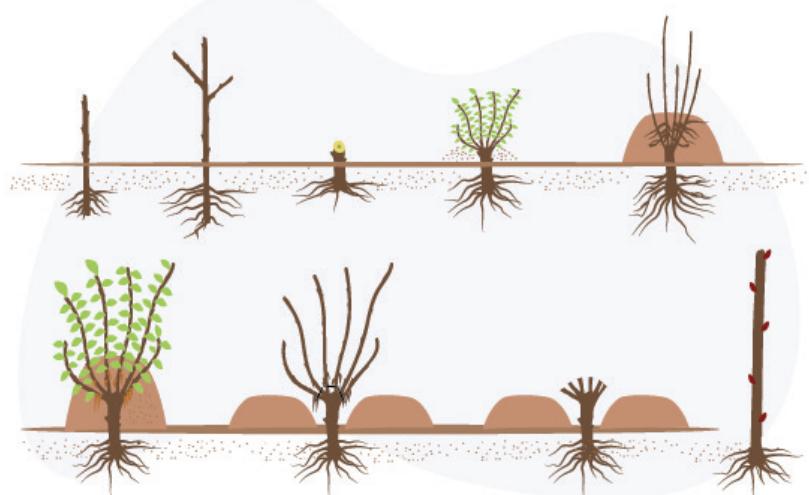
Vegetativne podloge razmnožavaju se u matičnjacima vegetativnih podloga. Proizvodnja podloga temelji se na sposobnosti biljaka da obnove izgubljene dijelove ili da od izdvojenih dijelova razviju novi organizam. Vegetativnim

razmnožavanjem potomci su identični roditeljima (klonsko razmnožavanje).

U rasadnicima podloge se najčešće razmnožavaju nagrtanjem, zrelim reznicama, a drugi načini (grebenice, korijenovi izdanci) se manje koriste.

Nagrtanje

Nagrtanje je najrašireniji način proizvodnje vegetativnih podloga jabuke, dunje, šljive i kruške. Proizvodnja se obavlja u matičnjaku vegetativnih podloga koji se podiže na dubokim propusnim tlima s povoljnim kapacitetom za vlagu. Matičnjak se podiže dobro ukorijenjenim jednogodišnjim izbojcima na razmaku 1,2 x 0,5 m. Nakon sadnje nadzemni dio se reže na 40 - 50 cm, a po završetku vegetacije prikrati se na 3 cm i ngrne tlom. Nakon nagrtanja prska se beta indol octenom kiselinom (IAA) koja pospješuje ukorjenjivanje. U jesen se odgrne tlo, a iz adventivnih pupova razvije se nekoliko izbojaka. U proljeće kada izbojci narastu do 30-ak cm, ponovno se ngrnu vlažnim tlom, a tijekom vegetacije obavlja se 2 - 3 nagrtanja tako da donja polovica izbojka bude uvek u tlu. Za nagrtanje se može koristiti fermentirana piljevinu (zbog smanjenja deficijencije vode u tlu i bolje je ukorjenjivanje).



Ilustracija 4. Postupak formiranja matičnog grma za proizvodnju vegetativnih podloga – sadnja podloge, nagrtanje, izgled formiranog matičnog grma i razvoj podloge.

Nakon nagrtanja donji dio mladice etiolira i iz adventivnih pupova razvija se korijen. Završetkom vegetacije i opadanjem lišća ukorijenjeni izbojci se odvajaju od matičnog grma i u proljeće se sade u cjepilnjak ili se podloge pripremaju za cijepljenje (Ilustracija 4 i Slika 2). Rane na matičnom grmu se zaglade nožem, a pred zimu se ponovno nagrne tlom da se zaštiti grm od pozebe. Jedan grm može dati i do 12 podloga (ukorijenjenih izbojaka), a rok trajanja grma je oko 20 godina.



Slika 2. Postupak proizvodnje vegetativnih podloga jabuke i pripreme podloga za cijepljenje.

Razmnožavanje grebenicama (položenicama)

Grebenice se koriste za proizvodnju podloga trešnje i šljive, koje se teže ukorijenjuju. Jedan ili više jednogodišnjih izbojaka matičnog grma položi se u tlo, a iz postranih pupova potjeraju mladice koje se tijekom vegetacije ukorijene (Ilustracija 5). Baza mladice etiolira odmah nakon izbijanja, čime se spriješuje stvaranje adventivnog korijenja. Tipovi grebenica koje se najčešće primjenjuju su:

Obična grebenica – samo centralni dio izbojka (na kojem se odstrane pupovi) povije se u tlo, a vrh ostaje vani. Provodi se u jesen ili proljeće (u mirovanju) kad se temperature ne spuštaju ispod 0°C.

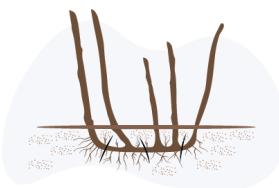
Kineska grebenica – položi se jedna (ili više) mladica u vodoravni položaj i prekrije tlom, a pupovi se ne odstranjuju, već se oni aktiviraju i iz njih potjeraju nove mladice. Nakon ukorjenjivanja mladice s korijenom se odstrane i na taj način dobije se nova podloga ili sadnica. Grebeničanje je skupo i koristi se samo iznimno.



Ilustracija 5. Razmnožavanje voćnih vrsta običnom ili kineskom grebenicom.

Razmnožavanje korijenovim izdancima

Ovo se razmnožavanje rijetko koristi u rasadničarstvu jer zahtijeva veliku površinu. Obično se tako razmnožavaju šljiva i višnja kod kojih se koriste spontano razvijeni izdanci iz korijena. Kod nekih vrsta tjeranje izdanaka pospješuje se ranjavanjem ili podrezivanjem korijena (malina i kupina).



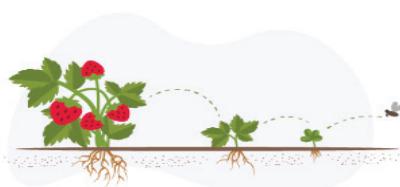
Ilustracija 6. Razmnožavanje korijenovim izdancima.

Iz adventivnih pupova korijena voćke (osobito blizu rane) razviju se mladice koje se tijekom vegetacije ukorijene, a presijecanjem korijena odvajaju se od matičnog

stabla (Ilustracija 6). Korijenovim izdancima mogu se prenositi virusne bolesti (npr. šarka), stoga ne treba koristiti izdanke nepoznatog podrijetla.

Specifičnosti razmnožavanja jagode

Jagoda je voćna vrsta koja se razmnožava nadzemnim puzećim izbojcima valjkastog oblika koji se nazivaju *vriježe ili stoloni*. Razvijaju se iz pupova u pazušcu lista, od svibnja do listopada, a mogu narasti do duljine od 1,5 metara. Na nodijima izbojaka, iz adventivnih pupova razvije se prvo s gornje strane lisna rozeta, a zatim s donje strane adventivno korijenje (Ilustracija 7) i na taj način nastaju nove sadnice jagode.



Ilustracija 7. Razmnožavanje jagode vriježama.

RAZMNOŽAVANJE REZNICAMA

Rezница je vegetativni dio biljke (izbojak, list, korijen) koji u povoljnim uvjetima formira korijen i nadzemni dio. S obzirom na fiziološko stanje, postoje tri tipa reznica: zrele (drvenaste), poluzrele (poludrvenaste) i zelene reznice.

Zrela reznica – potpuno odrvenjeli dio izbojka bez listova. Zrelim reznicama razmnožavaju se najčešće malina, kupina, ribiz, ogrozd, maslina, smokva, kivika i određeni tipovi dunje, jabuke, kruške. Nakon opadanja lišća narežu se reznice duljine 20 - 30 cm (što ranije u jesen, prije migriranja hraniva u donje dijelove – bolje reznice iz bazalnih dijelova izbojaka), vežu u snopove (do 100 komada) i čuvaju u vlažnom pijesku preko zime na temperaturi 0 - 5 °C. Za ospješivanje ukorjenjivanja koriste se regulatori rasta (auksini ili giberelini) na način da se prije sadnje reznice tretiraju prvo u alkoholu, a zatim beta indol octenom kiselinom (IAA). Primjer postupka ukorjenjivanja reznice ribiza je Slika 3. U proljeće se

reznice sade u prporište tako da su 2 pupa iznad razine tla (iz njih se razviju mладice), a iz adventivnih pupova koji su u tlu razvije se korijen (Ilustracija 8). U intenzivnoj se proizvodnji reznice stavlju na ukorjenjivanje u zaštićeni prostor (plastenik/staklenik) - visoka relativna vlagu zraka i kontrola temperature (bazalno zagrijavanje – na toplim stolovima). U jesen ili sljedećeg proljeća presađuju se u cjepilnjak.



Slika 3. Postupak razmnožavanja ribiza zrelim reznicama.

Zelena reznica – izbojak s listovima. Razmnožavanje podloga zelenim reznicama obično se provodi kod dunje, masline, kivike, rašeljke, džanarika i ostalih podloga. Izbojci se početkom ljeta uzimaju s matičnih stabala. Na reznici se ostave 2 vršna pupa, a 3 - 4 donja se skinu. Prije sadnje reznice se tretiraju u alkoholu i beta indol octenoj kiselini. Donji dio zasadi se u rahlo tlo, pomiješano s tresetom, a iznad supstrata plojke listova se odrežu na pola (Ilustracija 8) kako bi se smanjila transpiracijska površina. Ukorjenjivanje se provodi u zaštićenom prostoru (smanjenje transpiracije), jer nema korijena koji bi crpio vodu, pa se reznice vlaže oроšavanjem (zamagljivanjem) – postiže se 100 % vlažnost zraka.



Ilustracija 8. Načini ukorjenjivanja voćnih vrsta različitim tipovima reznica.

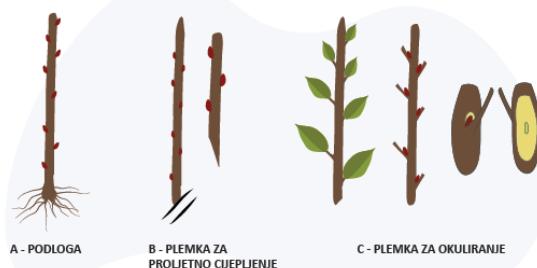
Korijenova reznica (dio korijena) - koristi se samo iznimno, kad se ne može proizvesti dovoljno podloga drugim načinima razmnožavanja, ili u istraživačke svrhe. Korijenovim reznicama mogu se proizvesti podloge kruške, breskve, trešnje, šljive, tj. podloge vrsta koje se teško vegetativno razmnožavaju. Nakon vađenja stabla sakupi se korijenje debljine 5 - 15 mm i izreže na reznice duljine 8 cm, pri čemu se skine svo sitno korijenje. Reznice se tijekom zime čuvaju utrapljene, a u proljeće se posade u mješavinu pijeska i treseta. Vrh treba biti 1 - 2 cm iznad razine tla (Ilustracija 8). Da bi postupak uspio, treba održavati povoljnu vlagu.

CIJEPLJENJE (NAVRTANJE, KALEMLJENJE)

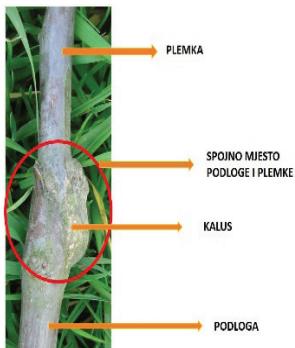
Cijepljenje je način vegetativnog razmnožavanja voćaka - prenošenje dijela plemke (epibiont) s pupom (ili pupovima) na podlogu (hipobiont), s ciljem međusobnog spajanja (srašćivanja) u novi organizam (Ilustracija 9 i Slika 4). Predstavlja najvažniji način razmnožavanja odnosno proizvodnje voćnih sadnica.

Za podlogu se uzima dio biljke koji nosi korijen, a za plemku dio plemenite sorte koja se želi uzgajati i koja će, kad voćka uđe u rod, donositi plodove istih svojstava kao i stablo s kojeg je plemka uzeta. Najčešće se cijepe sorte voćnih vrsta na podloge iste vrste (jabuka na jabuku, kruška na krušku itd.), međutim neke vrste se mogu cijepiti i na podlogu druge vrste (kruška na podlogu dunje ili gloga, breskva na podlogu bajama ili šljive itd.).

Prilikom cijepljenja važno je postići što veći spoj kambijalnog tkiva podlove i plemke. Srašćivanje podlove i plemke odvija se u dvije faze. Najprije se na otvorenim plohamama podlove i plemke na objema stranama razvija novo tkivo *KALUS* koje ispunji šupljine u spojnom mjestu (Slika 4). Kalusno tkivo kod voćaka nastaje naglim umnažanjem meristemskog tkiva koje srašćuje i obuhvaća stanice na presjecima, stvarajući kalus sličan kao kod zacjeljivanja rana.



Ilustracija 9. Primjer izgleda podlove i različitih tipova plemke ovisno o vremenu i tehnički cijepljenja.



Slika 4. Izgled spojnog mesta podloge i plemke te razvijenog kalusa.

U drugoj fazi srašćivanja formira se u primarnom kalusu kambijalni sloj kojim se uspostavlja veza između podloge i plemke, pa se postupno razvijaju novi provodni snopovi (ksilem i floem) u prijelaznom području na mjestu spoja (važna kompatibilnost podloge i plemke). Za dobro stvaranje kalusa i uspjeh cijepljenja važna je toplina (kalus se kvalitetno razvija na temperaturi oko 22 °C) i dobro kolanje sokova u podlozi (poželjno navodnjavanje u zoni korijenja kako bi za 10 - 15 dana podloga i pup srasli).

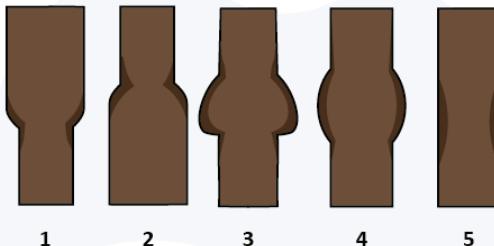
KOMPATIBILNOST (PODUDARNOST) PODLOGE I PLEMKE

Prilikom odabira načina razmnožavanja i tehnike cijepljenja valja poznavati svojstva kompatibilnosti (podudarnosti) podloge i plemke. Između podloge i plemke može postojati potpuna podudarnost (snošljivost) – dobro srastu na mjestu cijepljenja, no postoji i mogućnost nepodudarnosti (nesnošljivosti) ili inkompatibiliteata. Postoji *potpun inkompatibilitet* - kada se plemka osuši i ne sraste s podlogom te *djelomičan inkompatibilitet* - kada podloga i plemka srastu, ali ipak dolazi do poremetnji u rastu i rodnosti. Prije cijepljenja važno je istražiti kompatibilnost podloge i plemke željene vrste (sorte).

Nepodudarnost (inkompatibilnost) između podloge i plemke može biti:

- **Mehanička nepodudarnost** – ne dolazi do kvalitetnog srastanja provodnih snopova između podloge i plemke
- **Biokemijska nepodudarnost** – djelovanje biokemijskih spojeva koji u određenoj koncentraciji uvjetuju poremetnje u stanicama podloge i plemke (npr. PRUNASIN - cijanovodični glukozid koji pod izvjesnim uvjetima oslobađa višak cijanovodične kiseline koja djeluje latentno na stanice kore)
- **Fiziološka nepodudarnost** – uvjetovana različitim osmotskim tlakom i kombinacijom enzima - spoj podloge i plemke je samo djelomičan (nepotpuna lignifikacija parenhima ili posmeđivanje parenhimskih stanica na mjestu spoja)

- **Hormonalna nepodudarnost** – izazvana je različitim aktivnostima biljnih hormona kod pojedinih voćnih vrsta (nejednaka debljina debla ispod i iznad spojnog mesta –stvaranje GUKE – Ilustracija 10 i Slika 5).



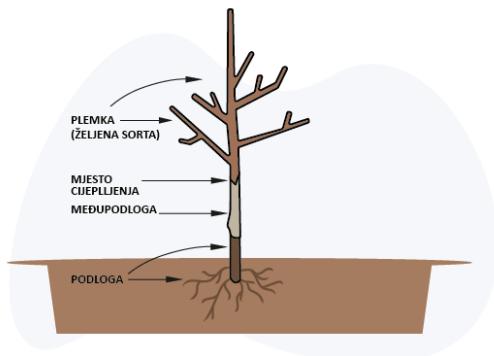
Ilustracija 10. Najčešći oblici pojave guke na cijepljenom mjestu (1 - 4) i normalno spojno mjesto pri potpunoj kompatibilnosti (5).



Slika 5. Primjer izgleda GUKE kod jabuke cijepljene na podlozi M9 (zadebljanje iznad cijepljenog mjesta).

CIEPLJENJE MEĐU VRSTAMA I MEĐUPODLOGE

Za svaku voćnu vrstu postoje različiti tipovi i vrste podloga s obzirom na određena svojstva. Svaka vrsta se najčešće cijepi na podlogu iste vrste (jabuka na jabuku), no kod nekih voćnih vrsta kao podlove se koriste druge vrste, npr. dunja kao podloga za krušku. Kod cijepljenja sorti kruške na dunju utvrđeno je da pojedine sorte nemaju dobar kompatibilitet i plemke kruške ne srastu dobro s dunjom. Iz tog razloga koriste se međupodlove (Ilustracija 11) gdje se na dunju najprije cijepi jedna sorta kruške koja dobro sraste s dunjom (Gelertova, Hardenpontova, Pastorčica, Santa Maria ili Trevuška), a potom se na međupodlogu kruške cijepi željena sorta (npr. Viljamovka) koja se ne može uzgajati izravno cijepljena na dunju (Slika 6).



Ilustracija 11. Izgled voćne sadnice dobivene cijepljanjem s međupodlogom.



Slika 6. Sadnica kruške Viljamovke na podlozi dunje uz cijepljenje na međupodlogu.

IZBOR, UZIMANJE I ČUVANJE PLEMKI

PLEMKA je onaj dio izbojka voćke koji se cijepi na podlogu kako bi se iz nje uzgojila sadnica željene sorte s razvijenom krošnjom i plodovima. Plemke se uzimaju sa središnjeg dijela krošnje zdravih matičnih stabala koja odgovaraju karakteristikama sorte.

Za proljetno cijepljenje, tijekom mirovanja voćaka, uzimaju se zdravi, odrvenjeli i srednje bujni izbojci (duljine 40 - 50 cm, a promjera 8 - 10 mm) dok u njima ne kolaju sokovi. Izbojci se vežu, označe, zamotaju u vlažan papir ili krpu, stave se u označenu polietilensku vrećicu i čuvaju u hladnjaku na temperaturi 0 - 2 °C (do nekoliko mjeseci, ovisno o vrsti, uz stalnu kontrolu stanja plemki). Kao plemka uzima se centralni dio tako čuvanih odrvenjelih izbojaka s najbolje razvijenim pupovima (bazalni i vršni pupovi nisu dobro razvijeni), a proljetno cijepljenje se obavlja kada u podlozi krenu sokovi, a prije cijepljenja podloge se očiste od svih postranih ograna.

Plemke za okulaciju uzimaju se neposredno prije cijepljenja i odstrane im se plojke listova (ostavljaju se samo peteljke) zbog smanjenja transpiracije.

***Da bi cijepljenje bilo uspješno, potrebno je zadovoljiti nekoliko uvjeta: a) podudarnost (kompatibilitet) između podloge i plemke; b) polarnost – plemka

mora biti u normalnom – gornjem položaju u odnosu na podlogu; c) što veća dodirna površina između kambijalnog tkiva plemke i podloge; d) povoljno fiziološko stanje plemke i podloge; e) primijeniti odgovarajuće vrijeme i način cijepljenja; f) cijepljenje obaviti u optimalnim i povoljnim ekološkim uvjetima.

Najvažniji načini cijepljenja

OKULACIJA (okuliranje)

KOPULACIJA

- Cijepljenje na spajanje
- Engleski spoj
- Cijepljenje pod koru
- Cijepljenje na isječak
- Cijepljenje na sedlo
- Cijepljenje na raskol
- Cijepljenje na prsten i prozor
- Cijepljenje na most

OKULACIJA

Okuliranje ili cijepljenje na pup je prenošenje jednog pupa plemke pod koru podloge. To je najrašireniji, najsigurniji, najbrži i najracionalniji način cijepljenja koji se primjenjuje u proizvodnji voćnih sadnica. Prednosti okuliranja su: brzo i lako izvođenje, dobar primitak (95 %) i mali utrošak plemki. Najčešće se okuliraju dobro razvijene podloge već zasađene na stalno mjesto ili se okulira u ruci, a zatim se sade okulirane podloge (cjepovi). Podloga i plemka moraju biti u soku da se kora lako odvaja od drva.

Vrijeme okuliranja

- a) okuliranje na spavajući pup – kraj srpnja (kolovoz) – pup se aktivira tek naredno proljeće,
- b) okuliranje na budni pup – rano u proljeće (ako nije došlo do primitka nakon okuliranja na spavajući pup) ili krajem svibnja (početkom lipnja) – pup se aktivira neposredno nakon okuliranja i razvije se mladica u istoj vegetaciji koja mora odrvenjeti prije pojave niskih temperatura da ne smrzne. Okulaciju treba izbjegavati u vrijeme visokih temperatura i za vrućih dana.

Postupak okuliranja:

Priprema podloge

- Uklanjanje postranih izbojaka na podlozi
- Odabir mesta s glatkom korom na podlozi (10 - 15 cm iznad tla)
- Urezivanje slova T na podlozi (vodoravni rez 1, a okomiti 2 - 3 cm)
- Odvajanje kore od drveta na mjestu reza (tupim dijelom cjepljarskog noža).



Slika 7. Matična stabla plemki i priprema plemki za okuliranje.

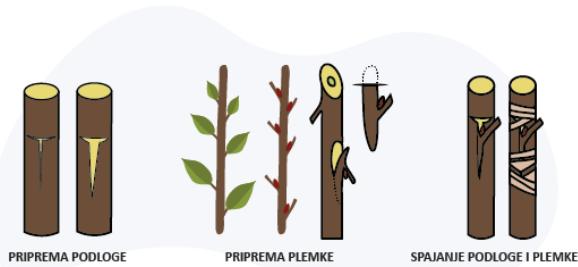
Priprema plemke

Plemke je najbolje uzeti s matičnih stabala neposredno prije okulacije ili se mogu kratko vrijeme čuvati umočene u vodi ili vlažnoj krpi i s plemki treba odstraniti plojke listova, a ostaviti samo kratki dio peteljke za lakši prihvatanje pupa (Slika 7).

Za okulaciju se upotrebljavaju pupovi sa središnjeg dijela gdje je najbolje sazrela plemka. Pup se mora odvojiti s plemke vrlo oprezno – nožem se zareže oko 1 cm ispod baze pupa, zahvati se tanki sloj drva i izreže tako da rez završi oko 2 cm iznad pupa (tanki sloj drva štiti pup i olakšava njegovo umetanje u izrez na podlozi).

Postupak spajanja podloge i plemke

- Umetanje pupa plemke ispod kore podloge (važno da je gornji dio pupa u ravnini s vodoravnim zarezom na podlozi),
- Priljubljinjanje kore podloge uz pup plemke,
- Učvršćivanje pupa – vezivanje (prozirna folija, cjepljarska gumica) odozgo prema dolje; pup mora ostati slobodan (Ilustracija 12).

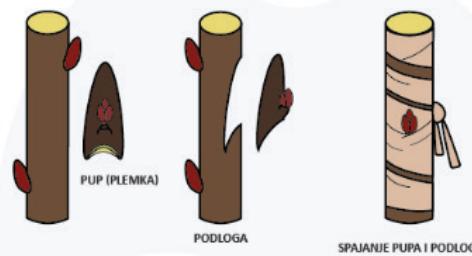


Ilustracija 12. Postupak i tehnika okuliranja

Kontrola uspješnosti okuliranja i njega okulanata nakon cjepljenja

Obavlja se 10 - 14 dana nakon postupka okuliranja. Ako peteljka uz pup otpadne na lagani dodir, pup se primio i okuliranje je uspjelo, a ako peteljka ne otpada na lagani dodir, uvija se, suši, okuliranje nije uspjelo i tada treba okulaciju ponoviti početkom proljeća na budni pup. Oko 14 dana nakon okulacije treba popustiti vezivo ako se ne koriste materijali koji sami pucaju i otpadnu (cjepljarske gumice, folije). Iznad mjesta okuliranja treba skratiti podlogu (kod okulacije na spavajući pup – u proljeće prije kretanja vegetacije, kod okulacije na budni pup – nakon što se okulirani pup aktivira i mladica naraste 20 - 30 cm). Redovito treba odstranjivati potjerale izbojke iz podloge.

ČIP-OKULACIJA - “Chip budding postupak”



Ilustracija 13. Postupak čip-okulacije

Kao plemka uzima se pup s dijelom tkiva drva. Za razliku od obične okulacije (zarezivanje kore u obliku „T“), za čip-okulaciju najprije se na podlozi napravi kosi usjek pod kutom od 45°, dubine oko 1/6 debljine podloge. Zatim iznad tog kosog ureza na podlozi 2 - 2,5 cm kosim rezom odstrani se isječak podloge, tj. pripremi se mjesto gdje će doći identični isječak s plemke (Ilustracija 13).

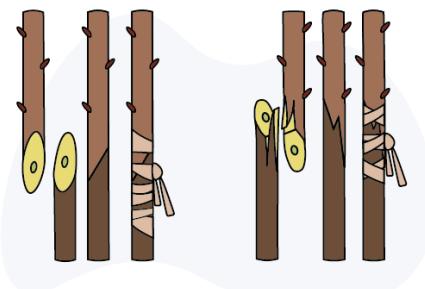
Vađenje pupa s plemke započinje kosim rezom 0,5 cm ispod pupa, pod kutom od 45° i dubine 1/6 debljine podloge, a nakon toga 2 - 2,5 cm iznad tog kosog reza vadi se isječak pupa koji je identičan isječku s podloge. Taj isječak stavlja se na podlogu, kompletno zamota vezivom. Vezivo se popušta 20 - 25 dana nakon cijepljenja, a najbolje je napraviti rez veziva sa suprotne strane umetnutog pupa kako ne bi oštetili sam pup, a i podlogu.

KOPULACIJA ILI SPAJANJE

Kopulacija je postupak cijepljenja gdje se ucjepljuje dio tkiva – plemka s 3 - 4 pupa. Nakon cijepljenja i primitka, sadnice okulanta i kopulanta se jasno razlikuju (Slika 8). Postoji više različitih načina kopulacije ili spajanja:

Cijepljenje na običan spoj

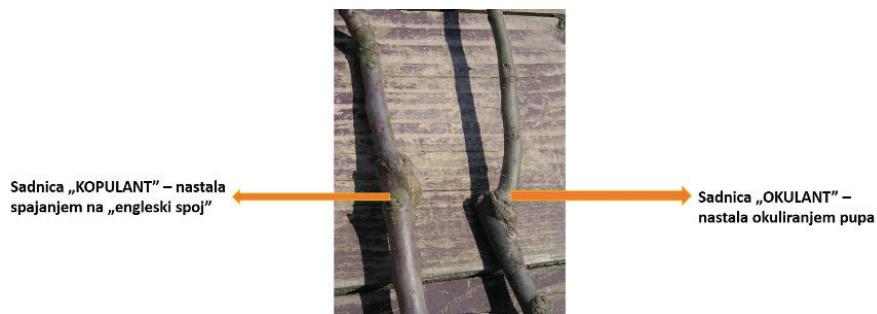
- Provodi se u proljeće kad krenu sokovi kada su plemka i podloga iste debljine (Ilustracija 14).
- Najvažnije je dobro napraviti kosi rez na podlozi i plemci koji treba biti najmanje dva puta dulji od njihova promjera.
- Plemka treba imati 3 - 4 pupa, a donji pup plemke mora biti na suprotnoj strani reza.
- Rez se izvodi jednim potezom noža prvo na podlozi, a onda na plemci - provjeriti poklapaju li se rezovi podloge i plemke (ako se rez ne poklapa, ponovno napraviti kosi rez na plemci).
- Kambijalna tkiva plemke i podloge trebaju se poklopiti, a nakon spajanja dobro vezati spojno mjesto i premazati voćarskim voskom (paziti da pupovi ostanu slobodni).



Ilustracija 14. Tehnika cijepljenja na običan spoj i engleski spoj

Cijepljenje na „engleski spoj“ (na jezičac)

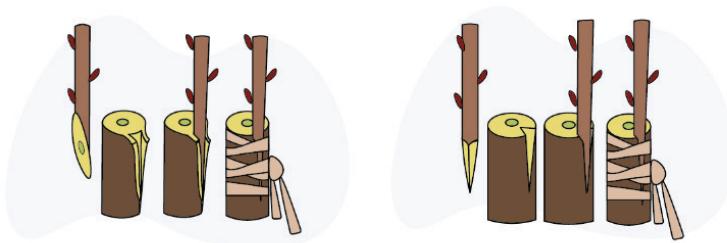
- Primjenjuje se kad su podloga i plemka **iste debljine**.
- Izvodi se u *mirovanju ili početkom vegetacije*.
- Tehnika slična cijepljenju na običan spoj, samo što se podloga i plemka lakše spoje i spoj je čvršći (Illustracija 14).
- Na podlozi i plemci napravi se kosi rez da se površine reza poklapaju kao i kod cijepljenja na običan spoj.
- Na gornjoj trećini kosog reza podloge i plemke nožem se lagano zareže okomito na rez i napravi se jezičac dugačak 3 - 5 mm.
- Jezičac podloge i plemke trebao bi biti iste duljine da bi se podloga i plemka što bolje sljubile.
- Spaje se podloga i plemka, učvrste se vezanjem, a spojno mjesto se premaže voćarskim voskom.



Slika 8. Izgled spojnog mjesta sadnice nastalog spajanjem i okuliranjem.

Cijepljenje pod koru

- Primjenjuje se kad je podloga deblja od plemke (Illustracija 15), a najčešće prilikom precjepljivanja stabla (grana) zbog promjene sorte.
- Izvodi se u proljeće, neposredno prije kretanja vegetacije, na način da se podloga ili grana odrežu na željenu visinu i oštrim voćarskim nožem (hipom) se rez zagladi.
- Sa strane na glatkom dijelu kore napravi se rez duljine tri do pet centimetara i kora se razmakne tupim dijelom noža.
- Plemka s 2 - 3 pupa pripremi se tako da se uzdužno odreže (kosina presjeka dva puta dulja od debljine plemke) i postavi pod koru, a kora podloge se stisne oko plemke i poveže vezivom.
- Spojno mjesto i prerez grane (podloge) premaže se voćarskim voskom.
- Važno je zaštiti plemku i mjesto cijepljenja (plemka se lako odvoji, npr. uslijed jakog vjetra).



Ilustracije 15. i 16. Tehnike cijepljenja pod koru i na isječak.

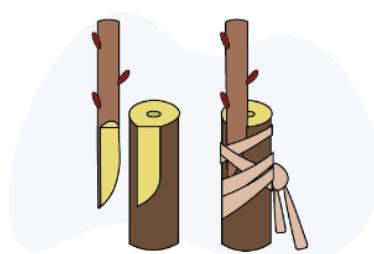
Cijepljenje na isječak

- Ova tehnika cijepljenja primjenjuje se na starijim granama odnosno debljim podlogama te kod precjepljivanja u krošnji rano u proljeće prije kretanja sokova.
- Tehnika je slična kao i kod cijepljenja pod koru (Illustracija 16).
- Najvažnije je dobro izvesti isječak na podlozi i trokutasti klin na plemci kako bi se postigao što bolji spoj.

Cijepljenje na sedlo

- Primjenjuje se kada je podloga deblja od plemke na način da se u rano proljeće, kad krenu sokovi, podloga prereže i na glatkoj strani se napravi kosi rez (nožem odozdo prema gore).

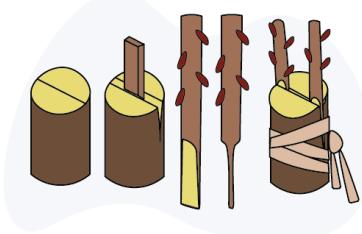
- Plemka se koso odreže na tri pupa (da se poklopi s podlogom) i na podlozi i na plemci se napravi rez u obliku sedla, s tim da je pup na plemci na suprotnoj strani reza.
- Plemka sedlastog reza postavlja se na podlogu tako da što više kambijalnog tkiva plemke nalegne na kambijalno tkivo podlove.
- Nakon spajanja treba pažljivo vezati, a pri vezanju paziti da se plemka ne pomakne, a spojno mjesto i mjesta reza premazati voćarskim voskom.



Ilustracija 17. Tehnika cijepljenja na sedlo.

Cijepljenje na raskol

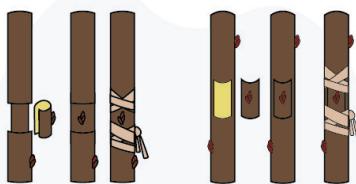
- Tehnika cijepljenja koje se rijetko primjenjuje – uglavnom kod precjepljivanja starijih voćaka, radi nacjepljivanja željene sorte kada je podloga puno deblja od plemke.
- Prerezana podloga čvrsto se veže jačim povezom 10 - 12 cm od gornje ravnine da se spriječi rascjepljivanje, nožem se na sredini napravi raskol (razrez) i na sredini raskola stavi se tanji klin.
- Na obje strane raskola postavi se po jedna plemka.
- Plemka se pripremi tako da se naprave dva reza s nasuprotne strane, dobije se oblik klina, a plemka ima 3 pupa, donji je na suprotnoj strani od reza na podlozi.
- Kambijalni dio vanjskog dijela plemke treba se poklopiti s kambijalnim tkivom podlove, ali budući da je kora podlove deblja, plemka će biti malo uvučena prema unutra.
- Nakon postavljanja plemki izvuče se klin, poveže vezivom, premaže voćarskim voskom i skida se prije postavljeni povez ispod raskola.



Ilustracija 18. Tehnika cijepljenja na raskol.

Cijepljenje na prsten i na prozor

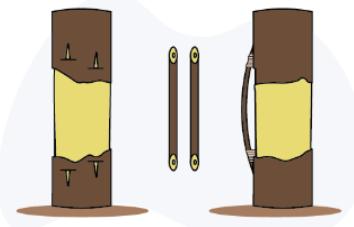
- Primjenjuje se u rano proljeće kad krenu sokovi i kad se kora lako odvaja, kod voćaka koje se teže primaju (orah, smokva, marelica) jer se tehnikom cijepljenja povećava dodirna površina kambijalnog tkiva.
- Na podlozi se izreže vijenac (kolut, prsten), isti takav se izreže s plemke, postavi se na podlogu, veže i premaže (Ilustracija 19).
- Plemka je najčešće tanja od podloge pa jedan dio ostane nepokriven – razlog slabijeg primanja.
- Češći je način cijepljenja na prozor (Ilustracija 20) – posebnim se nožem (kalifornijski nož) skine komadić kore u obliku prozorića s podloge i isti takav dio kore s plemke koji nosi pup i koji se stavi na prozoričić podloge i veživom.



Ilustracije 19. i 20. Tehnika cijepljenja na prsten i prozor.

Cijepljenje na most

- Primjenjuje se u rano proljeće kad krenu sokovi kada se želi uspostaviti veza preko oštećenog debla ili jačih grana nastalih od divljači, glodavaca ili mehaničkih putem.
- Oštećivanjem kore s kambijem prekidaju se provodni snopovi – veza korijena i krošnje i, ako su uništene dvije trećine kore, voćka propadne.
- Premošćivanje se obavlja izbojkom, najbolje s istog stabla ili drugog stabla iste sorte (Ilustracija 21), a kalusiranjem umetnutog izbojka obnavlja se veza provodnih snopova.



Ilustracija 21. Tehnika cijepljenja na most.

Osim navedenih tehnika ručnog cijepljenja nožem, postoji i strojno cijepljenje, a voćari amateri često koriste i škare za cijepljenje.

Za postizanje uspjeha u cijepljenju potrebno je iskustvo i uvježbanost.

Cijepljenje voćnih vrsta obavlja se najčešće direktno u polju te se nakon cijepljenja prati daljnji razvoj plemke i podloge. Ukoliko se obavlja strojno cijepljenje ili cijepljenje u ruci, tada je poželjno nakon cijepljenja spojno mjesto što prije zaštititi parafinom (kratkim umakanjem u otopljeni parafin – temperature do 80 °C, a odmah nakon parafina umakanjem u hladnu vodu) radi zaštite od isušivanja i boljeg stvaranja kalusa. Potom sadnice idu u daljnji postupak: slažu se u sanduke s piljevinom i stavljaju u stratifikalu (kontrolirani uvjeti održavanja vlage i temperature). Nakon stvaranja kalusa, sadnice se sade u polje na kvalitetno pripremljeno tlo, redovito njeguju i održavaju do postizanja svoje konačne veličine kada se vade, označavaju, pripremaju za tržište i stavljaju u trapilište (TRAP - jarak/kanal dubine 40 - 50 cm u koji se polažu sadnice te prekriju tlom).

RASADNIK

RASADNIK je prostor gdje se proizvode voćne sadnice (Slika 9). Sastoji se od: klijališta, prporišta, matičnjaka vegetativnih i generativnih podloga, cjepilnjaka i trapilišta.



Slika 9. Proizvodnja i manipulacija voćnih sadnica u rasadniku.

SJEMENIŠTE – prostor gdje se sije sjeme za dobivanje generativnih podloga. Koštičave voćne vrste se siju u redove (koštice breskve se siju na razmak 3 cm jedna od druge, a trešnje i višnje jedna do druge u redu, dvostruko ili trostruko dublje od debljine).

PIKIRIŠTE – mjesto gdje se biljke presađuju da bi se bolje razvile - danas se pokušava izbjegći, već se siju direktno u redove (u jesen), gdje će se cijepiti (u ljetu).

MATIČNJAK GENERATIVNIH PODLOGA – matična stabla s kojih se uzima sjeme koje se stratificira i nakon stratifikacije se sije.

MATIČNIK VEGETATIVNIH PODLOGA – matični grmovi za proizvodnju vegetativnih podloga.

MATIČNA STABLA PLEMKI – stabla s kojih se uzimaju plemke.

TRAPILIŠTE (TRAP) – prostor gdje se u jesen spremaju sadnice (jarni duboki 45 - 50 cm) i čuvaju do prodaje. Trapovi se moraju tretirati mamcima zbog zaštite od glodavaca. Nakon vađenja sadnice se još mogu čuvati i u komorama (hladnjaci) s visokom vlagom (intenzivna proizvodnja).

ALAT I PRIBOR ZA CIJEPLJENJE

Osim znanja i vještine, jedan od kriterija za uspjeh cijepljenja je korištenje kvalitetnog voćarskog alata i pomoćnog pribora (Slika 10).

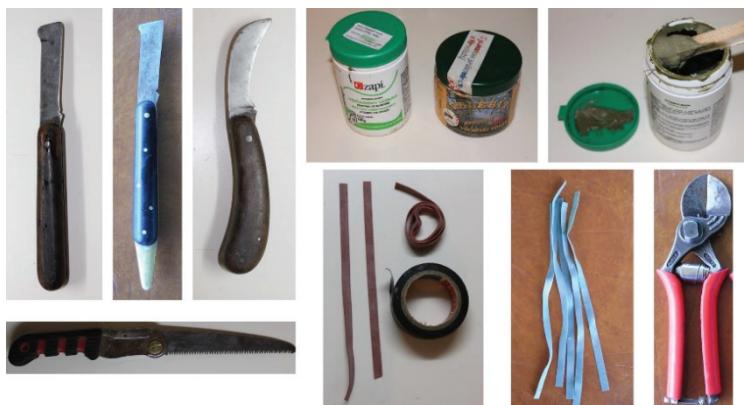
Alat treba redovito održavati i čistiti (dezinficirati) zbog sprječavanja širenja zaraze.

Osnovni alat za cijepljenje:

Cjepljarski nož – koristi se za pripremu podloge i plemke. Postoje različite izvedbe ovisno o izvedbi jezička (tupog dijela) koji služi za odmicanje kore. Važno je da oštrica bude od kvalitetnog materijala (čelika).

Voćarski nož ili hipa – koristi se za ravne i točne presjeke i za zaglađivanje rana kod većih prereza grana, a služi i za prikraćivanje podloge iznad cijepljenog mesta. Radi na potez, a ne na pritisak.

Pomoćni pribor kod cijepljenja voćaka: voćarski vosak, gumice ili folija za vezivanje, voćarske škare s dvjema oštricama, voćarska pila.



Slika 10. Alat i pomoći pribor za cijepljenje voćaka.

2. PROIZVODNJA SADNOG MATERIJALA U VINOGRADARSTVU

Vinova loza dominantno se razmnožava vegetativnim putem. Osnovni razlog korištenja ovog oblika razmnožavanja povezan je s činjenicom da se vegetativnim razmnožavanjem vjerno prenose svojstva pojedine sorte s majčinske bilje na potomstvo. Generativno razmnožavanje vinove loze koristi se uglavnom kod stvaranja novih sorata, tj. u oplemenjivačkim programima.

Generativno razmnožavanje

Svaka nova biljka vinove loze dobivena generativnim putem (iz sjemena) različita je od svojih roditelja zbog genetskih karakteristika sorata vinove loze, tj. činjenice da je glavnina svojstava temeljena na genima koji su u heterozigotnom stanju. Uz navedeno, kod većine sorata vinove loze prisutan je hermafroditan tip cvijeta uz visok stupanj samooplodnje. Ovo rezultira visokim stupnjem inbriding depresije koja je posljedica monozigotnog stanja recessivnih alela te posljedično tomu i loših karakteristika generativnog potomstva dobivenog samooplodnjom. Kod provođenja kontroliranih križanja, s ciljem razvoja novih sorata, isključuje se samooplodnja (emaskulacijom) te kontrolirano opravšivanje odabranim očinskim genotipom. Dobivene sjemenke se podvrgavaju postupku stratifikacije koji poboljšava njihovu klijavost, a nakon razvoja novih biljaka provodi se postupak selekcije na temelju unaprijed definiranih oplemenjivačkih ciljeva. Najčešći cilj modernih oplemenjivačkih postupaka je dobivanje novih sorata otpornih na najvažnije bolesti vinove loze (plamenjača i pepelnica) te se sukladno tomu u početnoj fazi razvoja sjemenjaka provodi njihovo izlaganje navedenim bolestima uz izbor biljaka (genotipova) koje pokazuju visok stupanj otpornosti. Uz klasičnu fenotipizaciju, selekciju je danas moguće provoditi i korištenjem genetskih markera kojima se u ranim fazama razvoja novih genotipova može utvrditi posjeduju li gene otpornosti za određene bolesti vinove loze, ali i neka druga svojstva.

Osnovni koraci kod generativnog razmnožavanja vinove loze u oplemenjivačkim programima:

1. Izbor roditelja – ovisi o cilju oplemenjivačkog programa. Najčešće se biraju roditelji (sorte) koji uz visok kvalitativni potencijal posjeduju i gene otpornosti

na najvažnije bolesti.

2. Emaskulacija i izolacija ženskih cvjetova majčinske biljke – neposredno prije otvaranja cvjetova fizički se uklanja kapica cvijeta zajedno s prašnicima koji u tom trenutku još nisu u potpunosti dozreli. Nakon emaskulacije, kompletne cvatove koji sadrže emaskulirane cvjetove potrebno je izolirati korištenjem papirnatih ili PVC vrećica kako bi se spriječilo opršavanje emaskuliranih cvjetova polenom neželjene sorte (prijenos polena moguć je vjetrom ili kukcima).
3. Opršavanje – nanošenje polena odabranog očinskog genotipa na emaskulirane cvjetove te ponovna izolacija opršenih cvjetova do završetka fenofaze cvatnje.
4. Berba grozdova/bobica koji sadrže sjemenke koje su nastale ciljanim križanjima. Sjemenke je potrebno ubrati kada su fiziološki zrele. Nakon berbe sjemenke je potrebno detaljno očistiti od mesa kako bi se spriječio razvoj plijesni. Nakon čišćenja sjemenke se osuše na sobnoj temperaturi.
5. Stratifikacija sjemena – ovim se postupkom povećava klijavost sjemenki koja je neposredno nakon berbe vrlo niska. Sjemenke se najčešće drže u vlažnim uvjetima pri temperaturama od oko 1 - 3 °C, čime se inducira razgradnja dormena – spojeva koji onemogućuju klijanje sjemenki. U ovim uvjetima sjemenke se najčešće drže oko tri mjeseca.
6. Sjetva i uzgoj mladih biljaka. Nakon stratifikacije, sjeme se sije u odgovarajući supstrat te se drži na temperaturi od oko 23 - 26 °C u uvjetima plastenika ili u odgovarajućim komorama rasta. Nakon nicanja biljke se uzgajaju do visine 3 - 5 listova, a nakon toga se podvrgavaju postupku selekcije koji ovisi o selekcijskim ciljevima.

Vegetativno razmnožavanje

Podloge

Kod vegetativnog razmnožavanja vinove loze neophodno je korištenje podloga. Podloge su otporne na filokseru (trsni ušenac) koji kod vinove loze izaziva propadanje korijenovog sustava, a time i cijelog trsa. Osim otpornosti na filokseru, podloge su važne jer svojim karakteristikama mogu utjecati na sortu koja se na njima uzgaja. Najvažniji utjecaji podloge na sortu su vezani uz bujnost i duljinu

vegetacije. Osim toga, podloge moraju biti prilagođene uvjetima uzgoja vinove loze, a posebno sadržaju vapna u tlu i dostupnosti vode.

Najvažnije podloge za vinovu lozu

Kao podloge za vinovu lozu koriste se kompatibilne vrste iz roda *Vitis* koje posjeduju visoku razinu tolerantnosti na filokseru. Radi se o američkim vrstama *Vitis berlandieri*, *Vitis riparia* i *Vitis rupestris*. Samostalno se rijetko koriste zbog određenih nedostataka zbog kojih su podloge koje se danas koriste u proizvodnji nijihovi križanci (hibridi).

Najvažnije podloge koje se danas koriste su:

1. *Vitis berlandieri x Vitis riparia* - Kober 5BB, 5BB. Navedena podloga je pogodna za kontinentalni klimat jer ima relativno kratak vegetacijski ciklus čime pozitivno utječe na dozrijevanje sorata vinove loze u hladnjim područjima. Dobrog je afiniteta sa sortama vinove loze te podnosi 60 % ukupnog i 20 % fiziološki aktivnog vapna.
2. *Vitis berlandieri x Vitis riparia* - SO4, SO4. Podloga SO4 vrlo je sličnih karakteristika kao i podloga 5BB i također je prikladna za kontinentalne uvjete. Osnovna razlika u odnosu na 5BB je manja bujnosc i ranije dozrijevanje. Zbog navedenih karakteristika koristi se često za smanjenje bujnosti kod određenih sorata ili za ubrzavanje dozrijevanja grožđa.
3. *Vitis berlandieri x Vitis rupestris* - 1103 Paulsen. Ova podloga je iznimno bujnog rasta te pokazuje dobru otpornost na vapno. Prvenstveno se koristi u toplijim područjima na plodnim tlima, posebno u kombinaciji sa sortama i uzgojnim oblicima veće bujnosti te u uzgoju stolnog grožđa.
4. *Vitis berlandieri x Vitis rupestris* - 140 Ruggeri. Podloga 140 Ruggeri je srednje bujna podloga s dobrom otpornošću na fiziološki aktivno vapno. Izuzetno je prikladna za uzgoj vinove loze na škrtim i skeletnim tlima s manje dostupne vode.
5. *Vitis berlandieri x Vitis rupestris* - 110 Richter. Podloga koja je među najotpornijima na sušu, međutim, podnosi nešto manje fiziološki aktivnog vapna. Relativno je velike bujnosti pa nije prikladna za plodna tla. Utječe na produženje vegetacije kod sorata koje se na njoj uzgajaju.

Matičnjaci

Proizvodnja kvalitetnog sadnog materijala nije moguća bez zdravstveno ispravnog i kvalitetnog izvora podloga i plemki. Kako bi se ovo osiguralo, podloge i plemke uzimaju se iz specijaliziranih nasada koji se nazivaju matičnjaci. Matičnjaci se formiraju korištenjem visokih kategorija sadnog materijala koji nije namijenjen za komercijalne nasade, a koji se dobiva postupcima zdravstvene i genetičke selekcije. U matičnim nasadima provode se redovite mjere nadzora kvalitete i zdravstvene ispravnosti plemki, a prilagođene mjere uzgoja u ovim nasadima usmjerene su na dobivanje visokokvalitetnih reznic.



Slika 11. Matičnjak podloga (lijevo) i plemki (desno).

Kvaliteta materijala za vegetativno razmnožavanje loze

Osnovni način vegetativnog razmnožavanja vinove loze i podloga je jednogodišnjim odrvenjelim dijelovima koji se nazivaju rozgva, a kad se govori o njihovom korištenju za razmnožavanje, nazivaju se reznice podloga i reznice plemki. S obzirom na način dobivanja i razinu kontrole postoje četiri osnovne kategorije reznica podloga i plemki:

1. Predosnovna kategorija – nastaju kao direktni rezultat klonske selekcije ili nakon stvaranja nove sorte. Obično se u njima čuva svega 5 - 10 trsova određenog klena ili sorte koji su nastali direktno iz matičnih trsova izdvojenih selekcijom. Proizvode se u matičnim nasadima predosnovne kategorije koji

se održavaju u specijalnim uvjetima koji osiguravaju visoku razinu kvalitete i sprječavaju zarazu ovog materijala vegetativno prenosivim bolestima (virusi i sl.). Koriste se isključivo za dobivanje predosnovnog sadnog materijala koji služi za podizanje osnovnih matičnih nasada.

2. Osnovna kategorija reznica podloga i plemki dobiva se iz osnovnih matičnih nasada i ne koristi se za komercijalnu proizvodnju sadnog materijala već za umnažanje predosnovne kategorije kako bi se mogli podići proizvodni matični nasadi certificirane kategorije koje koriste rasadničari. Sadni materijal koji se proizvodi korištenjem ove kategorije reznica također nosi oznaku osnovni.
3. Certificirana kategorija reznica podloga i plemki proizvodi se u matičnim nasadima kategorije certificirani, koji su pod posebnim zdravstvenim kvalitativnim nadzorom. U njima se posebno provjerava postojanje vegetativno prenosivih bolesti, sortna čistoća i sl. Kod provjere se, osim vizualne procjene, koriste i laboratorijski testovi kojima se osigurava najviši stupanj kvalitete i zdravstvene ispravnosti. Sadni materijal koji dobivamo korištenjem reznica podloga i plemki ove kategorije također nosi oznaku certificirani i predstavlja najvažniju kategoriju sadnog materijala za podizanje proizvodnih nasada za modernu vinogradarsku proizvodnju.
4. Standardna kategorija reznica podloga i plemki - dobivaju se iz matičnih nasada koji nisu prošli postupak individualne klonske selekcije, već samo masovne pozitivne te njihov sanitarni status nije provjeravan korištenjem laboratorijskih testova, već isključivo vizualnim pregledima. Za ovu kategoriju matičnih nasada koriste se najčešće sami proizvodni nasadi koji nisu podizani osnovnim ili predosnovnim sadnim materijalom. Navedeni sadni materijal u pravilu je potrebno izbjegavati, tj. koristiti samo kod sorata kod kojih nisu dostupne reznice certificirane kategorije.

Proizvodnja sadnog materijala vinove loze

Osnovni način podizanja novih vinograda je korištenjem gotovog sadnog materijala koji se proizvodi u rasadnicima. Proizvodnja sadnog materijala traje jednu vegetacijsku sezonu, a sastoji se od nekoliko osnovnih koraka:

1. Priprema reznica podloga i plemki
2. Cijepljenje
3. Stratificiranje cjepova

4. Uzgoj cjepona u prporištu
5. Vađenje cjepona i njihova priprema za tržište.

Kod proizvodnje cjepona u rasadniku potrebno je osigurati visok stupanj higijene. Posebno se to odnosi na prostore, opremu i alate koji se koriste za pripremu reznica, cijepljenje, stratifikaciju i završnu pripremu cjepona. Prilikom proizvodnje sadnog materijala na reznicama i kasnije cjeponima u više se navrata izvode različiti rezovi koji predstavljaju potencijalno mjesto ulaska u biljno tkivo brojnih patogenih gljivica i bakterija koje kasnije mogu izazvati različite probleme, kako u proizvodnji sadnog materijala, tako i kasnije nakon sadnje ovog materijala u proizvodnim nasadima. Najčešće se radi o gljivicama koje mogu uzrokovati različite bolesti drva vinove loze (npr. ESCA).

Reznice podloga

Reznice podloga prikupljaju se rezidbom u odgovarajućim matičnjacima podloga nakon završetka vegetacije, a prije početka suzenja u proljeće. Prilikom rezidbe podloge se najčešće ne prikraćuju, već se koriste u cijeloj dužini koja ima minimalan promjer 6 - 12mm (optimalno 8 - 10 mm). Nakon rezidbe se reznice podloga čuvaju u odgovarajućim uvjetima u hladnjači kako bi se sprječilo njihovo isušivanje pri temperaturi od oko 1 °C i visokoj relativnoj vlažnosti zraka. Prije početka cijepljenja podloge se pripremaju za cijepljenje osljepljivanjem i prikraćivanjem, a nakon toga se namaču u vodi s dodatkom fungicida kako bi se rehidrirale i s njih uklonile spore gljivičnih bolesti.

Osljepljivanje i prikraćivanje podloga - ovim se postupkom s podloge uklanjuju svi pupovi te se pri tome zajedno s glavnim okom moraju ukloniti i suočice. Pri tome je potrebno paziti da se na mjestu pupova ne naprave nepotrebno velike rane. Ovaj se postupak može raditi ručno ili strojno. Kod strojnog se načina izvodi specijaliziranim strojevima prije prikraćivanja reznica, a ručno se najčešće radi na već prikraćenim reznicama. Najčešće je nakon strojnog osljepljivanja reznica podloga potrebno ručno prekontrolirati i ukloniti zaostale pupove ili njihove ostatke tj. suočice. Ovaj postupak je neophodan, jer ukoliko na podlozi ostanu neuklonjeni pupovi, ne dolazi do kvalitetnog srašćivanja plemke nakon cijepljenja.

Podloge se prikraćuju na duljinu od 35 cm. Prilikom prikraćivanja se na bazi podloge ispod prvog nodija ostavlja oko 1 cm tkiva internodija, a pri vrhu se reže na odgovarajuću duljinu. Razlog ovome je što se adventivno korijenje najintenzivnije

razvija na samom nodiju, a cilj je da se isto razvije na najnižem dijelu reznice. Nakon prikraćivanja i osljepljivanja reznice podloga vežu se u snopove od 200 ili 250 komada te se namaču u vodi minimalno 24 h, i nekoliko sati u otopini fungicida (sukladno uputama proizvodača) koji se koriste za uklanjanje uzročnika gljivičnih bolesti. Važno je da se, iz higijenskih razloga, za namakanje reznica koristi čista voda koja prethodno nije bila korištena za istu namjenu.



Slika 12. Ručno prikraćivanje (lijevo) i “osljepljivanje” podloge (desno).

Reznice plemki

Reznice plemki su jednogodišnje rogvje različitih sorata vinove loze odgovarajuće debljine i duljine koje na sebi imaju dobro razvijene pupove te nisu oštećene od tuče ili nekih gljivičnih oboljenja. Njihov promjer mora biti 6 - 12 mm te moraju biti dobro odrvenjene. Uzimaju se u odgovarajućim matičnim nasadima nakon opadanja lišća. Nakon rezidbe prikraćuju se najčešće na duljinu od 5 ili 10 iskoristivih pupova te se s njih uklanjaju vitice. Pakiraju se u snopove od 100-njak reznica, tj. 500 ili 1.000 iskoristivih pupova. Nakon toga reznice plemki čuvaju se u odgovarajućim uvjetima temperature (1 - 2 °C) i visoke vlažnosti. Reznice se moraju uzimati isključivo u registriranim matičnim nasadima, tj. na tržištu s odgovarajućom oznakom kategorije (certificirana). Zabranjeno je proizvoditi sadni materijal korištenjem reznica podloga i plemki koje nisu podrijetlom iz registriranog matičnog nasada jer se na taj način prenose brojni virusi i druge vegetativno prenosive bolesti (fitoplazme) vinove loze. Navedene bolesti, osim

što umanjuju uspjeh proizvodnje sadnog materijala, uzrokuju velike gospodarske štete, slab porast sadnog materijala i propadanje vinograda.

Priprema reznica plemki prije cijepljenja odnosi se na prikraćivanje reznica na pojedinačne plemke s jednim pupom koje će se kasnije koristiti za cijepljenje. Kod prikraćivanja se iznad pupa ostavlja cca 2 cm internodija, a ispod pupa u pravilu se ostavlja 5 - 7 cm. Na tom dijelu reznice kasnije se izvodi rez kojim se plemka spaja s podlogom. Nakon prikraćivanja reznice plemki se pakiraju u mrežaste vreće te se na taj način stavljuju na namakanje u vodu te u otopinu fungicida kao i u slučaju podloge. Nakon namakanja podloga i plemka se mogu do samog cijepljenja i do nekoliko tjedana čuvati u hladnjači, ali se pri tome moraju zaštитiti od isušivanja zamatanjem u PVC foliju ili stavljanjem u plastične vreće.

Cijepljenje podloge i plemke

Cijepljenje podloge i plemke provodi se korištenjem specijalnih strojeva koji izvode tzv. omega spoj. Strojevi mogu biti na ručni (nožni) ili električni pogon. Omega spoj se koristi jer kod njega nije potrebno koristiti nikakvo vezivo nakon cijepljenja. Kod cijepljenja se mora maksimalno uskladiti debljina podloge i plemke, a sam rez na plemci nastoji se napraviti nekoliko milimetara ispod samog nodija a da se on ne oštetи. Osim usklađivanja promjera podloge i plemke, potrebno je prilagoditi orientaciju samog pupa plemke u skladu s rasporedom (uklonjenih) pupova na podlozi. Pozicija reza na podlozi nastoji se smjestiti u središnjem dijelu internodija koji se nalazi na njezinom vršnom dijelu. Osim cijepljena uz pomoć stroja, moguće je kod proizvodnje sadnog materijala koristiti i druge načine spajanja podloga i plemki, ali oni se rijetko koriste. Najčešće se u praksi koristi engleski spoj za ovu namjenu koji se izvodi ručnim cjepljarskim nožem. Ovaj način spajanja omogućuje iskorištenje tanje podloge i plemke u odnosu na omega spoj. Nakon cijepljenja spojno se mjesto što prije mora zaštiti umakanjem u parafin. Parafin se topi na oko 80 °C, a odmah nakon kratkog uranjanja u parafin spojno mjesto se mora ohladiti umakanjem u hladnu vodu. Parafin koji se koristi neposredno nakon cijepljenja je najčešće crvene boje, mekan je i može sadržati fungicidne tvari. Osnovna funkcija parafina je zaštita spojnog mjesta od isušivanja i oksidacije.



Slika 13. Cijepljenje podloge i plemke „omega“ strojem (lijevo i sredina) te prvo parafiniranje cjepova.

Stratifikacija cjepova

Nakon provedenog cijepljenja, potrebno je cjepove staviti u uvjete koji će potaknuti aktivnost kambija. Kambij na mjestu rana stvara kalus, tj. nediferencirano tkivo. Kalus služi biljci u procesu zacjeljivanja rana, a omogućuje sraščivanje podloge i plemke na spojnom mjestu. Aktivacija kambija i stvaranje kalusa postiže se pri uvjetima odgovarajuće vlage i temperature. Nakon nastanka kalusa koji popunjava mjesta reza između podloge i plemke, postupno se odvija postupak njegove diferencijacije u provodno tkivo. Priprema cjepova za stratifikaciju odnosi se na njihovo slaganje u kutije s piljevinom ili nekim drugim materijalom kojim se postiže visoka vlažnost samog cijepa. Piljevina koja se koristi u ovu svrhu mora biti od crnogorice, tj. ne smije sadržavati previsok sadržaj tanina. Osim piljevine, može se koristiti perlit, treset ili stiropor. Piljevina i treset se smiju koristiti samo jednokratno, dok se perlit može nakon korištenja tretmanom vrućom vodom ili određenim kemikalijama očistiti, tj. sterilizirati i ponovno koristiti za istu svrhu. Sanduci koji se koriste za stratifikaciju cjepova mogu biti drveni ili plastični (koje je lakše čistiti i održavati). Visina sanduka mora biti otprilike 10-ak cm veća od samih cjepova koji se slažu uspravno. Dimenzije (širina i dužina kutija) mogu biti različite, ali preferiraju se kutije manjih dimenzija do maksimalno veličine box-paleta (1200 x 1000 mm). Kutije manjih dimenzija su prikladnije zbog bržeg i jednoličnijeg zagrijavanja mase piljevine i cjepova. Slaganje cjepova u kutije s piljevinom provodi se na način da se kutije polegnu na stranu te je poželjno da se jedna bočna stranica kutije može ukloniti, tj. otvoriti zbog lakšeg punjenja. Prvo se na dno, tj. na stranicu kutije stavlja sloj piljevine od oko 5 cm. Zatim se slaže prvi red cjepova pri čemu se cjepovi mogu slagati u pojedinačne redove ili nekoliko redova. Nakon toga slijedi sloj piljevine od nekoliko centimetara pa sloj cjepova. Na taj način se slažu slojevi dok se ne dosegne oko 10 cm do gornjeg ruba (bočne

stranice kod polegnute kutije) koji se popuni piljevinom. Baza cjepova mora biti odmaknuta od dna kutije minimalno 5 cm. Kad se kutija uspravi, cjepovi se s gornje strane zasipaju piljevinom na način da je iznad cijepa tanak sloj piljevine, oko 1 - 2 cm. Nakon toga kutija se zalije čistom vodom. Kutije s cjepovima pripremljene za stratifikalu smještaju se u prostore u kojima se grijanjem temperatura podiže na oko 30 °C, kako bi se što prije zagrijao supstrat s cjepovima. Nakon zagrijavanja temperatura se spušta na 26 - 28 °C. Piljevina u kutijama cijelo vrijeme mora biti zasićena vodom. Stratificiranje traje u pravilu dva do tri tjedna, a završava postupnim spuštanjem temperature u prostoru stratifikale na razinu vanjske temperature. Kalus se mora razviti na području spojnog mjesta i biti jasno vidljiv sa svih strana. Uz navedeno, uobičajeno je da tijekom stratifikale dolazi do razvoja izboja iz pupa plemke, međutim, nije poželjno da se navedeni izboj previše razvije jer iscrpljuje rezerve hranića iz reznica. Navedeni izboj se nakon stratifikale uklanja rezanjem. Tijekom postupka stratificiranja sanduci se redovito zalijevaju, a potrebno je provoditi i zaštitu od sive pljesni koja se može razviti na mladom kalusu jer uvjeti u stratifikali izuzetno pogoduju njezinom razvoju. Osim uklanjanja izboja, nakon završene stratifikale cjepovi se klasiraju i odbacuju se oni kod kojih nije došlo do dovoljnog razvoja kalusa. Nastavno na klasiranje slijedi drugo parafiniranje, a ovaj put se cjepovi umaču u parafin do trećine ukupne dužine. U ovom slučaju koristi se parafin za vanjske uvjete koji je nešto tvrdi od onog za stratifikalu. Funkcija ovog parafina je zaštita spojnog mjesta i kalusa od isušivanja kad se cjepovi sade u prporište tj. na otvoreno. Nakon parafiniranja cjepovi se slažu u PVC kutije u koje se dodaje voda, a neposredno prije sadnje u prporište baza cjepova može se tretirati hormonskim pripravcima koji mogu potaknuti razvoj korijena.



Slika 14. Slijeva na desno: Punjenje cjepova u kutije s piljevinom, cjepovi u kutijama s piljevinom u stratifikali, cjepovi nakon stratifikale, cijep nakon stratifikale prije i nakon 2. parafiniranja.

Prporenje cijepova

Cijepovi se nakon stratificiranja sade u polje koje je posebno pripremljeno za ovu namjenu. Izuzetno je važno da parcela na koju ide prporište nije barem dvije prethodne godine bila korištena za istu namjenu zbog opasnosti od zaraze bakterijom *Agrobacterium tumefaciens* koja uzrokuje rak korijenovog vrata kod mladih cijepova. Tlo na zemljištu koje se koristi za prporenje mora biti odgovarajuće teksture, ocjedito i rahlo. Teška glinasta tla ili skeletoidna i skeletna tla nisu pogodna za ovu namjenu. Sadnju cijepova u prporište je potrebno provesti prije nastupa visokih temperatura, pri čemu je potrebno pričekati da prestane opasnost od proljetnih mrazeva.

Priprema tla za sadnju započinje prethodne godine u jesen, kad je potrebno provesti duboko zimsko oranje kako bi tlo dobro promrzlo i akumuliralo dovoljno vlage. Radi očuvanja vlage u proljeće, ali i da se izravna površina za završnu pripremu, preporuča se zatvaranje brazde blanjanjem. Za završnu pripremu tla koriste se specijalni strojevi koji formiraju humke i preko njih se navlači malč folija (PVC), uz obvezno polaganje cijevi za navodnjavanje ispod folije. Tlo se prije formiranja humka mora dobro usitnititi. Folija na vrhu humka mora biti perforirana rupama koje se naprave kotačem sa šiljcima na vrhu humka. Razmak između vrhova dvaju susjednih humaka je oko 1 m, a razmak rupa (sadnih mjesta) na foliji je obično 5 cm.



Slika 15. Cijepovi u prporištu nakon sadnje (lijevo), u vegetaciji u punom porastu (sredina) i najesen nakon opadanja lišća spremni za vađenje (desno).

Sadnja cijepova se provodi isključivo ručno. Naime, zbog krhkog kalusa koji se lako može mehanički oštetići pri sadnji, nije moguća primjena strojeva za sadnju.

Sadnja se obavlja ubadanjem cjepova okomito u tlo do otprilike polovice ukupne dužine cijepa. Važno je da je glavnina cijepa koji se nalazi iznad površine tla zaštićena parafinom od isušivanja. Nakon sadnje potrebno je navodnjavanjem osigurati dovoljnu količinu vlage, posebno u početnim fazama razvoja novog cijepa koji još nema razvijen korijen. Tijekom vegetacije prporište se mora redovito održavati. Održavanje se odnosi na uklanjanje svih korova koji se pojave uz cijep iznad malča, uklanjanje eventualnih mladića koje tjeraju iz podloge, zaštitu od bolesti i vrškanje samih mladića koje krenu iz cjepova tijekom vegetacije kako bi se osigurao nesmetan prolazak strojeva.

Vađenje cjepova iz prporišta i klasiranje

Na kraju vegetacije, nakon otpadanja lišća, provodi se vađenje cjepova iz prporišta korištenjem specijaliziranih strojeva koji imaju plužno tijelo koje reže korijen cjepova ispod razine humka (ostaje minimalno 15 - 20 cm korijena), a nakon toga se otresa tlo s korijenovog sustava i veže cjepove u snopove.

Cjepovi se potom klasiraju na način da se provjeri čvrstoća srašćivanja spojnog mjesta savijanjem, kao i razvijenost korijena na cijepu. Cjepovi koji idu na tržište moraju imati minimalno tri glavna korijena ravnomjerno raspoređena na sve strane s dobro razgranatim sporednim korijenjem. Uz to, spojno mjesto mora biti potpuno sraslo i odrvenjelo. Odrvenjela mladića tj. rozgva iz plemke mora biti dobro razvijena te se nakon klasiranja provodi rezidba na dva pupa. Poželjno je korijen prikratiti na 10-ak cm dužine i cjepove oprati u vodi te tretirati blagom otopinom fungicida kako ne bi došlo do razvoja plijesni tijekom skladištenja i transporta. Cjepovi se standardno vežu u snopove od 25 komada, a nakon toga pakiraju u kartonske kutije unutar PVC vreća.

Cjepovi trebaju biti pravilno označeni certifikatom (kategorije kvalitete) te biljnom putovnicom sukladno vrijedecim zakonskim propisima.



Slika 16. Vađenje cjepova iz prporišta (lijevo), detalj pravilno sraslog mjesta cijepljenja (sredina), cjepovi nakon klasiranja i završnog parafiniranja (desno).

3. *IN VITRO* POSTUPCI RAZMNOŽAVANJA U VOĆARSTVU I VINOGRADARSTVU

In vitro postupci razmnožavanja u voćarstvu i vinogradarstvu predstavljaju revolucionarne tehnike koje omogućuju proizvodnju velikog broja kvalitetnih i zdravih biljaka u kontroliranim uvjetima. Ova metoda, poznata i kao mikropropagacija, važna je za određene postupke u voćarstvu i vinogradarstvu zbog svoje efikasnosti i sposobnosti da prevlada ograničenja tradicionalnog razmnožavanja. Unatoč tomu, potrebno je poznavati i određena ograničenja kod korištenja navedenih metoda razmnožavanja s obzirom na činjenicu kako se kod vinove loze i mnogih voćnih vrsta u proizvodnji koriste različite podloge, a *in vitro* mikropropagacijom ne može se proizvesti sadni materijal kombinacijom podloge i plemke. Kod navedenih vrsta mikropropagacija ipak može biti korisna kod različitih postupaka gdje postoje ograničene količine podloga ili plemki pojedinog genotipa te u početnoj fazi treba brza metoda za njegovo umnažanje. Najčešće korištene metode mikropropagacije *in vitro* u vinogradarstvu i vinarstvu su: metoda razmnožavanja nodijskim segmentima i metoda razmnožavanja aksilarnim pupanjem.

Sterilizacija biljnog materijala kod unosa u *in vitro* uvjetima

Ukoliko se kao izvor biljnog materijala koriste biljke koje se uzgajaju na otvorenom, u plasteniku ili izboji iz reznica u kontroliranim uvjetima, potrebno je prije njegovog unosa u *in vitro* uvjete provesti temeljitu sterilizaciju. Sterilizacija se obično provodi na način da se nakon pripreme i rezanja biljnog materijala na segmente koji sadrže pup, nodij ili meristemski vrh i određeni manji dio okolnog tkiva, navedeni segmenti temeljito isperu vodom 15 minuta, nakon toga se materijal kratko potopi u 70 %-tну otopinu etilnog alkohola u trajanju od 20-ak sekundi. Nakon što se ocijedi alkohol, materijal se prelije 5 %-tom otopinom troklozen natrija (Izosan G, Chlormax i sl.) u trajanju od 15 minuta. U ovu se otopinu dodaje kap deterdženta Polisorbat 20 (Tween 20) prikladnog za kulturu biljnog tkiva. Nakon 15 minuta materijal je potrebno temeljito isprati destiliranom vodom koja je prethodno autoklavirana (sterilizirana) minimalno tri puta. Postupak je potrebno provoditi u laminaru kako bi se spriječila vanjska kontaminacija. Ovako opisani postupak je prikidan za različite tipove eksplantata, međutim, kod

određenih vrsta tkiva potrebne su određene modifikacije u vidu skraćivanja ili produžavanja samog tretmana otopinom za sterilizaciju.



Slika 17. Priprema bijnog materijala vinove loze za sterilizaciju i sterilizacija prije unosa u kulturu tkiva.

Priprema medija za rast biljaka u kulturi tkiva

Biljni materijal u *in vitro* uvjetima uzgaja se na umjetno pripremljenom hranidbenom mediju (podlozi). Hranidbeni medij sastoji se od: mineralnih soli (makrohraniva i mikrohraniva), ugljikohidrata (saharoza), regulatora rasta (auksini i citokinini) i vitamina. Za vinovu lozu i voćne vrste najčešće se koristi tzv. MS medij (Murashige i Skoog medij) koji sadrži navedene sastojke koji su se pokazali prikladnima za ovu namjenu. Ovdje je opisan postupak pripreme korištenjem gotovog MS medija (praškasta formulacija) koja se pokazala najprikladnjim

rješenjem za široku primjenu jer smanjuje mogućnost pogrešaka kod pripreme pojedinačnih sastojaka ovog medija.



Slika 18. MS medij za uzgoj biljaka u *in vitro* uvjetima.

Kako bismo pripremili 1 L hranidbenog medija, potrebno je odmjeriti 800 ml redestilirane vode u koju smo dodali 4,4 g MS hranidbene podloge u prahu. Otopina vode i hranidbene podloge stavlja se na magnetsku miješalicu kako bi se hranidbena podloga otopila. Nakon što se hranidbena podloga otopila, dodaju se potrebni biljni hormoni čija koncentracija ovisi o načinu propagacije (vidi u nastavku) te se otopina ulije u menzuru kako bi se precizno dodala redestilirana voda do željenog volumena od 1.000 ml. Otopina se zatim miješa na magnetskoj miješalici kako bi se izmjerio pH hranidbene podloge i pH-vrijednost se korigira do ciljane vrijednosti od 5,7 do 5,8. Za podešavanje pH-vrijednosti koriste se otopine lužine NaOH (natrijev hidroksid) i kiseline HCl (klorovodična kiselina), kap po kap, dok se nije postigla željena vrijednost. Otopina se zatim stavlja na zagrijavanje. Kada je temperatura otopine 82 °C, u otopinu se dodaje 30 g saharoze i 8 g agara (koji su prethodno bili pomiješani) uz intenzivno miješanje. Otopina se nakon toga kuha uz miješanje još nekoliko minuta do temperature od 95 °C kako bi došlo do potpunog otapanja agara. Nakon toga medij se raspoređuje u epruvete ili druge vrste kontejnera za rast, ovisno o metodi mikropropagacije. Obično se kod epruveta koristi medij dubine 3 - 4 cm, a u ostalim kontejnerima minimalno 1 cm. Kontejneri s medijem zatim idu na autoklaviranje, kako bi se hranidbeni medij sterilizirao. Autoklaviranje se provodi pri temperaturi od 212 °C i tlaku od 1 bara. Nakon sterilizacije i ukrućivanja pri temperaturi od 40 °C, hranidbena podloga se hlađi i može se koristiti za sadnju biljnog materijala u sterilnim uvjetima.

Pripremljeni medij može se pohraniti u hladnjaku i koristiti kroz vrijeme 2 - 3 tjedna, ali tijekom toga vremena može doći do postupnog pada aktivnosti korištenih fitohormona.

In vitro razmnožavanje metodom nodijskih segmenata

Razmnožavanje nodijskim segmentima pokazalo se prikladnim kod razmnožavanja vinove loze. Nodijski segmenti mogu biti podrijetlom sa zeljastih mladica koje se uzimaju s biljaka iz vanjskih uvjeta uz prethodnu sterilizaciju, ili s *in vitro* biljaka koje su dovoljno razvijene.



Slika 19. Razvijene *in vitro* biljke (lijevo) i nodijski segmenti dobiveni iz odraslih *in vitro* biljaka.

Mladice tj. biljke se podijele na nodijske segmente s jednim pupom te se stavljuju na MS medij s dodanim regulatorima rasta, i to uobičajeno auksinom (najčešće indol octena kiselina - IAA) i citokininom (najčešće 6-benzilaminopurin - BAP). Za vinovu lozu se najčešće koristi IAA u koncentraciji 0,05 - 0,1 mg/L i BAP u koncentraciji do maksimalno 0,5 mg/L, međutim ova koncentracija može varirati ovisno o sorti. Eksplantati se u ovom slučaju najčešće postavljaju na medij u epruvetama, čime se omogućuje rast biljaka u dužinu. Nakon otprilike 4 - 6 tjedana uzgoja u komori rasta razvijene biljke se mogu podvrgnuti novom ciklusu umnožavanja na isti način, ili se pripremaju za aklimatizaciju uz prethodno prebacivanje na medij za poticanje rizogeneze.

In vitro razmnožavanje aksilarnim pupanjem

Kod aksilarnog pupanja kao najprimjereniji eksplantati mogu poslužiti nodijski segmenti pri čemu se nastoji izdvojiti pup s minimalno okolnog tkiva mladice ili vršni dijelovi mladica tj. biljaka. Ukoliko se kao izvor koriste biljke iz vanjskog uzgoja, postupku prethodi sterilizacija, kao što je prethodno opisano.

Eksplantati se postavljaju na MS medij u kojem je povećana koncentracija citokinina (najčešće 6-benzilaminopurine - BAP). Kako bi se eksplantati prilagodili višim koncentracijama ovog biljnog hormona, najčešće se koristi nekoliko subkultivacija kojima se postupno povećava njegova koncentracija u MS mediju. U početnoj fazi koristi se koncentracija od 1 mg/L BAP-a te se biljke uzgajaju na navedenom mediju 15-ak dana. Nakon toga se provodi subkultivacija eksplantata na više koncentracije BAP-a, a konačna koncentracija koja je potrebna za induciranje aksilarnog pupanja (zaustavljanje rasta u visinu primarnog izboja i razvoj bočnih izdanaka) ovisi o vrsti i sorti. Kod vinove loze maksimalna koncentracija koja se može koristiti bez pojave vitrifikacije tkiva, a koja će potaknuti razvoj adventivnih izdanaka je 1,5 - 2,0 mg/L. Kod različitih voćnih vrsta potrebna koncentracija BAP-a varira u rasponu od 1 mg/L, koliko je najčešće dovoljno kod grmolikih voćnih vrsta kao što su kupina ili malina, preko raspona 1 - 5 mg/L za jabuke, kruške i sl., dok su još više koncentracije potrebne za citruse, od 38 mg/L.



Slika 20. Aksilarno pupanje inducirano kod kupine.

Nakon što se postigne razvoj adventivnih izboja na eksplantatu, izboji se uklanjuju s baze te se prebacuju na medij sa smanjenom koncentracijom BAP-a (ovisno o vrsti i sorti), tj. često na medij koji se koristi kod metode nodijskih segmenata. Nakon što se iz izboja razviju biljke odgovarajuće veličine, prebacuju se na medij za ukorjenjavanje prije aklimatizacije.

Napomena: Kod objiju navedenih metoda mikropropagacija važno je napomenuti da je potrebno provoditi eksperimente i optimizirati protokole za svaku biljnu vrstu kako bi se postigli najbolji rezultati. Koncentracija fitohormona potrebna za uspješan rast u dužinu ili indukciju aksilarnog pupanja u kulturi tkiva, dakle,

može varirati ovisno o voćnoj vrsti i specifičnim uvjetima kulture. Osim toga, faktori kao što su genotip biljke, dob tkiva, medij za kulturu i uvjeti inkubacije također igraju ulogu.

Poticanje rizogeneze

Prije aklimatizacije biljaka iz kulture tkiva na vanjske uvjete, važno je potaknuti razvoj korijena (rizogeneza). Nakon što se biljka razvije iz nodijskog segmenta ili aksilarnog pupoljka, prenesite je u novu hranjivu MS podlogu koja sadrži višu koncentraciju auksina (npr. IAA). Za vinovu lozu koriste se koncentracije IAA u koncentraciji do 1,5 mg/L, dok se za jabuku može koristiti 0,8 mg/L IAA. Ostale voćne vrste kao i sorte mogu imati specifične zahtjeve za koncentracijom auksina potrebnih za indukciju razvoja korijena te je potrebno provesti optimizaciju protokola prije šire primjene. U pravilu je potrebno dva do tri tjedna uzgoja na navedenom mediju kako bi se dobio korijen odgovarajuće veličine. Unatoč tomu, pokazalo se u praksi da je uspjeh aklimatizacije bio bolji ukoliko se uzgoj biljaka u ovoj fazi produži za dodatnih 10 do 15 dana, čime biljke kao i korijen očvrsnu i manje su osjetljive na postupak aklimatizacije.

Uvjeti u komorama rasta

Kod uzgoja biljaka u *in vitro* uvjetima neophodne su komore rasta koje omogućuju kontrolu temperature, a poželjno je i vlage. Mada sama kontrola vlažnosti nije potrebna za *in vitro* kulturu jer su biljke u izoliranim kontejnerima, ona je dobrodošla za postupak aklimatizacije biljaka. Uvjeti u komori rasta najčešće su 24 - 26 °C, uz osvjetljenje od 16 sati (3000 lux) i 8 sati tame.

Aklimatizacija biljaka

Kako bismo biljke koje su uzgajane u kulti u tkiva mogli uspješno uzgajati u vanjskim uvjetima, potrebno je provesti određeni postupak kojim se postiže njihova prilagodba na nove uvjete. Osnovna promjena koja se događa na razini biljke vezana je uz prelazak iz mikrotrofnog načina razvoja (kao izvor energije biljke u kulti tkiva dominantno koriste šećer koji se nalazi u mediju u odnosu na fotosintezu) na autotrofni način razvoja (fotosinteza). Ujedno se drastično

mijenjaju i uvjeti u kojima biljke rastu. U odnosu na sterilne uvjete s visokom vlagom koji vladaju u *in vitro* uvjetima, biljke se moraju prilagoditi na nižu vlažnost zraka (razviti kutikulu) te se prilagoditi na prisutnost različitih mikroorganizama kojima mogu biti izložene u vanjskim uvjetima. Biljke se pažljivo izvade iz kontejnera, nastojeći da se ne ošteti korijen. Nakon toga slijedi detaljno ispiranje biljaka, posebno korijena, od ostatka medija koji sadrži šećer koji može biti hrana mikroorganizmima nakon sadnje u supstrat. Biljke se sade u supstrat ili tlo koje mora biti prikladno za uzgoj presadnica, uz obilno zalijevanje tijekom početne faze aklimatizacije. Kako bi se postupno smanjivala vlažnost biljke, u početnoj fazi moraju biti prekrivene prozirnim pokrovom (PVC ili stakleni poklopci). Nakon otprilike tjedan dana poklopac se polako otvara, i to kroz naredna dva tjedna kako bi se vlažnost zraka postupno spustila na ambijentalnu. Biljke je potrebno redovito zalijevati, ali se postupno smanjuje količina vode kako ne bi došlo do asfiksije korijena. Najčešće se dio lišća koje je bilo prisutno na biljci u trenutku vađenja iz *in vitro* uvjeta nikada ne prilagodi do kraja, i kasnije se osuši, ali važno je očuvati ih dok ne krene novi rast i razvoj novih listova koji su prilagođeni vanjskim uvjetima.

Aklimatizacija se može provoditi u komorama rasta, što je poželjno zbog mogućnosti regulacije vlažnosti zraka, ali moguća je i u plastenicima, međutim, mlade biljke prvih 30-ak dana svakako moraju biti zaštićene od direktnog sunčevog osvjetljenja. Prilagodba na direktno sunčevu osvjetljenje se mora provesti postupno, kod biljaka koje su prethodno aklimatizirane na uvjete komore rasta.



Slika 21. Primjer aklimatizacije individualnih *in vitro* biljaka vinove loze na uvjete komore rasta u supstratu.

LITERATURA

- Brzica, K. (1991). Voćarstvo za svakoga; Zagreb (odabrana poglavlja)
- Cerović, S., Gološin, B., Bijelić, S., Bogdanović, B. (2015). Rasadnička proizvodnja, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Ivković, F. (2008). Čip - okulacija budućnost hrvatskog rasadničarstva. Glasnik Zaštite Bilja, 31 (5), 95-97.
- Jelaska, S. (1994). Kultura biljnih stanica i tkiva, Školska knjiga, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Jemrić, T. (2007) Cijepljenje i rezidba voćaka, Uliks, Rijeka (odabrana poglavlja)
- Kozlina, B. P. (2003). Fiziologija bilja, Profil International, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Krpina, I., Vrbanek, J., Asić, A., Ljubičić, M., Ivković, F., Čosić, T., Štambuk, S., Kovačević, I., Perica, S., Nikolac, N., Zeman, I., Zrinščak, V., Cvrlje, M., Janković-Čoko, D. (2004). Voćarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Magazin, N., Gošić, J., Vuković, D., Mihaljević, I., Tomaš, V. (2020). Priručnik o rasadničarskoj proizvodnji, IPA projekt, Osijek i Novi Sad
- Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Prjić, I. (2008). Vinova loza - Ampelografija, ekologija, oplemenjivanje, Školska knjiga, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Miljković, I. (1991). Suvremeno voćarstvo, Znanje, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Miljković, I. (2003). Opće voćarstvo, Školska knjiga, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Mirošević, N. (2006). Razmnožavanje loze i lozno rasadničarstvo, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb (odabrana poglavlja)
- Štampar, K. (1966). Opće voćarstvo, Interna skripta, Poljoprivredni fakultet, Zagreb
- Westwood, M. N. (1995). Temperate zone - pomology, physiology and culture, Third edition, Timber Press, Portland, Oregon.

O PROJEKTU:

Modernizacija obrazovne ponude provedena je u okviru projekta "Centar za suvremene tehnologije i obrazovanje u poljoprivredi, II.faza" čij je nositelj Poljoprivredno šumarska škola Vinkovci.

projektom uspostavljene RCK Vinkovci stvaraju se programski i kadrovski uvjeti koji će unaprijediti mogućnosti za učenje temeljeno na radu i praktičnoj nastavi.

Programski uvjeti se stvaraju modernizacijom postojećih obrazovnih programa i stvaranjem novog standarda zanimanja, kvalifikacija i kurikuluma.

Kadrovske uvjeti osiguravaju se sudjelovanjem na specijaliziranim edukacijama i studijskim putovanjima namijenjenim odgojno-obrazovnim zaposlenicima.

Ciljevi projekta su:

- Jačanje kompetencija odgojno obrazovnih zaposlenika
- Opremanje Centra suvremenom opremom za provedbu praktične nastave polaznika
- Razvoj novih i inovativnih programa strukovnog obrazovanje i obrazovanje odraslih

Suvremena oprema koja se nabavlja kroz projekt i modernizirani programi obrazovanja omogućuju uvođenje inovativnih metoda poučavanja i modela učenja odnosno učenje temeljeno na radu što će pridonijeti učinkovitijem uključivanju polaznika na tržište rada, ali i bolju vertikalnu pruhodnost za nastavak obrazovanja.

Ciljne skupine u projektu:

- Odgojno-obrazovni radnici u ustanovama za strukovno obrazovanje
- Učenici upisani u ustanove strukovnog obrazovanja
- Polaznici obrazovanja odraslih
- Mentorji kod poslodavaca
- Osobe s invaliditetom
- Učenici s teškoćama

Projektne aktivnosti:

- Uspostava organizacije rada i razvoja regionalnog centra kompetentnosti
- Razvoj i unapređenje te provedba programa redovitoga strukovnog obrazovanja, formalnih i neformalnih programa za obrazovanje odraslih u RCK Vinkovci
- Jačanje kompetencija odgojno-obrazovnih radnika vezanih za provedbu programa redovitoga strukovnog obrazovanja, odnosno formalnih i neformalnih programa za obrazovanje odraslih



**REGIONALNI CENTAR
KOMPETENTNOSTI**
Poljoprivredno šumarska
škola Vinkovci

- Promocija strukovnih zanimanja i rada
- Promidžba i vidljivost
- Upravljanje projektom i administracija

Projektni partneri:

- Srednja škola Ilok
- Obrtničko-industrijska škola, Županja
- Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku,
- Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
- Vukovarsko-srijemska županija
- Razvojna agencija Vukovarsko-srijemske županije
- Vinka plus d.o.o.

Program:

Operativni program Učinkoviti ljudski potencijali 2014.-2020.

Prioritetna os 3 – Obrazovanje i cjeloživotno učenje
Specifični cilj 1 – Modernizacija ponude strukovnog obrazovanja te podizanje njegove kvalitete radi povećanja zapošljivosti učenika kao i mogućnosti za daljnje obrazovanje

Ukupna vrijednost projekta:

35.910.395,54 HRK / 4.766.128,55 EUR

Razdoblje provedbe projekta:

3. srpnja 2020. – 29. prosinca 2023.

Nositelj:

Poljoprivredno šumarska škola Vinkovci

Regionalni centar kompetentnosti u sektoru poljoprivrede

adresa: H.D.Genschera 16, Vinkovci

telefon: (+385)032 306 292

elektronička pošta: info@rck-vinkovci.hr

ured@rck-vinkovci.hr

mrežna stranica projekta: <https://rck-vinkovci.hr>



**REGIONALNI CENTAR
KOMPETENTNOSTI**
Poljoprivredno šumarska
Škola Vinkovci