

PODIZANJE MATIČNOG NASADA PLEMSKI SORTE KLEŠČEC

Radić, Valentina

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Križevci college of agriculture / Visoko gospodarsko učilište u Križevcima**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:185:214698>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository Križevci college of agriculture - Final thesis repository Križevci college of agriculture](#)



REPUBLIKA HRVATSKA
VISOKO GOSPODARSKO UČILIŠTE U KRIŽEVCIMA

VALENTINA RADIĆ, studentica

PODIZANJE MATIČNOG NASADA PLEMKI
SORTE KLEŠČEC

Završni rad

Križevci, 2016.

REPUBLIKA HRVATSKA
VISOKO GOSPODARSKO UČILIŠTE U KRIŽEVCIMA

Preddiplomski stručni studij Poljoprivreda

VALENTINA RADIĆ, studentica

PODIZANJE MATIČNOG NASADA PLEMKI
SORTE KLEŠČEC

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

- | | |
|---|----------------|
| 1. Dr.sc. Vesna Samobor, prof.v.š. | - predsjednica |
| 2. Dragutin Kamenjak, dipl.ing, v. pred. | - mentor |
| 3. Dr.sc. Marijana Ivanek-Martinčić, v. pred. | - član |

Križevci, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Ampelografija.....	2
2.1.1. Ampelografska obilježja-shema za opis sorata vinove loze	2
2.1.2. Ime sorte, sinonimi i homonimi	2
2.1.3. Podrijetlo sorte.....	3
2.1.4. Rasprostranjenost	3
2.1.5.1. Mladica	4
2.1.5.2. List	5
2.1.5.3. Cvijet	5
2.1.5.4. Grozd	6
2.1.5.5. Bobice i sjemenke.....	6
2.1.6. Agrobiološka svojstva.....	7
2.1.6.1. Fenološka svojstva.....	7
2.1.6.2. Bujnost.....	8
2.1.6.3. Generativni potencijal.....	9
2.1.6.4. Osjetljivost prema biotskim i abiotskim čimbenicima	9
2.1.7. Gospodarsko-tehnološka svojstva.....	10
2.1.7.1. Rodnost.....	10
2.1.7.2. Kakvoća	10
2.1.7.3. Okolinski i uzgojni zahtjevi.....	11
2.2. Identifikacija sorata vinove loze.....	11
2.2.1. Ampelografske i ampelometrijske metode.....	11
2.2.1.1. Ampelometrija kao metoda identifikacije	11
2.2.1.2. Metoda identifikacije i opisa putem OIV-ovih deskriptora.....	13
2.3. Oplemenjivanje vinove loze	13
2.3.1. Selekcija.....	14
2.3.1.1. Zdravstvena selekcija klonova	15
2.3.1.2. Glavne bolesti vinove loze prenosive vegetativnom reprodukcijom.....	15
2.3.1.3. Metode detekcije viroza.....	16
2.3.2. Genetička selekcija klonova	16
2.3.2.1. Masovna klonska selekcija	16

2.3.2.2. Individualna klonska selekcija.....	17
2.4. Propisi i norme EU-a pri proizvodnji i prometu loznog sadnog materijala za vegetativno razmnožavanje loze.....	18
2.4.1. Vrste loze.....	18
2.4.2. Definicija materijala za razmnožavanje.....	18
2.4.3. Matični nasadi	19
2.4.3.1. Uvjeti proizvodnje u kulturi matičnih nasada.....	20
2.4.4. Materijal za razmnožavanje u proizvodnji i prometu	20
2.4.4.1. Bazni materijal.....	21
2.4.4.2. Certificirani materijal	21
2.4.4.3. Standardni materijal.....	21
2.4.5. Uvjeti koje moraju ispunjavati materijali za razmnožavanje	21
2.4.5.1. Opći uvjeti	21
2.4.5.2. Posebni uvjeti	21
2.4.5.3. Reznice podloga i plemki	22
2.4.5.4. Korjenjaci	22
2.4.5.5. Pakiranje, sastavljanje paketa ili snopova	22
2.4.5.6. Označivanje loznog sadnog materijala	22
3. MATERIJALI I METODE RADA	24
4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	26
4.1. Revitalizacija sorte Klešćec na području Koprivničko-križevačke županije (2006. – 2008.) – prva faza projekta	26
4.2. Vrijeme između dviju faza projekta.....	30
4.3. Podizanje matičnog nasada plemki sorte Klešćec	31
5. ZAKLJUČAK	34
6. LITERATURA.....	35
7. SAŽETAK.....	36

1. UVOD

Regija kontinentalne Hrvatske je siromašna autohtonim sortama vinove loze, a u mali broj onih koje tu spadaju jest i autohtona sorta vinove loze Klešćec. Postoje literaturni izvori još od 19. stoljeća gdje se navodi da je sorta identična sa sortom Knipperle odnosno Ortlieber i da potječe iz Francuske (Goethe, 1887; Mirošević i sur., 2003). Do zabune je vjerojatno došlo još 1876. godine nakon što je Anton Trummer 1876. u Mariboru predao međunarodnoj ampelografskoj komisiji popis trsja, a 1877. toj istoj komisiji u Firenzi i dopunjeni popis s imenikom trsova koji su se u Hrvatskoj smatrali domaćima. Popis je preuzeo predsjednik povjerenstva ampelograf Hermann Goethe, nakon čega je sorta kao takva uvrštena u njegov ampelografski priručnik „Handbuch der Ampelographie“. To se kasnije ponavljalo i u ostaloj literaturi.

Tijekom 2003. i 2004. godine, na području Kalničkog vinogorja zbog najave vlasnika da će iskrčiti dva stogodišnja vinograda, a zahvaljujući zaljubljenicima u lozu i vino, provedena je ampelografska determinacija sorte Klešćec uz obilježavanje (inventarizaciju) zatečenih sortno tipičnih matičnih trsova, vizualno zdravih.

Provedbom genetičke analize 2013.godine dokazano je da je sorta Klešćec (Pejić i sur., 2013.) autohtona sorta s područja Kalničkog vinogorja.

Projekt od identifikacije i inventarizacije sorte pa do proizvodnje osnovnog materijala za rasadnik, uz provedbu brojnih obvezatnih postupaka, uz znatna financijska sredstva, bio je dosta zahtjevan i završen je tek 2015. godine sadnjom matičnog nasada plemki sorte vinove loze Klešćec na površinama Visokoga gospodarskog učilišta u Križevcima.

Cilj ovog završnog rada je opisati sve faze koje su omogućile podizanje matičnog nasada plemki sorte Klešćec, a koji će omogućiti proizvodnju certificiranih loznih cijepova i masovnu sadnju i širenje ove autohtone sorte, na ovom, ali moguće i šire, odnosno i na drugim vinogradarskim područjima.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Ampelografija

Ampelografija je znanstvena disciplina iz područja vinogradarstva koja se bavi istraživanjem lozica i loza (por. *Vitaceae* i rod *Vitis*), a ponajviše sortama vinove loze (*Vitis vinifera* L.). Naziv potječe od grčkih riječi ampelos-loza i grafein-pisati, opisivati. Cilj ampelografije je utvrditi njihova morfološka, biološka i gospodarsko-tehnološka obilježja odgovarajućim znanstvenim metodama. Dobiveni podaci omogućavaju identifikaciju sorata i vrsta, kao i utvrđivanje njihovih svojstava u različitim ambijentalno-tehnološkim uvjetima, a pomažu i pri odabiru sorte, klona i podloge te odgovarajuće tehnologije.

2.1.1. Ampelografska obilježja-shema za opis sorata vinove loze

Sorte se u većini slučajeva opisuju prema ampelografskoj shemi, koju je izvorno propisala Međunarodna organizacija za lozu i vino (OIV) 1951. godine, kada je utemeljeno 2. Međunarodno ampelografsko povjerenstvo i započet rad na Međunarodnom ampelografskom registru. Danas je ponešto modificirana, ali se još uvijek koristi jer pruža informacije o obilježjima sorte a to su:

- Ime sorte, sinonimi i homonimi,
- Podrijetlo loze,
- Rasprostranjenost,
- Morfološka obilježja,
- Agrobiološka obilježja,
- Gospodarsko-tehnološka svojstva,
- Regionalizacija sorte,
- Unutarsortna varijabilnost,
- Bibliografski podaci (izvori).

2.1.2. Ime sorte, sinonimi i homonimi

- Od samih početaka uzgoja loze prevladavali su nasadi s više sorti, sorti je bilo mnogo, a prenošenjem iz jednog kraja u drugi kraj one su dobivale različita imena-sinonime te su se s vremenom počele tretirati kao druga sorta što je stvaralo problem u ampelografiji. U nekim slučajevima različite su sorte dobivale isto ime (homonimi), a nerijetko se događalo da su se sorte označavale pogrešno (imenom neke druge sorte), najčešće zbog sličnih obilježja. Iz tog je razloga međunarodnim dogovorom za sve sorte određeno glavno ime (prime name), a sva ostala imena su sinonimi. Imena sorata mogu potjecati od različitih obilježja (Maletić i sur., 2008):

- Morfološka obilježja
 - Oblik i veličina bobice-Graševina (grašak), Olivette (oliva-maslina), Šljiva (izdužena, jajolika), Kozje sise, Krivalja, Trišnjavica, itd.
 - Boja bobica-Plavac, Plavina, Ružica, Crnka, Zelenka, Zelenika, Crljenak, Belina, Žutac, Crnka, itd.
 - Obilježja mesa bobice (čvrstoća i senzorna obilježja)-Muškat, Ljutun (zbog visoke kiselosti, u Dalmaciji *ljuto*-kiselo), Mekuja, Dišeća ranina (u Hrvatskom zagorju *dišeće-mirisavo*), Traminac mirisavi, Ruža (intenzivan miris koji podsjeća na miris jarca, „prča”) itd.
 - Izgled grozda-Rukatac (krilca grozda kao ruke na tijelu), Krizol(oblik križa), Ovčji rep, Dugoviska (duga peteljka grozda), Kukuruz (dugoljast, zbijen grozd) itd.
 - Obilježja lista i mladica-Lipolist, Gustopupica ili Čestopupica (kratki interndiji), Beretinjok (list velik kao franc.kapa bereta), Plemenka peršinasta (potpuno rascjepkan, peršinast list), Biloliska, Bjeljak, Kupusar, Runjavac (intenzivna dlakavost) itd.;
- Agrobiološka obilježja
 - Vrijeme dozrijevanja - Ranac, Ranina, Ranka, itd.;
 - Generativni potencijal - Trojka, Trogrozdan (rodi i na zapercima i do tri roda tijekom vegetacije), Uboškamti („uboga radom”) itd.
 - Oplodnja - Pršljivka, Praznobačva, Nerod itd.
- Gospodarska i uzgojna obilježja
 - Visoki prinosi-Debit, Pagadebit (*tal.pagare+debito*-platiti dug, sorte koje su zahvalne zbog visokih prinosa), Punibačva itd.;
 - Podrijetla: Područja iz kojih dolaze: Palagružanka, Viška, Silbijanac, Cipar, Lipara ili Dilipar (Sicilija), Šoltanac, Sušćan ili Sansigot (otok Susak), Zadarka itd.;
- Imena osoba
 - Oplemenjivača - Bouschet, MullerThurgau, Manzoni, Pirovano, Zweigeltrebe, Scheurebe itd.
- Ostalo - Marinkovića grozje, Mijajuša, Ninčuša, Cetinka, Petrička loza itd.

2.1.3. Podrijetlo sorte

Podrijetlo sorte je teško ustanoviti zbog starosti sorte te nedostatka relevantnih literaturnih podataka. U nekim slučajevima primjenom molekularno-genetičkih metoda moguće je utvrditi roditelje, te dokazati autohtonost. Podrijetlo nekih najpoznatijih sorata u svijetu dokazano je na ovaj način (Cabernet sauvignon, Chardonnay, Rizvanac...), ali i gospodarski važnih hrvatskih sorti (Plavac mali, Pošip).

2.1.4. Rasprostranjenost

Kod rasprostranjenosti vodećih sorata navode se najvažnija područja uzgoja, po mogućnosti s pripadajućim površinama. Ako su sorte rijetke ili gotovo iščezle, navode se sva mjesta, čak i nekadašnji uzgojni areali.

2.1.5. Morfološka obilježja

Najvažnija morfološka obilježja su predmet ampelografskih istraživanja, a dijele se na kvalitativna i kvantitativna (Ravaz,1902.). Uvjeti sredine različito se odražavaju na ekspresiju pojedinih svojstava te su uslijed toga pouzdana više ili manje. Tako su dlakavost vrha mladice i naličja razvijenog lista, oblik lista i sinusa peteljka, boja vrha mladice, oblik i osnovna boja bobica te kutovi nervature vrlo stabilna svojstva pa se prema tome prilikom identifikacije njima pridaje veća važnost. Nasuprot tome, krupnoća lista, grozda i bobica, bujnost mladica, zbijenost i masa grozda su podložni utjecaju okoline i tehnologije pa su zato i manje pouzdani. Sva navedena svojstva su važna za evaluaciju i ocjenu potencijala sorte te su zastupljena i u svim deskripcijama.

Evaluacija pojedinih morfoloških obilježja se vrši u propisano vrijeme te na točno određenom dijelu trsa, a tu otpada i prvi najveći dio istraživanja. Drugi dio jest mjerenje pojedinih organa (ampelometrija) te statistička obrada dobivenih rezultata mjerenja.

2.1.5.1. Mladica

Dlakavost vrha mladice i listova: prilikom opisa pojedinih organa (vrha mladice, mladih listića i razvijenog lista) kao vrlo važno i pouzdano svojstvo navodi se nazočnost dlaka, koje se razlikuju po vrsti i intenzitetu. Prema Galetu (1998.) i Cindriću (2000.), kod sorata *Vitis vinifera* razlikuju se dva tipa dlačica:

- Kratke (čekinjaste) dlačice, koje su čvrste, postojane, uspravne i dužine do 2 mm. Bezbojne su, a nalaze se na odraslim listovima tj. počecima glavnih nerva, na licu i naličju. Prema intenzitetu razlikuje se:
 - Slaba dlakavost, s rijetkim dlačicama,
 - „Baršunasta” dlakavost, s gustim čekinjastim dlačicama.
- Duge (vunaste) dlačice, koje narastu do 10 mm. Savitljive su, mekane i slabo postojane (daju se obrisati, te razvojem vegetacije odumiru). Najčešće se mogu naći na mladim organima, vrhovima mladica i mladim listićima te naličju razvijenog lista. U pravilu su dlakavost vrha mladice i naličja razvijenog lista u pozitivnoj korelaciji. Prema intenzitetu dlakavosti vrhovi mladica i listovi dijele se na:
 - Bez (bez dlaka),
 - Paučinasto dlakave (kao paučina rijetke dlake),
 - Vunasto dlakave (gusta dlakavost, ali još uvijek providna-vidi se boja podloge),
 - Pusteno dlakave (vrlo gusta dlakavost, kada se ne prozire do epiderme, odnosno ne vidi se osnovna boja podloge).

Mladica vinove loze se razvija iz pupova (zimskih, ljetnih ili spavajućih) na bilo kojem dijelu trsa, a u samom početku je zeljasta, da bi krajem vegetacije odrvenjela. Na mladici razlikuju se zadebljanja-koljenca (nodiji), koja dijele mladica na međukoljenca (internodije)., Dužina internodija sortno je svojstvo koje se proučava ampelografskom metodom isto kao i obojenost mladica i rozgve te intenzitet dlačica.

Zeljaste mladice su zelene, većinom u narančastim, crvenkastim i ljubičastim nijansama, dok su zrele mladice obično obojane žutim i smeđim nijansama, a nodiji su tamniji. Za prepoznavanje sorata veoma je važan vrh mladice, njezina dlakavost, prisutnost antocijanskog obojenja te oblik vrha. Na mladicama razlikuju se vegetativni i generativni organi, a oni su pak smješteni na nodijima prema određenoj pravilnosti. Listovi se nalaze na svakom nodiju naizmjenično, a u njihovu pazušcu se u tijeku vegetacije razvija zimski pup (koji će izrasti u mladicu u idućoj vegetaciji) i ljetni pup (koji u istoj vegetaciji izrasta u zaperak ili mladicu 2. reda).

Grozdovi (cvatovi) se na mladicama nalaze između drugog i osmog nodija, a iznad te zone grozdova su vitice koje služe za prihvaćanje uz naslon. Rodna mladica najčešće nosi 1-3 grozda, a broj je uvjetovan genetički i obično se procjenjuje temeljem koeficijenta rodnosti pupova. Zaperci su manji i tanji od mladica iz zimskog pupa pa nemaju neku značajnu ulogu te ih se djelomično ili potpuno odstranjuje. Ovo svojstvo ovisi o bujnosti sorte jer bujnije sorte potjeraju i veći broj zaperaka. Mladice zauzimaju različit prirodni položaj na trsu (držanje), a procjena ovog svojstva vrši se u vrijeme dok su mladice potpuno slobodne za vrijeme vegetacije, a u zimskom mirovanju opisuju se odrvenjele jednogodišnje mladice-rozgve (Maletić i sur. 2008).

2.1.5.2. List

List se sastoji od peteljke i plojke, kojom je list pričvršćen za mladicu. U ampelografiji se opisuju svojstva peteljke (boja, nazočnost dlačica, dužina, debljina...) i plojke, a na njoj se razlikuje lice i naličje. Lice je najčešće golo, dok na naličju obično nalazimo dlačice koje su na žilama čekinjaste, dok su u intervalnim prostorima vunaste. Lice lista može biti glatko ili mjehurasto naborano. Mjesto gdje se spajaju peteljka i plojka ishodište je pet glavnih žila između kojih su urezi (sinusi) koji list dijele na isječke (krpe), a razlikuju se po dubini, obliku i stupnju otvorenosti. Razlikuju se gornji i donji postrani sinusi, kao i sinus peteljke. Sinusi određuju izgled lista, različitog oblika i urezanosti, a može biti trodijelan, peterodijelan, sedmerodijelan, višedijelan, cjelovit. Opisuje se još i oblik zubaca, oblik presjeka plojke te izraženost i boja nervature. Velik broj obilježja lista kvalitativna su svojstva, a mnoga se mogu i egzaktno izmjeriti i iz tog razloga u ampelografsku shemu uključena je i filometrija.

2.1.5.3. Cvijet

Cvijet je generativni organ vinove loze koji je sastavljen u cvat koji se naziva grozd. Razvija se na mladici, a njegove začeci nalaze se već u pupu. Građen je od pet zakržljalih lapova, pet latica sraslih pri vrhu, pet zakržljalih žlijezda nektarina, pet prašnika te tučka. Plodnica tučka podijeljena je na dvije komorice i u svakoj se nalaze po dva sjemena zametka pa u bobici može biti najviše četiri sjemenke. Kod loze razlikuju se tri osnovna tipa cvijeta:

- Morfološki funkcionalno hermafroditan - zbog normalno razvijenih muških i ženskih spolnih organa dolazi do samooplodnje (tučak se opraši polenom istog cvijeta). Najveći broj sorata vinove loze im ovakav cvijet (>95 %).

- Morfološki hermafroditan, a funkcionalno ženski - kod ovog tipa cvijeta također nalaze se muški i ženski spolni organi, ali su prašnici abnormalno razvijeni, kratki su i savijeni prema dolje, a polen im je po pravilu sterilan. Zbog tog razloga ne dolazi do samooplodnje, već moraju biti oprašeni polenom neke druge sorte.
- Morfološki hermafroditan, funkcionalno muški - kod ovog tipa cvijeta prašnici su pak ti koji su dobro razvijeni, ali je tučak zakržljao. Ovakve biljke ne donose plod i nalaze se samo kod nekih vrsta i njihovih hibrida te se koristi kao podloge.

Važno je u ampelografskom opisu navesti tip cvijeta za pojedinu proizvodnju. Sortama s funkcionalnim ženskim tipom cvijeta treba osigurati prikladnog oprašivača, odnosno sortu s kojom se podudara u vremenu cvatnje, a koja ima normalno razvijene prašnike.

2.1.5.4. Grozd

Kod grozdova opisuje se velik broj obilježja, a mjerenja pojedinih parametra predmet su uvometrijskih istraživanja i mehaničke analize grozda i bobice. Grozd se sastoji od bobica i peteljkovine koje nose bobice. Kod različitih sorata peteljkovina se razlikuje prema čvrstoći i stupnju odrvenjavanja. Ona završava s peteljkicama na čijem jastučiću stoje bobica, a nakon otkidanja bobice ostaje četkica. Karakterističnom crvenom bojom pomaže pri identifikaciji. Zbijeni grozdovi po pravilu imaju kratke peteljčice, a rastresiti duge i to je sortno svojstvo. S obzirom na zbijenost, grozdove se mogu podijeliti na:

- Vrlo zbijene - priljubljene bobice koje imaju deformiran oblik,
- Zbijene - bobice su jedna do druge, ali ne mijenjaju oblik,
- Rastresite - bobice su malo razmaknute jedna od druge, a na horizontalnoj podlozi grozd mijenja oblik,
- Vrlo rastresite grozdove - bobice su jako razmaknute, između njih se vidi peteljkovina, a na horizontalnoj podlozi pojedini dijelovi grozda mogu se slobodno pomicati.

Najuočljivija obilježja, uza zbijenost, su veličina i oblik. Veličina grozda se utvrđuje na temelju dužine i širine ili mase grozda, a prema obliku su cilindrični ili konusni, a mogu biti bez ili s 1-3 izražena krilca. U pravilu vinske sorte imaju manje i zbijenije grozdove, dok je za stolne sorte poželjan krupniji i rastresitiji grozd.

2.1.5.5. Bobice i sjemenke

Bobice se kod različitih sorata razlikuju u veličini, obliku, boji kože, čvrstoći mesa, boji soka i okusu. Veličina i oblik bobice utvrđuje se temeljem uvometrijskih izmjera, a sam oblik bobice jedno je od najstabilnijih i najkarakterističnijih svojstava.

Boja kože sorata može biti različitih zelenožutih nijansi, rozih, bakrenih, crvenih, ljubičastih, sivih pa čak i do tamnoplavih. Na površini kože od šare do zrelosti formira se bijela, voštana prevlaka koja se naziva pepeljak ili mašak, a štiti bobicu od prekomjerne vlage, stanište je vinskim kvascima. Intenzitet prisutnosti maška sortno je svojstvo kao i debljina i čvrstoća kože. Ova svojstva su u izravnoj vezi s prikladnosti sorte za čuvanje i transport (velika važnost za stolne sorte) i osjetljivost sorata prema *Botrytis*, a ponekad se utvrđuju i mehanička svojstva (zbog prerade i iskoristivosti).

Meso bobica vinove loze može biti različite konzistencije, što je u vezi s namjenom sorte. Sorte se razlikuju po mirisu i okusu. U bobici se najčešće nalazi jedna ili više sjemenki, no postoje i besjemene sorte koje se koriste za proizvodnju suhica.

Sjemenke se razlikuju po veličini, boji i obliku. Kod vrste *V. vinifera* su kruškolike, dugog vrha-kljuna (koji može iznositi i do 1/3 sjemenke). Uzdužnom brazdom su podijeljene na dva jednaka dijela, a na sredini leđne strane se nalazi halaza, pupčani ožiljak na mjestu gdje su u sjemenku ulazili provodni snopovi (Maletić i sur., 2008).

2.1.6. Agrobiološka svojstva

2.1.6.1. Fenološka svojstva

Cilj fenoloških istraživanja je utvrđivanje početka i trajanja pojedinih faza (fenofaza) godišnjeg biološkog ciklusa razvoja. On se sastoji od sedam faza razvoja ili fenofaza i perioda zimskog mirovanja:

- I. Suzenje ili plač - u proljeće, s povećanjem temperature zraka, a posebno tla, na svježim presjecima rozgve ili višegodišnjeg drva istječe sok. Ovo je prvi vidljivi početak novog vegetacijskog ciklusa i posljedica je povećane aktivnosti korijena. Cilj mu je nadoknaditi sadržaj vode u tkivima koji je u tijeku zime bitno smanjen, jer pri niskim temperaturama suzenje potpuno prestane.
- II. Otvaranje pupova, rast i razvoj vegetacije - dotokom vode u meristemska tkiva zimskog pupa započinju biokemijski procesi kojima se škrob, kao rezerva hranjiva koju je trs imao u vrijeme zimskog mirovanja, prevodi u jednostavnije šećere. Stanice vegetativnog vrha započinju diobu, ljuskasti listići i vunica pupa se razmiču te se pojavljuju mladi listići. Pojava prvih mladih listića (na 5 % pupova) znači početak ove faze s temperaturom višom od 10 °C. U nastavku ove faze mladice intenzivno rastu i do početka cvatnje dosegu čak 60% svoje dužine. Razvijaju se cvatovi te u cvjetovima dozrijevaju muške i ženske spolne stanice kao preduvjet za početak cvatnje.
- III. Cvatnja - cvijet vinove loze ima karakterističan način cvatnje. Latice su na vrhu srasle i čine cvjetnu kapicu, a početkom cvatnje latice se odvajaju od cvjetne lože i cijela kapica se odbacuje, pa tučak i prašnici ostaju goli. Početak cvatnje označava trenutak kada 5 % cvjetova odbaci cvjetnu kapicu, a puna cvatnja nastupa kad ju odbaci njih 50 %. Cvatnja jednog trsa traje 10-20 dana, jednog cvata 5-10 dana, a jedan cvijet cvate 3-4 dana. Razlikuju se sorte rane, srednje i kasne cvatnje. Važno je poznavanje vremena cvatnje kod sorata s funkcionalnim ženskim tipom cvijeta zbog odabira oprašivača koji se podudaraju s vremenom cvatnje. Da bi došlo do oplodnje idealna temperatura bi trebala biti oko 25 °C. Na temperaturi ispod 15 °C te pri kišnom vremenu ili jačem suhom vjetru za očekivati je problem pri oplodnji s pojavom rehljavih i sitnobobičavih grozdova.

- IV. Intenzivan rast bobica - trenutkom oplodnje, odnosno zametanja bobica, započinje faza njihova intenzivnog rasta, koja traje do početka dozrijevanja. Sadržaj kiselina u bobicama raste, a za pravilan tijek faze važna je dovoljna količina vlage u tlu jer mogu ostati sitnije nego što je to uobičajeno za sortu. Mladice lagano prelaze u sekundarni rast i odrvenjavaju od baze prema vrhu, razvijaju se cvatovi u zimskim pupovima i sjemenke.
- V. Početak dozrijevanja grožđa (šara) - početak dozrijevanja grožđa je prestanak rasta i očituje se vrlo karakterističnim promjenama. Naime, mijenja se boja kožice, postaje prozirna i mekša. Kod bijelih sorata umjesto klorofila javljaju se ksantofili i karoteni (daju žute i narančaste nijanse), a kod crnih sorata antocijani (crvene nijanse), a na kožici se pojavljuje mašak. U ovoj fazi najznačajniji jest rast šećera i pad ukupne kiselosti, a različito traje u ovisnosti od sorte, kod ranih traje kraće, a kod kasnih duže (u rasponu 20-50 dana). Zrelost – razlikuju se tri tipa zrelosti kod grožđa: fiziološka, puna i tehnološka. Fiziološka zrelost nastupa prva i to je trenutak kada su sjemenke završile svoj razvoj i postaju klijave. Puna zrelost je prestanak aktivnog nakupljanja šećera i intenzivan pad kiselina u bobicama. Tehnološka zrelost je pak vezana uz namjenu grožđa kao sirovine za proizvodnju određenih sorata vina. Na postizanje pune zrelosti najviše utječu vremenske prilike i tehnologija uzgoja, a sorte se dijele u grupe prema Pulliatu. Ako se vegetacijski ciklus izražava u danima, dijele se na: rane sorte oko 120 dana; srednje kasne sorte oko 150 dana; kasne sorte >180 dana ili pak sumom efektivnih temperatura (toplinskih jedinica potrebnih da sorta dozori).
- VI. Priprema za zimski odmor - svi stvoreni asimilati usmjeravaju se k rozgvi, starom drvu i korijenu, gdje se skladište kao rezervna hranjiva. Rezerve su potrebne lozi za početak vegetacije kao i jedan od čimbenika otpornosti na niske temperature. Lišće poprima jesenske tonove, u bijelih sorata to su žute i narančaste nijanse, a u crnih sorata crvenkaste. Nakon toga između peteljke lista i mladice počinje se razvijati plutasti sloj za odvajanje te listovi otpadaju, čime završava vegetacija.
- VII. Zimski odmor - nema vidljivih životnih aktivnosti vinove loze, sve je u stanju mirovanja osim disanja, transpiracije i translokacije organskih spojeva. Dio ovih aktivnosti usmjeren je k povećanju otpornosti loze na niske zimske temperature i nazivaju se kaljenje.

Otporne sorte trebaju manje vremena za ovaj proces, a ta dužina perioda zimskog mirovanja razlikuje se kod sorata vinove loze, što je u izravnoj vezi s kretanjem, odnosno dužinom trajanja vegetacije.

2.1.6.2. Bujnost

Bujnost trsa i mladice može biti rezultat obilježja sorte, iako je najčešće posljedica okolinskih uvjeta i tehnoloških zahvata, a bujnost zapravo i ovisi o njima (podloga, sklop, sustav uzgoja, mjere zelenog reza, opterećenje). Naime, važno je postizanje ravnoteže između vegetativnog i generativnog potencijala (bujnost i rodnost).

Primjenjuje se nekoliko metoda za procjenu bujnosti sorte, a najvažnije su:

- Masa jednogodišnjeg prirasta-mjeri se masa rezom odbačenih mladica (tijekom vegetacije) i rozgve u periodu zimskog mirovanja.
- Vizualna (okularna) metoda-sorta se vizualno uspoređuje s drugom u istim uvjetima te se na temelju toga ocjenjuje njezina bujnost. Razlikuje se pet grupa po bujnosti: vrlo bujne, bujne, srednje bujne, slabo bujne i sorte vrlo slabe bujnosti.

2.1.6.3. Generativni potencijal

Generativni potencijal je nasljedna sklonost neke sorte k postizanju određene rodnosti, obilježeno rodnošću pupova i masom grozda promatrano kao biološko svojstvo. Pokazatelji generativnog potencijala su koeficijenti rodnosti, a razlikuje se:

- Koeficijent potencijalne rodnosti (KpR) - označava broj grozdova po pupu, a uključuje sve zimske pupove ostavljene rezom u zrelo, računajući i pupove koji nisu potjerali. Važan je pokazatelj generativnog potencijala, a izračunava se tako da se broj grozdova podijeli brojem ostavljenih pupova (opterećenje).
- Koeficijent rodnosti mladica ili relativne rodnosti (KrR) - pokazuje broj grozdova po mladici, ne uključuje nepotjerale pupove. Dobije se dijeljenjem broja grozdova s ukupnim brojem mladica (rodne i nerodne), a kreće se u vrlo širokim granicama 0,2-2,0. Vrijednosti do 0,5 označavaju sorte niskog KrR-a, do 1,0 srednjeg, do 1,5 visokog, a sorte koje pokazuju veće vrijednosti su sorte s vrlo visokim KrR-om.
- Koeficijent apsolutne rodnosti (KaR) - uzima u obzir samo rodne mladice, tako da njegove vrijednosti ne mogu biti manje od 1. Utvrđuje se tako da se broj grozdova podijeli s brojem rodnih mladica, a na ove vrijednosti najviše utječe način reza.

Koeficijent rodnosti se utvrđuje u vrijeme cvatnje, prebrojavanjem ostavljenih pupova, potjeralih mladica i na njima razvijenih cvatova, gdje se pozornost obraća na rodnost bazalnih pupova.

2.1.6.4. Osjetljivost prema biotskim i abiotskim čimbenicima

Među abiotskim čimbenicima najvažnija je otpornost sorata vinove loze prema niskim temperaturama, što je dobrim dijelom posljedica sortnih obilježja, a najčešće se povezuje s podrijetlom sorte, odnosno pripadnosti sorte pojedinim ekološko-geografskim grupama. Najotpornije su iz grupe *occidentalis*, podgrupe *gallica*, a najosjetljivije iz grupe *orientalis*, podgrupe *balcanica*, kojoj pripadaju mnoge naše autohtone sorte.

Biotski čimbenici vrijedni pozornosti su najvažnije kriptogramske bolesti (*Plasmopara*, *Oidium*, *Botrytis*), a treba navesti da su sve sorte *Vitis vinifera* osjetljive na navedene bolesti, a veća ili manja osjetljivost je rezultat morfoloških razlika. Stupanj otpornosti se ocjenjuje pute OIV deskriptora, a razlikuju se razine ekspresije od 1 (vrlo slaba) do 9 (vrlo visoka).

2.1.7. Gospodarsko-tehnološka svojstva

2.1.7.1. Rodnost

Rodnost se izražava prinosom grožđa po jedinici površine. Na prinose pak utječe generativni potencijal kao sortno svojstvo, okolinski uvjet i primjena tehnologije. Podjela na sorte slabe, srednje i visoke rodnosti rezultat su njihova rodnog potencijala, ali i mogućnosti prilagodbe različitim sustavima uzgoja, tehnološkim zahvatima (opterećenje, gnojidba, navodnjavanje) te adaptabilnost na klimatske i pedološke uvjete različitih područja.

2.1.7.2. Kakvoća

Kakvoća sorte određena je njezinim genetičkim potencijalom, a zatim i vanjskim utjecajima tj. okolinskim čimbenicima koji su veoma važni za ekspresiju sortnih obilježja. Kakvoća vina je najčešće rezultat zajedničkog djelovanja sljedećih čimbenika:

- Kvalitativni potencijal sorte,
- Ekološki čimbenici položaja (klimatski i pedološki),
- Vremenske prilike (obilježja godine),
- Tehnologija proizvodnje grožđa,
- Vinifikacija.

Šećeri nastaju kao rezultat fotosinteze, a najvažniji su glukoza i fruktoza. Na početku dozrijevanja glukoze je puno više, no dozrijevanjem sve je više i fruktoze. Sadržaj tih šećera u grožđu/moštu određuje se najčešće s pomoću nekoliko fizikalnih metoda, ponajprije mjerenjem relativne gustoće (specifične težine) primjenom tzv. moštne vage. Neke od najpoznatijih su Oechsleova i Baboova moštne vage.

Osnovne kiseline su vinska, jabučna i limunska, a u jako maloj količini su askorbinska, oksalna, glikolna. Vinska kiselina je ključna i najjača organska kiselina mošta koja najviše utječe na pH-vrijednost i kiselost. Jabučna kiselina na početku dozrijevanja ima vrlo visoke vrijednosti, no prema punoj zrelosti njezina koncentracija opada. Pad koncentracija kiselina vezan je za oksidaciju, izgaranje u procesu disanja što je u ovisnosti s temperaturom zraka. Ukupna kiselost se izražava u gramima po litri kao vinska kiselina (u nekim zemljama kao sumporna), a utvrđuje se postupkom titracije (neutralizacije) s NaOH. Tvari mirisa čini skupina od nekoliko stotina hlapivih spojeva, a najviše zastupljeni hlapivi sastojci primarne arome su monoterpeni, odgovorni za cvjetne i voćne mirise aromatičnih sorti. Mirisi se utvrđuju objektivnim, analitičkim metodama (plinska i tekućinska kromatografija) i subjektivnim metodama (senzorna ocjena).

Polifenoli su velika skupina organskih spojeva od kojih su najvažniji antocijani, tvari koje daju boju crnim sortama. Javljaju se u obliku glikozida, kod *Vitis vinifera* pretežito monoglikozida, a najčešće su monoglikozidni derivati cijanidina, delfinidina, petunidina, malvidina i peonidina, a na njihov sastav i intenzitet utječu unutarnji (sorta) i vanjski čimbenici (klima i tlo). Tu se još nalaze i drugi sastojci iz skupine flavonoidnih fenola (flavonoli, katehini), kao i neflavonoidnih fenola (fenolne kiseline). Za kakvoću grožđa važni su još i tanini, polifenolni spojevi složene strukture, a nalaze se u sjemenki, peteljci i kožici i odgovorni su za trpkost vina.

Osim što utječu na fizikalno-kemijska i senzorna svojstva vina, istaknuta je uloga polifenolnih spojeva u povoljnom utjecaju na zdravlje ljudi. Naime, jako antioksidacijsko djelovanje usporava ili blokira negativno djelovanje slobodnih radikala u organizmu.

Mineralne tvari se nalaze u ukupnoj količini od nekoliko g/L u moštu, a najviše je kalija, posebice u toplijim područjima i godinama, a prisutan je još i kalcij, magnezij, fosfor, željezo i sumpor. Ostali spojevi s dušikom su aminokiseline, bjelančevine, amonijak i vitamini kao tiamin, riboflavin, piridoksin itd. (Maletići sur., 2008).

2.1.7.3. Okolinski i uzgojni zahtjevi

Ekspresija sortnih obilježja je pod velikim utjecajem vanjskih čimbenika, primjeni tehnologije i to je sve u neposrednoj vezi s njihovim biološkim i gospodarskim obilježjima. To su vrijeme početka vegetacije, postizanje pune zrelosti, bujnost, osjetljivost na bolesti i štetnike, afinitet s lozним podlogama te izbor mogućih oprašivača ako se radi o sorti s funkcionalnim ženskim tipom cvijeta. U ampelografskoj shemi se još pod pojmom regionalizacija sorte navode područja za koja je sorta preporučena ili dopuštena prema nacionalnoj legislativi. Procjenjuje se i razina unutarsortne varijabilnosti kod populacije koje još nisu prošle postupak klonske selekcije, navodi se broj priznatih klonova kod rasprostranjenih, ekonomskih, značajnih sorata. Važni su i svi bibliografski podaci korišteni pri ampelografskoj obradbi neke sorte, čime se kompletiraju svi podaci potrebni za njezin sustavni opis i evaluaciju.

2.2. Identifikacija sorata vinove loze

Pouzdana identifikacija sorata vinove loze jest glavni razlog stalnog usavršavanja tih metoda, a razvojem novih tehnika one su sve pouzdanije pa se stoga dijele u tri skupine:

- Ampelografske i ampelometrijske metode,
- Molekularno-genetičke metode,
- Biokemijske metode.

2.2.1. Ampelografske i ampelometrijske metode

Temelje se na opažanju i opisu pojedinih obilježja i takve metode se zovu ampelografske, a rezultati koji se dobivaju mjerenjem su ampelometrijske metode. Mjerenje obilježja odraslog lista naziva se filometrija, a grozda uvometrija. Prvi ju je uveo H. Goethe (1878.), razvio L. Ravaz (1902.), a dopunjavali P. Galet (1951.) i A. Rodrigues (1952.). Prednost ampelometrije je u tome što je objektivnija od senzorne evaluacije, a rezultati se mogu statistički obraditi te se stoga primjenjuje i danas. Od samih početaka postignut je veliki napredak, a posebno 1983. godine kada je uveden tzv. deskriptor, usklađen od triju organizacija koje se bave zaštitom genetičkih resursa - OIV, UPOV i IPGRI.

2.2.1.1. Ampelometrija kao metoda identifikacije

Različita mjerenja koja su u ampelografska istraživanja uvedena s nakanom objektivnog opisa. U ampelometrijska mjerenja u okviru ampelografske sheme za opis sorata obično je uključena filometrija, uvometrija, mehanička analiza grozda i bobica te mjerenje dužine i debljine internodija.

Filometrija (lat. *phylum* - list) je metoda kojom se s pomoću različitih izmjera lista utvrđuju njegova obilježja, a mjere se površina lista, dužina i širina plojke, dužina glavnih i nekih sekundarnih žila, kutovi nervature, dubina sinusa, veličina zubaca, dužina peteljke itd. Temeljem tih izmjera mogu se listove razvrstati:

- Prema veličini - na temelju površine ili odnosa dužine lista i peteljke,
- Prema obliku - na temelju odnosa dužine i širine lista, odnosa glavni žila i veličine kutova između njih,
- Prema dubini sinusa,
- Prema veličini zubaca,
- Prema dužini peteljke,
- Prema otvorenosti/preklopljenosti sinusa peteljke itd.

Mjerenja se obavljaju na potpuno odraslim listovima koji se uzimaju između 9. i 12. nodija rodne mladice, a uzorak čini najmanje 10 listova. Za razliku od nekadašnjih mjerenja koja su bila veoma spora i mjerena ručno, danas se filometrija provodi na digitalnoj grafičkoj ploči, povezanoj s računalom. Izmjere se statistički računaju pomoću različitih programa, a izračunava se prosječna vrijednost uzorka te koliko je odstupanje od prosjeka u populaciji. Koristi se za identifikaciju neke sorte (pripada li istraživani uzorak nekoj populaciji-sorti), za utvrđivanje ukupne razine unutar sortne varijabilnosti.

Uvometrijom (lat. *Uva-grozd*) utvrđuju se obilježja grozda i bobice gdje se mjeri masa grozda, dužina i širina grozda, broj bobica te dimenzije bobica, razvrstavanjem sorte u grupe:

- Sorte s malim grozdom (do 80 g),
- Sorte s srednje velikim grozdom (80-160 g),
- Sorte s velikim grozdom (160-240 g),
- Sorte s vrlo velikim grozdom (240 g).

Naime, na temelju odnosa dužine i širine bobice računa se indeks bobice. Sorte kod kojih je dužina jednaka širini (indeks=1) imaju okrugle bobice. Indeks bobica <1 (dužina manja od širina) govori da je bobica spljoštena, a ako su vrijednosti indeksa veće od 1, da je bobica izdužena. Prema stupnju izduženosti dijele se na:

- Jajolike (indeks 1,1-1,3),
- Izdužene (indeks 1,3-1,6),
- Vrlo izdužene (indeks >1,6).

Prema srednjem promjeru (dužina + širina/2) bobice dijele se na:

- Vrlo male (do 8 mm),
- Male do srednje (8-13 mm),
- Srednje velike (13-18 mm),
- Velike (18-23 mm),
- Vrlo velike (>23 mm).

Uvometrijska istraživanja se provode u fazi pune zrelosti grožđa, na uzorku ne manjem od 10 grozdova i 100 bobica. Moraju biti neoštećeni, a uzimaju se na točno propisan način, koji osigurava reprezentativnost uzorka.

Mehanička analiza grozda i bobica uobičajeno se provodi zajedno s uvometrijom, a orijentirana je na procjenu tehnoloških obilježja sorte, odnosno ocjenu njezinih obilježja kao sirovine za preradu u vino ili neku drugu namjenu. Provodi se na grozdovima u vrijeme pune zrelosti, na 10 grozdova, 100 bobica. Svakom grozdu se izbroje sve bobice i odjele od peteljkovine, a iz cijelog uzorka se uzme 100 bobica te se odvoji kožica, meso i sjemenke. Zatim se izvaže masa kožice 100 bobica te masa i broj sjemenki.

Temeljem ovih izmjera mogu se utvrditi pokazatelji sastava grozda i bobica, a parametri se mogu iskazati u apsolutnim vrijednostima.

Najvažniji relativni pokazatelji su: postotak peteljkovine u grozdu, postotak mesa, strukturni pokazatelji grozda te pokazatelj bobica (broj bobica u 100 grozda).

2.2.1.2. Metoda identifikacije i opisa putem OIV-ovih deskriptora

Osnovna razlika ove metode od dosadašnjih načina ampelografskih opisa je u tome što je svako svojstvo označeno tzv. OIV-ovim kodom, a njihovo očitovanje (razina ekspresije) brojem (OIV,1983.). Razine ekspresije se određuju brojevima, s tim da neka svojstva mogu biti alternativna, a neka kvantitativna unutar skale od 1 do 9. Minimalne liste deskriptora su za:

- Primarnu evaluaciju u kolekcijama sorata (tzv. banke gena) - 21 obilježje
- Identifikaciju genotipa - 54 obilježja,
- Opis najvažnijih morfoloških i uzgojnih obilježja sorata - 71 obilježje
- Zaštitu novog genotipa - 78 obilježja.

Deskriptori su izvorno podijeljeni na primarne i sekundarne, primarni su morfološki i služe za identifikaciju genotipa. Sekundarni služe za detaljniji opis sorte, primjerice oplemenjivačima prilikom priznavanja novih sorata ili klonova. Primarni su bazirani na kvalitativnim obilježjima, čime se povećava podudaranost metode, a u međuvremenu su uvedeni deskriptori s markerima SSR (*Simple Sequence Repeats*), čime se pouzdano rješava pitanje identifikacije.

2.3. Oplemenjivanje vinove loze

Oplemenjivanjem vinove loze se stvara osnova za proizvodnju sadnog materijala s poboljšanim neslijednim agronomskim svojstvima, a stvara se pomoću skupa metoda i postupaka. Najvažniji cilj oplemenjivanja je rodnost ili prinos. Sorta je pak populacija biljaka jedne vrste koja se iskazuje nizom specifičnih bioloških i gospodarskih važnih svojstava po kojima se razlikuje od drugih sorata, a ta svojstva pokazuju sve jedinke u populaciji te se sve zadržavaju nakon reprodukcije. Tip sorte vinove loze s obzirom na način postanka je isključivo klonska selekcija, tj. populacija biljaka heterozigotne strukture, ali uniformnoga genotipa. Vinova loza se razmnožava sadnicama što je vegetativno razmnožavanje koje još nazvano i kloniranje.

Iako svi trsovi unutar sorte u vinogradu pokazuju ista sortno specifična svojstva, može doći do pojava spontanijih mutacija. Mutacijom jedinke mogu doživjeti veće ili manje nasljedne promjene genotipa i kao takve s vremenom mogu utjecati na pojavu unutar sorte genetičke varijabilnosti. Osim mutacijama, veliki utjecaj imaju i okolinski uvjeti tj. skup biotskih i abiotskih čimbenika. Te promjene su modifikacije, a s obzirom na to da su prolazne, promjene nestaju kada prestaje i okolinski uzrok koji ih je izazvao. Razlikuju se kvalitativna svojstva koja pokazuju stabilnu ekspresiju i kod vrlo drastičnih promjena uvjeta okoline, a najčešće se i koriste za identifikaciju. Također razlikuju se i kvantitativna svojstva, gdje ekspresija kod pojedinih jedinki u populaciji varira u svojoj vrijednosti tako da čini kontinuirani niz. Ne koriste se za razlikovanje svojstva, ali određuju agronomska obilježja kao što su prinos, kakvoća grožđa, bujnost, tolerantnost na neke bolesti i šetnike (Mirošević, 2007.).

2.3.1. Selekcija

Selekcija je dio ukupnog procesa oplemenjivanja bilja gdje oplemenjivač iz početne populacije genetički heterogenih biljaka izdvoji, razmnoži i sustavno evaluira genotipove koji odgovaraju ciljevima oplemenjivanja. Oplemenjivač određenim tehnikama selekcije racionalno i temeljito analizira populaciju pod selekcijom, posao se obavlja u selekcijskom nasadu koji je posađen tako da omogućava odvajanje okolinskih učinaka i realnu procjenu vrijednosti genotipa. Najbitnije je da selekcijski nasad bude smješten u prostoru sličnih pedoklimatskih faktora u kojima se planira uzgoj budućih nasada.

- I. krug selekcije (selekcija sjemenjaka) – nakon uzgoja i predselekcije sjemenjaka te sadnje početne populacije u selekcijsko polje, započinje sustavno promatranje svake pojedine jedinke. Glavni cilj selekcije jest da se svako svojstvo pojedinih jedinki u populaciji bude mjereno u isto vrijeme kako bi se precizno utvrdile razlike među njima. Jedinke populacije prate se u pojedinim fazama, oplemenjivač bilježi mjerenja određenih svojstava kao što su ocjena bujnosti razina simptoma bolesti, broj rodnih pupova i boja bobica. Već nakon prve godine selekcije vrši se odbacivanje jedinki koje ne zadovoljavaju postavljene ciljeve i dalje se nastavlja promatrati one genotipove koji su zadovoljili u prvom krugu selekcije.
- II. krug selekcije (ispitivanje klonskih linija) – nakon prvog kruga selekcije odabrane biljke se vegetativno razmnožavaju u klonske linije (obično 3 - 20 klonskih potomaka) i sade u izdvojeni nasad, uz njih se sade i sorte roditelji na parcelama iste veličine, nacijepjeni u isto vrijeme i na istu podlogu. Vršiti se usporedba potomaka s roditeljima u istim uzgojnim uvjetima jer time se može uvidjeti u kojoj mjeri je došlo do očekivanog nasljeđivanja i ekspresije željenih svojstava, objektivno se sagledava selekcija. Nakon sakupljanja podataka više godina odbacuju se neperspektivni genotipovi, dalje se razmnožava manji broj jedinki koje su najbliže postavljenom cilju i ulazi u sljedeći krug selekcije.
- III. krug selekcije (završno ispitivanje) – zadržava se samo manji broj najperspektivnijih genotipova, ne više od 10 do 20, koji se razmnožavaju u najmanje 100 – 200 biljaka.

U ovoj fazi je preporučljivo klonske potomke cijepiti na bar dvije različite podloge kako bi selekcija u drugom krugu mogla uz ostala svojstva pokazati afinitet i kompatibilnost s najvažnijim podlogama. Ako je prisutan veći broj jedinki postavlja se poljski mikro pokus s ponavljanjima, čime se minimalizira utjecaj heterogenosti tla i individualnog razvoja na procjenu sustava. Ovakav pokus se naziva komparativnim i njegov rezultat daje konačni izbor genotipova koji se predaju sortnoj komisiji na postupak službenog ispitivanja za priznavanje sorte. Intenzitet selekcije (postotak odbačenih genotipova od ukupne populacije) treba biti najveći u prvom krugu selekcije, a u kasnijim fazama se postupno smanjuje. S druge strane makro pokus podrazumijeva uzgoj pojedinog genotipa u standardnim proizvodnim uvjetima (kod boljih vinogradara) koji se koristeći se svojom standardnom tehnologijom, nezavisno od oplemenjivača sami procijeniti vrijednost novoga genotipa iz svoje perspektive (Mirošević, 2007.).

2.3.1.1. Zdravstvena selekcija klonova

Zdravstvena selekcija je izbor zdravih biljaka koja se provodi usporedno s genetičkom selekcijom te podrazumijeva odabiranje zdravih trsova, tj. otkrivanje i proučavanje simptoma bolesti što ih uzrokuju virusi i njima slični organizmi, a prenose se vegetativnim razmnožavanjem. Biljni virusi za razvoj i reprodukciju trebaju živu stanicu domaćina jer su obligatni biotrofni paraziti, a na trsu mogu uzrokovati različite biokemijske promjene koje se različito manifestiraju. Prenose se pasivno preko rana putem prenosioca (nematode, biljne uši i dr.) i mehanički sa sokom prilikom cijepljenja. Zdravstveno stanje cijepa ovisi o zaraženosti podloge i plemke jer samo cijepljenjem zdrave plemke na zdravu podlogu moguće je proizvesti zdravu biljku. Dakle, za dobivanje visoko kvalitativnog (certificiranog) sadnog materijala nije dostatna selekcija na temelju simptoma, već su potrebne laboratorijske i biološke metode ili u nekim slučajevima metode ozdravljenja.

2.3.1.2. Glavne bolesti vinove loze prenosive vegetativnom reprodukcijom

Međunarodno vijeće za proučavanje virusa (*The International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine – ICVG*), navodi više od 70 štetnih bolesti vinove loze. Da bi sadni materijal vinove loze imao status „bez virusa i virusima sličnih bolesti”, testovi moraju biti negativni na ove viruse: GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3 i ArMV, te još dodano i na GfkV za podloge, a sve to prema trenutno vrijedećim propisima EU-a (direktiva 2005/43/EC). Dakle, to ne znači da mora biti bez apsolutno svih virusa, već samo onih koji uzrokuju najveću štetu.

Virus lepezastog lista vinove loze (GFLV)

Naziv je još i virus infektivne degeneracije, pripada skupini nepovirusa i rasprostranjen je u svim vinogradarskim zemljama svijeta. Najrašireniji virus izaziva kompleksnu bolest poznatu kao *infektivna degeneracija*, a prenosi se nematodama tla iz rodova *Xiphinema* i *Longidorus* i razmnožavanjem zaraženih biljaka.

Vanjski simptomi bolesti su vidljivi na lišću u promjeni boje i oblika (žute i klorotične pjege, mozaik, lepezasta plojka lista) te morfološke abnormalnosti mladice (dvostruki nodij, skraćeni internodij, nepravilno grananje), a moguća je smetnja i prilikom oplodnje cvjetova pa time plodovi mogu biti prorijeđeni, grozdovi rehljaviti i smanjeni.

Virus mozaika mozaika gušarke e (ArMV)

Virus uzrokuje infektivnu degeneraciju i pripada skupini nepovirusa, prenosi se nematodama iz roda *Xiphinema*. Simptomi su od skraćivanja internodija, dvostruki nodiji, smanjeni klorotični listovi s naglašenim nazubljenjem do rehljivosti grozda.

Virus uvijenosti lišća vinove loze (GLRaV)

Virus pripada skupini klosterovirusa, a simptomi bolesti uključuju uvijanje listova s lica prema naličju, što se najbolje vidi pred kraj vegetacije. Zatim, neprirodno žućenje kod bijelih, a crvenilo lista kod crnih sorti, dozrijevanje grožđa nejednoliko tako da se zelene bobice mogu vidjeti u vrijeme berbe. Bolest još uzrokuje smanjenje uroda i sadržaja sladora. Prenosi se vegetativnom reprodukcijom zaraženih biljaka, a ovisno o tipu virusa s nekoliko specijaliziranih vrsta biljnih ušiju.

2.3.1.3. Metode detekcije viroza

U programu klonske selekcije vrlo je važno uočiti simptome bolesti, ako ne sudjeluje fitopatolog, selekcionar mora surađivati s ekspertima za detekciju bolesti. Prilikom zdravstvene selekcije koristi se više metoda za detekciju viroza, a to su:

- Vizualna detekcija na temelju karakterističnih degenerativnih simptoma,
- Biološka detekcija – indeksiranje,
- Serološke metode (ELISA),
- Molekularna dijagnostika – PCR metode.

2.3.2. Genetička selekcija klonova

Klonska selekcija podrazumijeva usporednu genetičku i zdravstvenu selekciju i temelji se na pretpostavci da početni klonski kandidati nisu ni genetički ni zdravstveno uniformni, bez obzira na vegetativni način razmnožavanja (Maletić i sur., 2008). Cilj masovne klonske selekcije je očuvanje samog identiteta sorte, njezinih specifičnih obilježja pročišćivanjem populacije sorte od negativnih mutanata i sprečavanje njihova razmnožavanja u proizvodnji sadnog materijala kategorije *standard*. No, cilj individualne klonske selekcije je izdvajanje i razmnožavanje pozitivnih mutanata i njihovo uvođenje u proizvodnju u statusu *klona*.

2.3.2.1. Masovna klonska selekcija

U ovom tipu selekcije vrši se evaluacija i označavanje trsova u matičnom vinogradu ciljane sorte, a uključuje fenotipsku (vizualnu) genetičku i zdravstvenu selekciju. Time se dobiva pročišćen i ujednačen, ali ne i potvrđeno čist i zdravstveno ispravan materijal.

Proces selekcije započinje službenim uvođenjem određenog nasada u sustav promatranja (umatičenjem) otvaranjem knjige selekcije, u koju će se unositi višegodišnji rezultati evaluacije (Mirošević, 2007). Prva evaluacija se provodi tijekom cvatnje zbog sorte identifikacije, ocjene zdravstvenog stanja, bujnosti te eventualnih ozljeda biljke. Druga se provodi prije same berbe, a tijekom pune zrelosti. Tada se ocjenjuju izgled grozda, boja bobice i količina uroda. Treća se pak provodi neposredno prije opadanja lišća radi detekcije nekih virusa. Masovna selekcija prema karakteru može biti pozitivna ili negativna.

2.3.2.2. Individualna klonska selekcija

Ona podrazumijeva izbor, genetičku i zdravstvenu provjeru odabranih elitnih trsova te provjeru genetičke stabilnosti svojstava i zdravstvenog statusa klona tijekom najmanje dvije vegetativno razmnožene generacije. Provodi se unutar populacija sorti za proizvodnju grožđa, ali i loznih podloga. Specifična obilježja klonskih kandidata moraju se prenositi na vegetativne potomke, što znači da se pozitivne genetičke promjene (mutacije) moraju odražavati na fenotipu klonskih linija ili u kemijskom sastavu mošta i vina, a to pak omogućuje njihovo kvalitativno i kvantitativno razlikovanje od ostatka populacije ili drugih klonova.

U ovoj selekciji obavezna je mikroviniifikacija grožđa klonskih kandidata radi kemijske analize i organoleptičke ocjene vina. Proces individualne klonske selekcije može se podijeliti u tri faze:

- Pretklonska selekcija izvornih matičnih elitnih trsova – klonskih kandidata
- Selekcija potencijalnih klonova (klonska selekcija)
- Zaključno ispitivanje i priznavanje (Maletić i sur., 2008)

Početak selekcije počinje izborom trsova vinove loze koji su prošli masovnu selekciju i spadaju u kategoriju *standard*. Također mogu biti izabrani na temelju selekcionarova odabira prema nekim obilježjima: posebna arhitektura grozda, promjene u vremenu dozrijevanja, promjena u boji kože i sl. Ove trsove označimo kao *izvorne matične elitne trsove* te ih uključimo u postupak pretklonske selekcije, koja se odvija na mjestu uzgoja elitnog trsa. Potrebno je odrediti ove razlikovne elemente novog klonskog kandidata tijekom pretklonske selekcije:

- Pozitivna identifikacija sorte prema metodi OIV deskriptora (minimalni opis), poželjno uz genetičku identifikaciju s pomoću SSR metode.
- Podjela elitnih trsova iste sorte u skupine po opaženim pozitivnim tehnološkim osobinama (npr. veći urod, veći slador, bolja obojenost grožđa crnih sorti, otpornost na bolesti, tolerantnost na stresne uvjete i sl.).
- Ampelografske posebnosti elitnih trsova opisuju se po metodi OIV deskriptora (npr. tip grozda, specifična morfološka obilježja...).
- Određivanje parametra rodosti i tehnološke vrijednosti uroda (tri godine):
 - Broj pupova/trs,
 - Broj rodnih mladica/trs,

- Broj grozdova/rodna mladica,
 - Broj grozdova/trs,
 - Količina uroda/trs (kg),
 - Količina uroda/m² (kg),
 - Prosječna masa grozda (g),
 - Sadržaj šećera u moštu (°Oe),
 - Koncentracija ukupne kiselosti u moštu (g/L),
 - pH - vrijednosti mošta,
 - masa 100 bobica (g),
 - masa odrezanog jednogodišnjeg drva (g).
- Tri godine se provodi vizualna zdravstvena selekcija na viruse i virozama slične bolesti.
 - Provjera zdravstvenog stanja odabranih elitnih trsova brzim testovima (ELISA ili PCR) prije razmnožavanja klonske linije 1. generacije (Maletić i sur., 2008)

U pretklonskoj selekciji treba obuhvatiti pogled najmanje 10.000 trsova s više različitih položaja između kojih se fenotipskom selekcijom u prvoj godini odabere 1 – 2 % najboljih koji će se detaljno pratiti u iduće tri godine. Faza se zaključuje izborom 50 – 100 elitnih trsova po sorti koji prolaze u sljedeću fazu selekcije.

2.4. Propisi i norme EU-a pri proizvodnji i prometu loznog sadnog materijala za vegetativno razmnožavanje loze

Propisi i norme EU-a detaljno definiraju cjelovitu proizvodnju i promet, a njima se uređuju uvjeti proizvodnje i prometa, jasno se ističu norme uzdržavanja matičnih nasada, kakvoće reprodukcijskog materijala i sadnog materijala. Sve to je osnova za izdavanje certifikata mjerodavnih institucija. U Hrvatskoj je to regulirano Pravilnikom o stavljanju na tržište materijala za vegetativno umnažanje loze (NN 133/06, 67/10, 30/11, 77/13) .

2.4.1. Vrste loze

Vinova loza (*Vitis vinifera L.*), vrsta loze s velikim brojem sorata za proizvodnju grožđa različite namjene i/ili za proizvodnju repromaterijala za razmnožavanje iste vrste, odnosno sorte (Mirošević, 2007).

Američke loze i njihovi međuvrsni križanci namijenjeni uglavnom proizvodnji reprodukcijskog materijala (podloga) za razmnožavanje vinove loze tehnikom cijepljenja (Mirošević, 2007).

2.4.2. Definicija materijala za razmnožavanje

Dijelovi trsa:

- Reznica (ključić) dio je jednogodišnjeg drva loze – rozgve, namijenjena proizvodnji podloga i plemki.
- Podloga – reznica američkih vrsta i izmeđuvrsnih križanaca namijenjena proizvodnji cjepova pri čemu služi za oblikovanje podzemnog dijela trsa (hipobiont).

- Plemka – dio mladice ili dio rozgve vinove loze (*Vitis vinifera L*) ili međuvrsnog (interspecies) križanaca namijenjen proizvodnji cjevova ili za cijepljenje na stalno mjesto iz kojeg se dijela postupno razvije nadzemni dio trsa (epibiont).
- Reznica za sadnju – dio je jednogodišnje rozgve podloge za proizvodnju korjenjaka u lozištu (prporištu) ili iznimno za sadnju na stalno mjesto (Mirošević, 2007).

Sadnice loze:

- Korjenjak (žilavica) – ukorijenjena i necijepljena reznica namijenjena sadnji na stalno mjesto, za osnivanje loznjaka ili za proizvodnju cjevova.
- Cijep (navrtak) – cijepljenjem spojena (sljubljena i srasla) plemka i podloga čija je osnova ukorijenjena.
- Lozište (prporište) – prostor, površina u rasadniku namijenjena sadnji sa svrhom ukorjenjivanja korjenjaka i cjevova.
- Rasadnik – organizirani proizvodni prostor s funkcionalnim objektima za cijepljenje, pospješivanje (stratificiranje), klasiranje, čuvanje, skladištenje i pakiranje loznog sadnog materijala (Mirošević, 2007).

2.4.3. Matični nasadi

U loznom rasadničarstvu razlikuju se:

- Loznjak – matični nasad američkih vrsta i međuvrsnih križanaca za proizvodnju podloga.
- Matični vinograd – matični nasad sorata i klonova vinove loze i međuvrsnih križanaca za proizvodnju plemki, uvjetno i grožđa (Mirošević, 2007).

Matični nasad, loznjak i vinograd jesu genetički zdrav i visokovrijedni reproduksijski materijal. Zadaća države je obnavljanje, utemeljenje i održavanje predbaznog i baznog sadnog materijala. Time svi matični nasadi bez obzira na stupanj kategorizacije moraju imati sve valjane dokaznice podrijetla izvornog materijala.

Razlikuju se kategorije:

- „Predbazni“ – *nuclear stock* – matični nasad stječe onaj kojemu je kao dokaznica podrijetla potrebna izjava oplemenjivača (selekcionara) ili njegova zastupnika, a to su biljke koje je mjerodavna državna institucija dobila prigodom priznavanja novog genotipa i njegov uvrštavanja u registar sorta. Matični nasad u postupku priznavanja nosi oznaku „predbazni A”, a poslije stjecanja propisanih uvjeta i upisa u matični list (registar) mjerodavne institucije označuje kao „predbazni B”.
- „Bazni ” – *propagation stock* – matični nasad; ovu kategorije stječe onaj nasad koji je osnovan sadnim materijalom podrijetlom iz predbaznog matičnog nasada
- „Certificirani” – *certified stock* – matični nasad stječe onaj koji je osnovan sadnim materijalom iz „baznoga” matičnog nasada
- „Standardni“ matični nasad stječe onaj koji je osnovan sadnim materijalom podrijetlom iz „certificiranog” matičnog nasada (Mirošević, 2007)

2.4.3.1. Uvjeti proizvodnje u kulturi matičnih nasada

Matične nasade za proizvodnju loznog sadnog materijala osnivaju i uzdržavaju registrirani rasadnici, tvrtke ili pojedinac koji su ovlaštene za takvu proizvodnju. Ti subjekti ujedno su i uzdržavatelji sorte koji su dužni, ako je sorta (klon) zaštićena, posjedovati suglasnost vlasnika ili nasljednika nositelja prava za njezino razmnožavanje (Mirošević, 2007). Osnivaju se suglasnošću mjerodavne institucije za poslove rasadničarstva, a uvode se u registar temeljem prijave koja sadržava:

- Naziv (ime) proizvođača i adresa sjedišta
- Naziv rudine i br. katastarske čestice
- Površina, razmak sadnje, sustav uzgoja i broj trsova obuhvaćenih postupkom umatičenja
- Naziv vrste, križanca, sorte, klona (Mirošević, 2007)

Matični nasadi moraju zadovoljavati ove uvjete:

- Moraju biti glede sorte čistoće bez primjesa drugih biotipova.
- Sorte, podloge moraju biti upisane u nacionalnoj listi sorata, osim izuzetka pri provedbi pokusnih istraživanja i pri izvozu.
- Sustavom uzdržavanja u kulturi matičnih nasada treba se omogućiti kontrola prepoznatljivosti i čistoće sorte.
- Mora postojati maksimalna garancija da je tlo čisto od privredno štetnih patogena, osobito patogena i njihovih prenositelja, posebno nematoda iz skupine *Xiphinema i Longidorus*.
- Redovita sanitarna inspekcija, a trsove sa simptomima štetnih virusa, posebno kratki internodiji i uvijenost lista, odmah krčiti.
- Različiti biotipovi (vrste, sorte, klonovi) moraju biti razdvojeni i zabilježeni u tablicama na kojima je naznačen biotip.
- Prorijedenost trsova u matičnim nasadima baznog materijala ne smije prelaziti 5%, a 10% u nasadima za proizvodnju certificiranog materijala.
- Predbazni i bazni matični nasadi moraju imati odgovarajuću izolaciju.
- U matičnim se nasadima svake godine obavlja barem jedan pregled (Nikola Mirošević, 2007).

2.4.4. Materijal za razmnožavanje u proizvodnji i prometu

Materijal za razmnožavanje loze od naprijed definiranih statusa prema kategorijama kakvoće, dijeli se na:

- Bazni (temeljni, osnovni) materijal za razmnožavanje,
- Certificirani (ovjereni, potvrđeni) materijal za razmnožavanje,
- Standardni (uobičajeni) materija za razmnožavanje (Mirošević, 2007).

2.4.4.1. Bazni materijal

Proizveden je metodama individualne klonske selekcije; stalne sanitarne kontrole propisane su za očuvanje biotipova, a pod nadzorom osnivača, vlasnika i slijednika. Namijenjen je za reprodukciju u postupku osnivanja matičnih nasada. Potječe od biotipova loze sukladno odredbama propisanim za postupak stjecanja statusa kakvoće. Utemeljenost mora biti dokaziv sa dokumentacijom koju je izdala državna mjerodavna institucija u poslovima rasadničarstva fitosanitarne kontrole.

2.4.4.2. Certificirani materijal

Potječe izravno iz baznog materijala za razmnožavanje ili na traženje osnivača od materijala za razmnožavanje iz faze koja prethodi kvalitetnom statusu „bazni” i koji udovoljava svim uvjetima proizvodnje u procesu stjecanja statusne kategorije kakvoće.

2.4.4.3. Standardni materijal

Potječe od kultura (loznjak, vinograd) sukladno osnovnim propisima koje udovoljavaju uvjetima proizvodnje te kategorije kakvoće materijala za razmnožavanje. Potječe iz matičnih nasada s utvrđenim identitetom i čistoćom sorte ili klona, a namijenjen je i za proizvodnju grožđa uz redovitu provedbu propisanog nadzora.

2.4.5. Uvjeti koje moraju ispunjavati materijali za razmnožavanje

2.4.5.1. Opći uvjeti

Materijali za razmnožavanje moraju imati dokaz o identitetu i čistoći sorte. Dozvoljeno je odstupanje do 1 % pri komercijalizaciji standardnog materijala za razmnožavanje. Minimalna tehnička čistoća <96 %. Prisutnost štetnih organizama i insekata koji smanjuju vrijednost materijala za razmnožavanje tolerira se samo u najmanjoj mogućoj mjeri.

2.4.5.2. Posebni uvjeti

Cjepovi – definicija kakvoće i standardi:

- Dobiveni cijepljenjem plemke od baznog materijala za razmnožavanje na podlogu dobivenu od baznog materijala za razmnožavanje razvrstavaju se u kategoriju bazni (bijela etiketa).
- Dobiveni cijepljenjem jednog od bionta koji potječe od baznog materijala za razmnožavanje s biontom dobivenim od certificiranog materijala za razmnožavanje razvrstavaju se u kategoriju certificirani (plava etiketa).
- Dobiveni cijepljenjem plemke od certificiranog materijala za razmnožavanje na podlogu od također certificiranog materijala razvrstavaju se u kategoriju certificirani (plava etiketa).
- Dobiveni u svim ostalim kombinacijama razvrstavaju se u kategoriju standardni (narančasta etiketa).
- Cjepovi moraju imati najmanje jednu dozrelu rozgvu dužine barem 20 cm (Mirošević, 2007).

2.4.5.3. Reznice podloga i plemki

Po kategoriji kakvoće razvrstavaju se prema kategorizaciji matičnog nasada iz kojeg potječu. Trsovi u matičnim nasadima moraju doseći potpunu zrelost kako bi reznice udovoljavale standardima propisanim za cijepljenje, odnosno ukorjenjivanje.

Debljina – promjer reznica podloga i plemki mjeri se na sredini internodija na najvišem dijelu donje strane reznice. Najveći promjer na donjem dijelu reznica ne sije biti veći od 14,0 mm, osim na reznicama plemki namijenjenih cijepljenju na stalnome mjestu (u vinogradu).

Dužina reznica – podloga za cijepljenje u slučaju njihove trostruke dužine najmanje je 130 cm, u slučaju dvostruke dužine najmanje 80cm, a u slučaju jedne , standardne reznice 40 cm. Reže se na najmanje 20 cm od osnove najnižeg koljenca, a vršni dio na mjeru od 3,0 cm.

Podloga za ukorjenjivanje je od najmanje 35,0 do 55,0 cm mjereno od donjeg koljenca do gornjeg proreza. Ispod donjega koljenca se ostavi najmanje 2,0 cm, a poviše gornjeg reže se na 3,0 cm.

Dužina plemki je definirana brojem korisnih pupova tako na primjer ako je pet pupova minimalna dužina je 50 cm. Ispod donjeg pupa ostavlja se 5,0 cm internodijalnog drva, a poviše gornjeg pupa najmanje 3,0 cm.

Dužina plemki za ukorjenjivanje je najmanje 35,0 cm. Ostavi se 2,0 cm internodijalnog drva ispod osnovnog pupa, a gornji prerez na mjeru 3,0 cm.

2.4.5.4. Korjenjaci

Dužina korjenjaka je udaljenost od najniže točke razvoja korijena do gornjeg izboja, a za podloge iznosi 30,0 cm, za ostale 22,0 cm. Na svakom korjenjaku bilo bi poželjno da su najmanje tri dobro razvijena i raspoređena korijena.

2.4.5.5. Pakiranje, sastavljanje paketa ili snopova

Lozni sadni materijal za razmnožavanje i materijal za osnivanje nasada poslije klasiranja se slaže u snopove ili svežnjeve pa su tako:

- Cjepovi - po 25, 50 ili 100 komada u plastične vreće ili ambalažu ekvivalentne funkcionalnosti
- Korjenjaci – po 50 ili 100 komada u plastične vreće ili ambalažu ekvivalentne funkcionalnosti
- Plemke – po 100 ili 200 komada reznica ako imaju 5 korisnih pupova
- Reznice za cijepljenje – po 200 komada
- Reznice za ukorjenjivanje – po 200 ili 500 komada
- Ostale reznice za ukorjenjivanje – po 200 komada

2.4.5.6. Označivanje loznog sadnog materijala

Lozni sadni materijal mora sadržavati etiketu tj. biljnu putovnicu koja se nalazi na svakom snopu ili svežnju kao jedinici pakiranja. Označavanje kutije nije dozvoljeno, a na etiketi je ispisano jezikom zemlje proizvođača i na engleskom.

Propisane oznake na etiketi su:

- Norme EU – a, odnosno standardi zemlje proizvođača
- Ime, prezime i adresa osobe odgovorne za etiketiranje i zatvaranje paketa, njezin identifikacijski kod
- Naziv i sjedište službe ovjere i kontrole
- Naziv adresa proizvođača i njegov identifikacijski broj
- Broj i znaka partije i naziv robe
- Naziv vrste ili sorte ili klona loze
- Naziv sorte i klona; podloge i klona za cjepove
- Kategorija kakvoće materijala
- Količina robe u snopu ili svežnju
- Zemlja proizvodnje
- Dužina reznica podloga

U promet su dopuštene etikete čije su minimalne dimenzije:

- Za cijepove i korjenjake 80,0 70,0 mm
- Za sve ostale materijale 110,0 70,0 mm

Sadni materijal zatečen u prometu bez etikete uništava se bez prigovora (Mirošević, 2007).

Kategorija kakvoće sadnog materijala označuje se bojom etikete na kojoj stoji:

- Predbazni VT - testiran na viruse, bijela etiketa
- Bazni VT - testiran na viruse, bijela etiketa
- Certificirani VT – provjeren na viruse, plava etiketa
- CAC standard – potječe iz matičnih nasada standardne kategorije kakvoće uz redoviti nadzor i kontrolu, narančasta etiketa
- S-A standard – iz matičnih nasada koji ne podliježu uvjetima kontrole mjerodavnih državnih institucija, a zadovoljavajuće su kakvoće, narančasta etiketa

3. MATERIJALI I METODE RADA

Godine 2004. provedena je ampelografska determinacija (OIV deskriptori) i inventarizacija zatečenih sortno tipičnih matičnih trsova sorte Klešćec, vizualno zdravih, u starim vinogradima na Kalniku, na položaju Predečak.

Provedba projekta nakon toga tekla je kroz dvije faze.

- Prva faza „Revitalizacija sorte Klešćec na području Koprivničko-križevačke županije“ započela je 2006. i završila 2008., a tijekom te faze provedeno je:
 - Prikupljanje raspoloživih plemki 2005. godine, umnažanje na različite tipove podloga (SO4, 5C, Fercal)
 - Sadnja novih pokusnih nasada vinograda na području Koprivničko – križevačke županije (po 238 loznih cijepova)
 - Na svim položajima prije sadnje provedena su pedološka istraživanja
 - Provedba kontroliranih mjera ampelotehnike i agrotehnike
 - Utvrđivanje osjetljivosti sorte prema osnovnim bolestima (peronospor - *plasmopara viticola*, pepelnici - *oidium uncinula necator* i gnjiloći - *botrytis cinerea*)
 - Nastavljena su ampelografska istraživanja (filometrija, uvometrija, mehanička analiza grozda i bobica, te mjerenje duljine i debljine internodija, praćenje godišnjih bioloških ciklusa razvoja, minivinifikacija, uz kemijsku analiza mošta i vina, kao i senzorska analiza vina sorte Klešćec provedena je od strane Hrvatskog zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo u Zagrebu po referentnoj metodici)
- Ponovno razmnožavanje po završetku prve faze uočenih najbolji trsova (klonova) na sve četiri lokacije na podlozi SO4 (certificirani sadni materijal) i sadnja 1.200 loznih cijepova sorte Klešćec 2009. na položaju Cerovec na području Kalničkog vinogorja. Masovna klonska selekcija sve do 2013. godine, odabrano i markirano najboljih 300 klonova (K1-K300), praćeno tri godine uz redovita ampelografska i ampelometrijska istraživanja, bodovano ocjenom 1 – 5, a broj je reduciran na 200 najboljih jedinki.
- Tim odabirom započela je 2013. druga faza projekta „Podizanje matičnog nasada plemki sorte klešćec“. Tijekom te faze provedeno je:
 - testiranje na viruse selekcioniranih 200 matičnih trsova na Agronomskom fakultetu u Zagrebu i ponovno na Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University. Testiranje je provedeno na 8 virusa, korištenjem različitih izvedbi metode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), kako slijedi: virus mozaika gušarke (*Arabis mosaic virus*, ArMV), virus lepezastog lista vinove loze (*Grapevine fanleaf virus*, GFLV), virus pjegavosti vinove loze (*Grapevine fleck virus*, GFkV), virus uvijenosti lista vinove loze pridruženi virus 1 (*Grapevine leafroll-associated virus 1*, GLRaV-1), virus uvijenosti lista vinove loze pridruženi virus 2 (*Grapevine leafroll-associated virus 2*, GLRaV-2), virus uvijenosti vinove loze pridruženi virus 3 (*Grapevine leafroll-associated virus 3*, GLRaV-3), A-

virus vinove loze (Grapevine virus A, GVA), B-virus vinove loze (Grapevine virus B, GVB).

- U 2013. na zdravim biljkama proveden je segment genetičke analize sorte Klešćec (DNA fingerprinting, metoda mikrosatelita na 9 lokusa) zbog dokazivanja identiteta sorte (n=20). Provedena je provjera sinonima i genetskih srodnika sa drugim domaćim i introduciranim sortama vinove loze.
- Tijekom 2014. provedeno je umnožavanje svega raspoloživog materijala potpuno zdravih 20 klonskih kandidata na Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University, na podlozi SO4, klon 47Gm, te je proizvedeno 537 loznih cijepova osnovnog materijala.
- U ožujku 2015. klonski kandidati kao osnovni sadni materijal posađeni su u rasadniku na Visokom gospodarskom učilištu u Križevcima.
- Te godine provedeno je utvrđivanje unutar-sortne varijabilnosti sorte Klešćec S-SAP (Sequence Specific Amplification Polymorphism) metodom.
- Kontrolirana ampelotehnika i agrotehnika u rasadniku.
- Ampelografija i ampelometrija (aplikacija Superampelo v.1).
- Provođenje legislative pri podizanju rasadnika.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Revitalizacija sorte Klešćec na području Koprivničko-križevačke županije (2006. – 2008.) – prva faza projekta

Projekt je započeo u ranu jesen 2004. godine. Te godine provedena je ampelografska determinacija sorte Klešćec uz inventarizaciju zatečenih sortno tipičnih matičnih trsova, vizualno zdravih, u starim vinogradima na Kalniku (slika 1). Ti vinogradi nalazili su se na položaju Predečak, zona B, Kalničko vinogorje, a vlasnik je bio danas pokojni Marko Nemec. Stari vinogradi su iskrčeni nakon vlasnikove smrti, a prema njegovoj prijašnjoj izjavi bili su stari osamdesetak godina ili više, uzgajani po starohrvatskom sustavu uzgoja uz kolac, na podlozi *V. solonis*. Sve prikupljene plemke sorte Klešćec 2005. godine nacijepljene su na različite tipove podloga, s ciljem podizanja novih pokusnih nasada vinograda. Lokalni vinogradari pokazali su zainteresiranost. Cilj prve faze projekta bio je spasiti vjerojatno autohtonu sortu vinove loze ovog kraja, zasaditi je ponovo, istražiti i gospodarski valorizirati, ne bi li postala prepoznatljiv proizvod ovog kraja. Tisuću sakupljenih plemki Klešćec prebačeno je u MURA-VITIS d.o.o., Becsehely, Mađarsku, gdje je provedena proizvodnja cijepova na tri podloge – SO4, 5C, i Fercal. Tvrtka Poljocentar d.o.o. iz Križevaca uvezla je cijepove u Hrvatsku 2006. Po ranijem dogovoru s lokalnim vinogradarima sadnja je provedena na četiri različita lokaliteta:

- OPG Šipek – Kloštar Podravski,
- Bachus d.o.o. – Virje,
- Križevački vinogradi Badel 1862 d.d. – Široko Brezje,
- OPG Šafran – Kalnik.



Slika 1. Inventarizacija trsova u vinogradima M. Nemeca (foto: D.Kamenjak)

Dogovorene su i obavljene sve potrebne predradnje za podizanje novih vinograda (analiza tla i priprema terena). Tijekom proljeća 2006. provedena je sadnja na dogovorenim lokacijama (slika 2):

- Na podlozi Fercal – 109 komada,
- Na podlozi 5C – 67 komada,
- Na podlozi SO4 – 62 komada.



Položaj Kalnik - OPG Šafran



Položaj Kloštar Podravski - OPG Šipek



Položaj Široko Brezje - Badel 1862 d.d.



Položaj Virje - Bachus doo

Slika 2. Pokusne površine vinograda sorte Klešćec u prvoj fazi projekta (foto D. Kamenjak)

Svaki od četvero učesnika na projektu dobio je po 238 cijepova sorte Klešćec. Primitak u rasadnik je bio uobičajen kao i za ostale vinske sorte pa se može zaključiti da sorta nije problematična pri postupku umnožavanja, tj. dobre je kompatibilnosti s podlogama (podaci voditelja rasadnika u Mađarskoj).

Pedološka istraživanja provedena su prve godine. Dobiveni podaci prezentirani su učesnicima na projektu kako bi im olakšali pripremu tla za sadnju. Temeljem provedenih istraživanja determinirane su sljedeće sistematske jedinice tla: arenosol, položaj Veseli Breg, Kloštar Podravski, lesivirano pseudoglejno, položaj Virje, pseudoglej eutrični, položaj Široko Brezje i rendzina na trošini dolomita, položaj Kalnik.

Nakon sadnje provedena je kontrolirana zaštita loze pod nadzorom mr.sc. Željke Oštrkape-Međurečan (Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu).

Svim učesnicima su osigurana sredstva za zaštitu te preporuke za pojedina tretiranja, što je poslužilo utvrđivanju osjetljivosti sorte prema osnovnim bolestima (peronospori, pepelnici i gnjiloći). Svo to vrijeme praćene su i klimatske prilike koje su imale najveći utjecaj na pojavu bolesti (Kamenjak i sur., 2009).

Tijekom 2008. – 2009. provedena su ampelografska istraživanja prema metodi identifikacije i opisa pomoću OIV-ovih deskriptora (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin). Provedena je filometrija, uvometrija, mehanička analiza grozda i bobica te mjerenje duljine i debljine internodija. Uz to praćeni su i godišnji biološki ciklusi razvoja (fenofaze rasta i razvoja). Trogodišnja ampelografska i ampelometrijska ispitivanja sorte provedena su pomoću OIV-ovih primarnih i sekundarnih deskriptora, a za njihovu obradu korištena je aplikacija Superampelo v.1.

Izrađen je profil sorte Kleščec:

Početak pupanja sorte je srednji. Trs je srednje bujnosti, a mladice sorte Kleščec su uspravnog rasta. Rodnost bazalnih pupova na mladici je vrlo niska. Oblik vrha mladice je potpuno otvoren. Intenzitet antocijanskog obojenja paućinastih dlačica vrha je srednji do jak, a gustoća paućinastih dlačica vrha je srednja. Boja dorzalne i ventralne strane internodija na mladici je zelena i crvena. Distribucija antocijanskog obojenja na ljuskastim listićima pupa je također zelena i crvena, a intenzitet antocijanskog obojenja je srednji do jak. Raspored vitica po mladici je dvije ili manje. Boja lica mladog lista je brončana, a gustoća paućinastih dlačica između žila na naličju lista je srednja. Oblik plojke odraslog lista je pentagonalni, a po broju isječaka je peterodijelni. Antocijanska obojenost glavnih žila na naličju nije prisutna, naboranost plojke je srednja, po presjeku plojka je podvinuta od ruba prema dolje, dok je mjehuravost lica plojke jaka. Oblik zubaca lista je s obadvije strane konveksan, a po stupnju otvorenosti sinus peteljke je otvoren. Oblik dna sinusa peteljke je V oblika, bez prisutnosti zupca u sinusu peteljke, i ograničen žilama na obje strane. Zupci na dnu gornjih postranih sinusa su prisutni. Gustoća paućinastih dlačica između glavnih žila na naličju lista je niska, a gustoća čekinjastih dlačica na glavnim žilama je srednja. Dužina žile N1 je vrlo kratka do kratka (80.2 ± 39.0 mm), dužina žile N2 je također vrlo kratka do kratka (67.5 ± 31.1 mm), kao i dužina žile N3 (47.2 ± 22.5 mm), dok je dužina žile N4 kratka do srednje duga (29.5 ± 14.4 mm). Udaljenost od dna peteljkina sinusa do dna gornjeg postranog sinusa je kratka (45.5 ± 22.2 mm), a udaljenost od dna peteljkina sinusa do dna donjeg postranog sinusa vrlo kratka do kratka (38.0 ± 19.0 mm). Kut između žila N1 i N2 mjeren na mjestu grananja prve sekundarne žile je srednji (46.2 ± 3.9 °), kut između žila N2 i N3 mjeren na mjestu grananja prve sekundarne žile je mali (46.6 ± 9.2 °), dok je kut između žila N3 i N4 velik (60.9 ± 10.5 °). Kut između žile N3 i pravca koji prolazi dnom sinusa peteljke i vršnim zupcem žile N5 je velik (70.6 ± 25.7 °). Dužina vršnog zupca žile N2 je vrlo kratka do kratka (8.0 ± 3.6 mm), a širina vršnog zupca žile N2 je uska (9.5 ± 6.1 mm). Dužina vršnog zupca žile N4 je vrlo kratka (5.8 ± 2.9 mm), a širina vršnog zupca žile N4 je uska (8.0 ± 4.0 mm). Broj zubaca između vršnog zupca žile N2 i vršnog zupca njezine prve sekundarne žile je vrlo mali do mali (3-4), a udaljenost između vršnog zupca žile N2 i vršnog zupca njezine prve sekundarne žile je vrlo kratka (24.9 ± 12.2 mm). Dužina žile N5 je vrlo kratka (13.6 ± 6.9 mm), a dužina žile N3 od peteljkine točke do mjesta grananja njezine prve sekundarne žile N4 je kratka (49.0 ± 5.6 mm). Stupanj otpornosti lista na plamenjaču i pepelnicu je slab.

Cvijet je hermafroditan, s potpuno razvijenim prašnicima i tučkom. Početak dozrijevanja grožđa (šara) je srednji, a prinosi po m² su također srednji. Masa grozda je mala (222,2 grama), grozd je kratak do srednje dug (136 mm), stožastog (konusnog) oblika, s 1-4 krilca. Grozd je srednje zbijen do zbijen, dužina peteljke je srednja. Bobica je mala (2,88 grama), okrugla do ovalna, a boja kožice zeleno-žuta, prema stupnju čvrstoće mesa je mekana, vrlo sočnog mesa, bez specifičnog mirisa (slika 3). Sadržaj šećera u moštu je srednji (17,6%), ukupna kiselost mošta izražena u vinskoj kiselini je srednja (8,18 g /L), a pH vrijednost mošta je srednja 3,08. Stupanj otpornosti grožđa na sivu plijesan je vrlo slab do slab. Rezultati su slični kao i u prethodnim istraživanjima (Mirošević i sur., 1992, Kamenjak i sur., 2010). Provedena je mehanička analiza grožđa i minivinifikacija nakon fiziološke zrelosti grožđa (u 2007. godini sve lokacije zajedno, a u 2008. svaka lokacija posebno). Kemijska analiza mošta i vina, kao i senzorska analiza vina sorte Klešćec provedena je od strane Hrvatskog zavoda za vinogradarstvo i vinarstvo u Zagrebu po referentnoj metodici, a projekt je financiran od strane Koprivničko-križevačke županije, grada Križevaca i Hrvatske gospodarske komore. Prosječne vrijednosti mošta sa svih lokaliteta bile su u gramima po litri: glukoza 116,9; fruktoza 99,7; vinska kiselina 7,1; jabučna kiselina 1,5; limunska kiselina 0,1. Nakon vinifikacije prosječne količine alkohola u vinu bile su 12,7 vol % ukupne kiseline 6,4 g/L (izraženo kao vinska). Nakon senzorskog ocjenjivanja metodom 100 bodova u Zavodu za vinogradarstvo i vinarstvo Republike Hrvatske, uzorci vina sa svih lokaliteta ocjenjeni su prosječno s 82 boda (od 79 do 84 boda).



Slika 3. Grozd sorte Klešćec (foto: D.Kamenjak)

4.2. Vrijeme između dviju faza projekta

Uočeni najbolji trsovi (klonovi) prema fenotipskim obilježjima (ujednačenost sortnih obilježja i odsutnost najvažnijih bolesti) na sva četiri položaja iz prve faze projekta su markirani brojevima 1- 30. Sa tih istih markiranih trsova na svakom od lokaliteta uzimane su plemke, provedeno je novo cijepljenje i razmnožavanje tijekom 2008. u rasadniku Lozni cijepovi Kutjevo d.o.o., na podlozi SO4 (certificirani sadni materijal) koja se pokazala kao najbolja. Godine 2009. na položaju Cerovec na području Kalničkog vinogorja, (pseudoglej obronačni eutrični) provedena je sadnja 1.200 trsova sorte Klešćec, sustavom uzgoja Guyot, na kojima je provedena masovna klonska selekcija sve do 2013. godine (slika 4). Odabranih i markiranih najboljih 300 klonova (K1-K300) praćeno je tri godine uz redovita ampelografska i ampelometrijska istraživanja. Bodovani su ocjenom 1 – 5, a broj je reduciran na 200 najboljih jedinki koje su imale ocjenu >13, trsovi su ponovno označeni (K1-K200), te je tim odabirom započela i druga faza projekta (slika 5).



Slika 4. Vinograd Klešćeca, položaj Cerovec (foto: D.Kamenjak)



Slika 5. Markirani trsovi Klešćeca K1-K200 (foto: D. Kamenjak)

4.3. Podizanje matičnog nasada plemki sorte Klešćec

Tijekom 2013. godine sa selekcioniranih 200 matičnih trsova uzeti su uzorci za testiranje na viruse i za genetičke analize. Testovi su provedeni na Agronomskom fakultetu u Zagrebu i ponovno na Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University. Sva testiranja provedena su prema uputama proizvođača kemikalija, a kao potencijalni izvor zaraze korišteni su dijelovi floemskog tkiva dobiveni struganjem reznica. Rezultati su očitani na EL800 spektrometru (Biotek, SAD) pri valnoj duljini od 405 nm.

Testiranje je provedeno na 8 virusa, korištenjem različitih izvedbi metode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), kako slijedi: virus mozaika gušarke (Arabidopsis mosaic virus, ArMV), virus lepezastog lista vinove loze (Grapevine fanleaf virus, GFLV), virus pjegavosti vinove loze (Grapevine fleck virus, GFkV), virus uvijenosti lista vinove loze pridruženi virus 1 (Grapevine leafroll-associated virus 1, GLRaV-1), virus uvijenosti lista vinove loze pridruženi virus 2 (Grapevine leafroll-associated virus 2, GLRaV-2), virus uvijenosti vinove loze pridruženi virus 3 (Grapevine leafroll-associated virus 3, GLRaV-3), A-virus vinove loze (Grapevine virus A, GVA), B-virus vinove loze (Grapevine virus B, GVB). Na 200 klonskih kandidata provedena je zdravstvena selekcija (ELISA test), a testiranjem na 68 biljaka nije utvrđena prisutnost niti jednog od virusa obuhvaćenih istraživanjem. Sav materijal od 68 zdravih klonskih kandidata Klešćeca poslan je na umnožavanje u Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University u Njemačku, sa svrhom proizvodnje baznog materijala. Nažalost, nakon dodatnih testiranja utvrđeno je samo 20 potpuno zdravih biljaka.

U 2013. proveden je segment genetičke analize sorte Klešćec (DNA fingerprinting, metoda mikrosatelita na 9 lokusa) zbog dokazivanja identiteta sorte (n=20). Provedena je provjera sinonima i genetskih srodnika sa drugim domaćim i introduciranim sortama vinove loze. Prikupljeni su i uzorci lista za DNA analizu, pravilno su uskladišteni i liofilizirani, nakon čega je obavljena ekstrakcija DNA po laboratorijskom protokolu. Sa ukupno 20 zdravih uzoraka uspješno je i izolirana genomska DNA. Pribavljeni su i kontrolni uzorci sorti Ortliber i Knipferle iz Julius Kuhn Instituta, Geiweilerhof (Njemačka), a koji bi prema važećoj stručnoj literaturi i informacijama na European Vitis Database trebali biti sinonimni, tj. istovjetnog genotipa. PCR analiza je provedena pomoću devet standardnih SSR markera koji se koriste pri identifikaciji sorata vinove loze, a osim navedenih uzoraka, uključeno je još nekoliko sorata za koje je iz literature poznato da su u genetskom srodstvu sa sortama Ortliber i Knipferle. Rezultat genetičkih analiza (DNA fingerprinting) potvrdio je da je Klešćec autohtona sorta Kalničkog vinogorja. Usporedbom genskog profila sorte Klešćec sa internom bazom genetskih profila Agronomskog fakulteta u Zagrebu u kojoj se nalazi preko 2.000 različitih sorata, ustanovljeno je da se genotip Klešćeca ne podudara niti s jednom sortom iz baze (Pejić i sur., 2013).

Tijekom 2014. provedeno je umnožavanje svega raspoloživog materijala potpuno zdravih 20 klonskih kandidata na Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University, na podlozi SO4, klon 47 Gm, te je proizvedeno 537 loznih cijepova osnovnog materijala i poslužiti će u budućnosti za dobivanje plemki i proizvodnju certificiranih loznih cijepova sorte Klešćec. Prije sadnje provedeno je uzorkovanje tla, odnosno analiziranje na prisutnost nematoda, prenosioca virusnih bolesti (negativni nalaz), te kemijska analiza tla. Prema analizi tla provedene su agromelioracije i duboka obrada, a u proljeće fina priprema tla za sadnju.



Slika 6. Nasad klonskih kandidata Klešćeca posađen 23.03.2015. (Foto: D. Kamenjak)

U ožujku 2015. klonski kandidati kao osnovni sadni materijal posađeni su na Visokom gospodarskom učilištu u Križevcima, razmak redova 2,20 metara x 1 metar unutar reda. Sustav uzgoja je Guyot (Slika 6 i slika 7).

Tijekom 2015. Rasadnik je upisan u Upisnik proizvođača sadnog materijala pod jedinstvenim upisnim brojem 702 i u Fitosanitarni upisnik proizvođača pod brojem FITO-1864.

Tijekom 2015. godine provedena je procjena stupnja varijabilnosti sorte, a odabrana je metoda S-SAP (Sequence Specific Amplification Polymorphism). Ta metoda imala je najveći kapacitet detekcije razlika između klonova, a pritom se i analizira veći broj genskih lokusa ravnomjerno raspoređenih po cijelom genomu. Provedba analize unutar sorte varijabilnosti sorte Klešćec bila je u skladu s drugim istraživanjima varijabilnosti unutar sorata vinove loze, svjetski poznatih i autohtonih hrvatskih. Rezultati S-SAP metode potvrdili su postojanje unutar sorte varijabilnosti kod sorte Klešćec i opravdali su projekt klonske selekcije sorte. Kombiniranje rezultata detaljnih fenotipskih istraživanja klonskih kandidata kroz više godina s rezultatima genetičkih istraživanja, trebalo bi tijekom budućeg razdoblja omogućiti bolji uvid u mogućnosti pojedinih klonova. Analiza unutar sorte varijabilnosti sorte Klešćec (S-SAP metodom) u skladu je s drugim istraživanjima varijabilnosti unutar sorata vinove loze, svjetski poznatih i autohtonih hrvatskih, a rezultati S-SAP metode potvrđuju postojanje unutar sorte varijabilnosti kod sorte Klešćec i opravdavaju projekt klonske selekcije sorte.

Kroz sve vrijeme i dalje se u rasadniku (slika 7) provode kontrolirane mjere ampelotehnike i agrotehnike te ampelometrijska istraživanja 20 klonskih kandidata sorte Klešćec.



Slika 7 Rasadnik baznog materijala sorte Klešćec (foto: V.Radić)

5. ZAKLJUČAK

Genetska istraživanja pokazala su da je Kleščec autohtona sorta Kalničkog vinogorja. Postupak determinacije i inventarizacije omogućio je prvo umnožavanje raspoloživog materijala i ispitivanje te gospodarsku valorizaciju sorte.

Ampelografska i ampelometrijska istraživanja su omogućila izradu profila sorte Kleščec prema OIV-ovim deskriptorima.

Sorta Kleščec se pokazala kao dobro adaptabilna te se uz kombiniranje određenih podloga može uspješno uzgajati na svim vinogradarskim položajima Koprivničko-križevačke županije i šire.

Osjetljivost na bolesti slična je drugim preporučenim sortama na području Kalničkog vinogorja, a uz pravovremene mjere zaštite njen uzgoj nije upitan.

Vinifikacija i senzorska ocjena vina ukazala je da sorta posjeduje kapacitet za županijski brend vina, koji bi lokalnim vinarima donio dodatnu dobit.

Masovna klonska selekcija dovela je do izbora od 200 najboljih jedinki (K1-K200) na kojima je provedena zdravstvena selekcija.

Zdravstvena selekcija dovela je do 20 potpuno zdravih klonskih kandidata, čime se omogućila proizvodnja osnovnog materijala za podizanje matičnog nasada plemki, koji je konačno podignut tijekom 2015. godine.

Na taj način postignut je osnovni cilj i svrha projekta koji omogućuje masovnije širenje sorte certificiranim sadnim materijalom, a dugoročno sačuvan je i genetski materijal sorte. Tijekom slijedećih godina uz fenotipska i genetička istraživanja klonskih kandidata dobit će se bolji uvid u mogućnosti pojedinih klonova.

6. LITERATURA

1. Goethe, H. (1887): Handbuch der Ampelographie, Verlag von Paul Parey, Berlin
2. Kamenjak, D., Svržnjak, K., Špoljar, A., Oškrpa Međurečan, Ž. (2010): Osobitosti sorte Klešćec na području Kalničkog vinogorja. 45. hrvatski i 5. međunarodni simpozij agronoma 2010. / Marić, Sonja; Lončarić, Zdenko (ur.). - Opatija: Poljoprivredni fakultet u Osijeku, 2010. 1173-1177 (ISBN: 978-953-6331-79-6).
3. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I. (2008): Vinova loza , Školska knjiga, Zagreb
4. Mirošević, N., Vičić M., Ivanković Z. (1992): Klešćec bijeli - aborigeni kultivar (Vitis vinifera L.) Kalničkog vinogorja. Poljoprivredne aktualnosti. Volumen (3): 102-125.
5. Mirošević, N., Turković, Z. (2003): Ampelografski atlas, Golden Marketing, Zagreb
6. Mirošević N. (2007): Razmnožavanje loze i lozno rasadničarstvo, Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb
7. Pejić, I., Šimon, S., Žulj Mihaljević, M., Vončina, D., Preiner, D., Radiček, I., Mišetić, M., Kamenjak, D. (2003): Klešćec – “nova” hrvatska autohtona sorta, Oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo, Zbornik sažetaka, Sv.Martin na Muri, 6-8.11.2013. / prof.dr.sc. Zdravko Matotan (ed). - Zagreb: Hrvatsko agronomsko društvo, 2013. 74-74 (ISBN: 978-953-6485-31-4).
8. OIV - Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (2001): 2ND edition of the oiv descriptor list for grape varieties and vitis species, Paris

7. SAŽETAK

U završnom radu obrađeni su svi postupci koji su bili nužni da se može podići rasadnik baznog materijala autohtone sorte Kleščec. Postupci su započeli determinacijom i inventarizacijom sorte, višestrukim cijepljenjem i umnožavanjem sorte, ampelografskim i ampelometrijskim ispitivanjima, minivinifikacijom, te gospodarskom valorizacijom sorte. Nakon toga provedena je masovna selekcija, zdravstvena i genetska analiza koja je dovela do potvrde autohtonosti i do 20 potpuno zdravih klonskih kandidata. Proizvodnjom 537 loznih cijepova baznog sadnog materijala sorte Kleščec u Institut für Rebenzüchtung, Hochschule Geisenheim University stvoreni su uvjeti za podizanje baznog rasadnika plemki ove sorte. Rasadnik je podignut 2015., te su tako stvoreni uvjeti za dalje širenje ove sorte certificiranim sadnim materijalom.

Ključne riječi: Kleščec, masovna selekcija, zdravstvena i genetička analiza, bazni materijal