

Pridobivanje in vzdrževanje zdravega semenskega materiala slovenskih sort česna

VIRŠČEK MARN Mojca¹, UGRINOVIĆ Kristina², ŠKOF Mojca²

¹ Oddelek za varstvo rastlin, Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana

² Oddelek za poljedelstvo, vrtnarstvo, genetiko in žlahtnjenje rastlin, Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana

Uvod

V Sortno listo so v letu 2017 vpisane 4 slovenske sorte česna, to so Ptujski jesenski, Ptujski spomladanski, Anka in Štrigon. Pri vseh štirih sortah vzdrževanje in vzgoja semenskega materiala, ki je nato na voljo na trgu, v celoti poteka v Sloveniji.

Kakovost semenskega materiala česna, ki je na trgu, je predpisana s Pravilnikom o trženju razmnoževalnega in sadilnega materiala zelenjadnic, razen semena (Uradni list RS, št. 61/05, 66/07 in 18/1; v nadaljevanju Pravilnik). Priloga 2 tega Pravilnika določa podrobnejše zahteve glede zdravstvenega stanja, sortnosti, kakovosti ter označevanja.

Pri zahtevah glede zdravstvenega stanja Pravilnik navaja, da mora biti razmnoževalni in sadilni material vsaj na podlagi vizualnega pregleda praktično brez škodljivih organizmov in bolezni, ki lahko vplivajo na njegovo kakovost, oziroma brez znakov ali simptomov prisotnosti škodljivih organizmov, ki zmanjšujejo njegovo uporabnost; zlasti mora biti brez škodljivih organizmov in bolezni, ki so navedeni v Prilogi k Direktivi 93/61/EGS. Za česen (*Allium sativum*) slednja navaja sledeče škodljive organizme in povzročitelje bolezni:

- žuželke na vseh razvojnih stopnjah: *Delia* spp., Thysanoptera (resokrilci),
 - pršice na vseh razvojnih stopnjah: *Aceria tulipae*,
 - ogorčice na vseh razvojnih stopnjah: *Ditylenchus dipsaci*,
 - bakterije: *Pseudomonas fluorescens*,
 - glive: *Sclerotium cepivorum*,
 - virusi in virusom podobni organizmi: vsi, vendar zlasti virus *Onion yellow dwarf* (OYDV).
- Poleg tega je predpisano, da morajo čebulice česna izvirati neposredno iz materiala, ki je bil med rastjo pregledan in je bilo ugotovljeno, da je praktično brez zgoraj naštetih škodljivih organizmov in bolezni oziroma brez znamenj, ki jih le-ti povzročajo. Zahteva »praktično brez škodljivih organizmov« pomeni, da je obseg, v katerem so škodljivi organizmi prisotni v razmnoževalnem materialu ali sadnih rastlinah, dovolj majhen za zagotovitev sprejemljive kakovosti in uporabnosti razmnoževalnega materiala (Izvedbena direktiva komisije 2014/98/EU).

Za tako pridelan razmnoževalni material izda dobavitelj, torej tisti ki se ukvarja s pridelavo, pripravo za trg, uvozom oz. trženjem semenskega materiala kmetijskih rastlin, etiketo z

oznako EU kakovost. Nadzor dobavitelja izvaja pristojni fitosanitarni inšpektor najmanj enkrat v rastni dobi.

V nekaterih drugih državah EU (npr. v Franciji, Italiji) se lahko pridelovalci prostovoljno odločijo tudi za strožje certifikacijske sheme, preko katerih zagotavljajo razmnoževalni material višje kakovosti.

Semenski material slovenskih sort česna je, zaradi neustrezne vzdrževalne selekcije in preohlapnih predpisov (zahtevan je le vizualni pregled) za kakovost semenskega materiala, vse bolj okužen. Zaradi vegetativnega načina razmnoževanja se namreč tako boleznin kot nekateri škodljivci (zlasti ogorčice) s semenskim materialom prenašajo iz generacije v generacijo in se vse bolj kopičijo. Posebej težko obvladljive so okužbe z različnimi virusi katerih glavni izvor je prav razmnoževalni material. Ogorčice vrste *Ditylenchus dipsaci* lahko povzročijo popolno izgubo pridelka. V letu 2016 smo v Sloveniji zaznali večjo pojavnost teh ogorčic tako pri pridelavi merkantilnega kakor tudi semenskega česna.

Česen okužujejo številni virusi. Najpogostejši so virusi iz rodov *Potyvirus* (predvsem virus rumenenja in pritlikavosti čebule (*Onion yellow dwarf virus*; OYDV) in virus rumene črtavosti pora (*Leek yellow stripe virus*; LYSV)), *Carlavirus* (navadni latentni virus česna (*Garlic common latent virus*; GarCLV) in latentni virus šalotke (*Shallot latent virus*, SLV)) in *Allexivirus* (virus česna A (*Garlic virus A*; GarV-A), virus česna B (*Garlic virus B*; GarV-B), virus česna C (*Garlic virus C*; GarV-C), virus česna D (*Garlic virus D*; GarV-D), virus česna E (*Garlic virus E*; GarV-E), virus česna X (*Garlic virus X*; GarV-X) in *Shallot virus X* (ShVX)). Potivirusi in karlaviruse, ki okužujejo česen, prenašajo listne uši, aleksivirusi pa pršice šiškarice. Edini poznani prenašalec aleksivirusov pri česnu je vrsta *Aceria tulipae*.

Gospodarsko najpomembnejše so okužbe s potivirusoma. Posamične okužbe z OYDV ali LYSV lahko znižajo pridelek za več kot polovico. Na listih s potivirusom okuženih rastlin so vidni mozaiki ali črtavost. Okužbe s karlavirusi ali aleksivirusi so običajno latentne, torej brez vidnih bolezenskih znamenj, predvsem ob sočasnih mešanih okužbah s potivirusi pa lahko povzročajo tudi večjo gospodarsko škodo. Posledice virusnih okužb so lahko zelo različne, odvisno od sorte česna in od števila virusov, ki rastlino okužujejo. Zaradi vegetativnega razmnoževanja so pri česnu pogoste mešane okužbe z več virusi. Pri tem prihaja med njimi do interakcij in posledično do večjega vpliva na zmanjšanje pridelka.

Rezultati raziskav kažejo, da se zdrave rastline na polju relativno hitro ponovno okužijo z virusi, ki jih njihovi prenašalci prinesejo iz sosednjih okuženih njiv. Kljub temu je sajenje zdravega sadilnega materiala najučinkovitejši ukrep za zmanjševanje škod zaradi virusnih okužb. Zdrav material se na njivi sicer okuži, vendar je gospodarska škoda zaradi virusnih okužb kasnejša in posledično manjša. Poleg zdravega sadilnega materiala k zmanjšanju širjenja boleznin pripomore tudi zatiranje prenašalcev.

Že v prvi polovici 90. let prejšnjega stoletja so na Nacionalnem inštitutu za biologijo vzgojili brezvirusni material sort Ptujski jesenski in Ptujski spomladanski, vendar je bilo nadaljnje razmnoževanje teh rastlin kmalu opuščeno. V okviru projekta CRP »Vzpostavitev sistema vzdrževalne selekcije in pridelave semenskega materiala sort kmetijskih rastlin za sonaravne oblike kmetovanja« smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije opravili obširno testiranje semenskega materiala sorte Ptujski jesenski na navzočnost osem virusov, ki okužujejo česen (OYDV, LYSV, GarCLV, SLV, GarV-A, GarV-B, GarV-C in ShVX). Razmnoževalni material te sorte je bil močno okužen. Edini virus, ki ga nismo potrdili, je bil SLV, ki pa so ga v Sloveniji na Nacionalnem inštitutu za biologijo na česnu potrdili že pred skoraj dvema desetletjema skupaj z okužbami z OYDV, LYSV, GarCLV in akelsivirusi. Sklepamo, da so podobno močno okužene tudi ostale slovenske sorte česna. Da bi pridobili brezvirusni razmnoževalni material sorte Ptujski jesenski smo na Kmetijskem inštitutu Slovenije v okviru zgoraj omenjenega CRP projekta uvedli razmnoževanje sorte Ptujski jesenski *in vitro* in preizkušali uporabo kulture meristemov, termoterapije in kemoterapije za vzgojo brezvirusnih rastlin sorte Ptujski jesenski. Na žalost iz okuženih rastlin sorte Ptujski jesenski nismo uspeli odstraniti vseh virusnih okužb.

Da bi na trgu lahko ponudili zadostne količine zdravega semenskega materiala lokalnih sort česna, je torej potrebno najprej vzpostaviti postopke pridobivanja zdravega sadilnega materiala in nato z zdravim matičnim sadilnim materialom dosledno izvajati vzdrževalno selekcijo, ki bo zagotavljala ohranjanje kakovosti semenskega materiala česna.

V nadaljevanju sta predstavljena *Predlog sheme pridobivanja zdravega izhodiščnega semenskega materiala česna* in *Predlog postopka vzdrževalne selekcije lokalnih sort česna*, ki smo ju pripravili na podlagi informacij v različnih virih iz literature in spleta ter izkušenj pridobljenih v okviru projekta »Vzpostavitev sistema vzdrževalne selekcije in pridelave semenskega materiala sort kmetijskih rastlin za sonaravne oblike kmetovanja« Ciljnega raziskovalnega programa »Zagotovimo si hrano za jutri 2011-2020«, ki sta ga financirala ARRS in MKGP. Predlagani postopek vzdrževalne selekcije lokalnih sort česna je pravzaprav shema certifikacije, ki zagotavlja visoko kakovosten material lokalnih sort česna. Po enaki shemi bi bilo seveda možno vzdrževati tudi material drugih sort česna. Pripravljena predloga bo v prihodnje, ob pridobivanju novih znanj in izkušenj, verjetno potrebno še dodelati in prilagoditi, certifikacijsko shemo pa vključiti v pravilnik o trženju razmnoževalnega in sadilnega materiala zelenjadnic, razen semena.

Predlog sheme pridobivanja zdravega izhodiščnega semenskega materiala česna

Izhodiščni material česna za vzpostavitev vzdrževalne selekcije v okviru certifikacijske sheme mora biti obvezno povsem zdrav (torej brez prisotnosti vseh boleznih in škodljivcev) in mora po vseh lastnostih ustrezati sorti. To dosežemo tako, da:

1. Odberemo najbolj zdrave rastline iz semenskega posevka najvišje dosegljive kategorije oz. na videz čim bolj zdravega posevka.
2. Stroke izbranih rastlin, ki so hkrati tvorile tudi čim debelejšje in zdrave čebulice, posadimo v zavarovan prostor (prostor zaščiten pred vdorom uši in pršic). Ob tem vodimo evidenco porekla strokov: lonce oz. rastline označimo tako, da vemo, katere rastline so se razvile iz strokov iste čebulice. Za sajenje v zavarovanem prostoru uporabimo le čebulice z ogorčicami neokuženih partij, kar potrdimo z vzorčenjem in laboratorijskim testiranjem. Uporabljene čebulice ne smejo kazati vidnih znamenj okužb z bakterijami in glivami. Optimalni čas za sajenje jesenskih sort je november, za sajenje spomladanskih sort pa marec.
3. Ko so rastline dobro razvite in velike vsaj 10 cm, jih na prisotnost virusov testiramo s serološkimi in po potrebi tudi z molekularnimi tehnikami (predvsem za OYDV).
4. Za nadaljnje razmnoževanje izberemo samo rastline, ki so potomke čebulic, pri katerih na nobeni izmed potomk ni bila ugotovljena virusna okužba. V kolikor namreč potrdimo navzočnost virusa na delu potomk ene čebulice, je zelo verjetno, da so tudi drugi stroki okuženi, vendar je koncentracija virusa pod pragom detekcije s serološkimi testi. Rastline morajo biti tudi drugače zdrave, brez znamenj glivičnih in bakterijskih okužb in poškodb zaradi škodljivcev ali okoljskih dejavnikov.

V kolikor so vse rastline okužene, izberemo tiste, pri katerih je bilo v vseh potomcih iste čebulice ugotovljena navzočnost najmanjšega števila virusov, in le-te uporabimo za eliminacijo virusov z *in vitro* postopki, termoterapijo oz. kemoterapijo.

Ker so ti postopki dragi, bi lahko predvsem pri sortah, ki jih le vzdržujemo ali razmnožujemo v manjšem obsegu in pri katerih z zgoraj opisanih testiranjih nismo odkrili z virusi neokuženih rastlin, za nadaljnje razmnoževanje izven certifikacijske sheme uporabili tudi rastline, ki izvirajo iz iste glavice in pri katerih je bila v vseh potomkah te glavice potrjena okužba le z enim ali dvema virusoma.

Postopki za eliminacijo virusov, ki smo jih uporabili v okviru CRP projekta »Vzpostavitev sistema vzdrževalne selekcije in pridelave semenskega materiala sort kmetijskih rastlin za sonaravne oblike kmetovanja«, so opisani v članku Viršček Marn in sodelavci (2017) in na kratko predstavljene v prilogi. Sorte se lahko različno odzivajo na pogoje pri tkivnih kulturah zato je potrebno postopke razmnoževanja optimizirati za vsako posamezno sorto.

Pridobljene brezvirusne rastline vzdržujemo v kulturi tkiva obenem pa jih prenesemo tudi v *in vivo* pogoje v zavarovani prostor, kjer predstavljajo izhodiščni material (glej shemo).

Za prenos iz *in vitro* v *in vivo* pogoje brezvirusne rastlinice z dobro razvitimi listi in čebulico (več kot 8 mm v premeru) v hladnem delu leta (jeseni ali zgodaj spomladi) presadimo neposredno v rastlinjak. Posebno pozornost namenimo zalivanju rastlinic. Običajno se v prvem letu čebulice samo odebelijo ali razdelijo v 2 do 4 drobne stročke. Ko rastline preidejo v mirovanje, čebulice previdno pobereмо, očistimo in shranimo v zračnem in hladnem prostoru do naslednjega sajenja. Za naslednjo množitev posamezno čebulico razdelimo na stročke, ki jih ponovno posadimo v mrežnik, da vzgojimo izhodiščni material.

V obeh cikliih rastline vzgajamo v izoliranih prostorih (mrežnik ali rastlinjak) in v tleh, kjer ni nevarnosti okužb z boleznimi in škodljivci. Rastline redno in pazljivo pregledujemo in opravljamo stalno selekcijo matičnih rastlin na osnovi vizualnih pregledov in laboratorijskih testiranj reprezentativnega vzorca ter sortnih lastnosti. Vse rastline, ki kažejo kakršnokoli hibo (sum na okužbo ali sortno netipičnost), odstranimo. Dosledno skrbimo, da niso prisotni vektorji virusov. Ob spravilu in med skladiščenjem poskrbimo, da ne pride do okužb – uporabljamo novo ali razkuženo opremo, čebulic ne skladiščimo skupaj z okuženim materialom.

Predlog postopka vzdrževalne selekcije lokalnih sort česna v okviru certifikacijske sheme

Ker se česen razmnožuje le vegetativno, je osnova vzdrževalne selekcije pri česnu klonska selekcija. Z njo moramo zagotoviti, da pridelan semenski material zadosti dvema kriterijema in sicer biti mora zdrav ter sortno pristen in čist. Zaradi načina razmnoževanja je množitveni faktor pri česnu zelo nizek (1:8 do 1:15), zato je od izhodiščnega materiala do pridobitve zadostnih količin materiala za trg običajno potrebnih več množitev. Predlog sheme predvideva največ šest množitev od izhodiščnega materiala do certificiranega materiala za trg.

Predlog sheme vzdrževalne selekcije

Izhodiščni material	G0	Izhodiščni material izbrana čebulica iz 1. množitve ali očiščen material iz tkivne kulture	vzgoja v zavarovanih prostorih	Izločanje celotnih linij oz. družin v katerih se pojavijo netipične rastline in/ali rastline, ki kažejo znamenja okužbe s ŠO	
	G1	1. množitev - saditev materiala G0 za G1 oblikovanje linij – linijo sestavlja 8 rastlin, ki izhajajo iz iste čebulice materiala G0			
Predosnovno seme	G2	2. množitev - saditev materiala G1 za G2 oblikovanje družin – družino sestavljajo vsi stročki čebulic, ki so pripadale isti liniji materiala G1		vzgoja v tunelih ali na prostem	Izločanje posameznih netipičnih rastlin in rastlin, ki kažejo znake okužbe s ŠO
	G3	3. množitev - saditev materiala G2 za G3 stročki sajani v skupine glede na linije in družine iz katerih izhajajo			
	G4	4. množitev - saditev materiala G3 za G4			
Osnovno seme	G5	5. množitev - saditev materiala G4 za G5			
Certificirano seme	G6	6. množitev - saditev materiala G5 za G6	vzgoja na prostem		

Predlog zahtev glede sortne čistosti in zdravstvenega stanja za posamezne vzgojena stopnje

	Delež za sorto netipičnih rastlin ali rastlin z izraženimi simptomi (po čiščenju posevka)		
	G0/G1/G2	G3/G4/G5	Certificirane rastline
Sortna čistost (delež netipičnih rastlin)	0 %	0 %	1 %
Virusi mozaika*	0 %	0,1 %	1 %
<i>Sclerotium cepivorum</i>	0 %	0,1 %	1 %
<i>Ditylenchus dipsaci</i> **	0 %	0 %	0 %

* Vsi znaki okužbe z OYDV in LYSV oz. močno izraženi znaki pri sortah, ki so tolerantne ali odporne proti virusom.

** Obvezno določanje prisotnosti ogorčic na rastlinah z laboratorijsko analizo.

Posebnosti pridelave pri semenskih posevkih

Za semenske posevke česna obvezno izbiramo območja, kjer ni nevarnosti okužbe z *Ditylenchus dipsaci* in *Sclerotium cepivorum* oz. morajo biti tla ustrezno razkužena. Obvezno izbiramo površine s širokim (vsaj 5 letnim) kolobarjem, pri čemer v kolobarju ne sme biti niti drugih vrst iz rodu *Allium*. S tem zmanjšamo možnost pojava škodljivega organizma.

Tehnologija pridelave semenskega česna se bistveno ne razlikuje od pridelave česna za merkantil. Pomembni so temeljita odbira čebulic, pazljivost pri izvajanju različnih tehnoloških ukrepov (obdelava tal, namakanje, premiki in uporaba opreme...), da ne pride do prenosa bolezni in škodljivcev, ter dosledno varstvo pred boleznimi in škodljivci.

Čebulice strogo odberemo takoj po pobiranju in nato ponovno pred sajenjem. Dosledno moramo odstraniti vse poškodovane, bolne in drobne ter za sorto netipične čebulice. Stočkanje (ločevanje strokov v čebulici) opravimo tik pred sajenjem. Ob daljšem skladiščenju že ločenih strokov lahko na ločitvenem delu pride do okužbe. Za sajenje izberemo le velike stroke. Pred sajenjem je priporočljivo stroke razkužiti z ustreznim fungicidom in insekticidom.

Pri oskrbi med rastjo je namenimo posebno pozornost preprečevanju prenosa bolezni in škodljivcev, nadzoru vektorjev bolezni ter odstranjevanju možnih izvorov okužbe. Spravilo tako kot pri pridelavi za merkantil opravimo, ko rastline preidejo v fazo mirovanja, t.j. takoj ko lažna stebila omehčajo in začnejo polegati. Pazimo, da pri spravilu čebulic ne poškodujemo in da preprečimo okužbe z boleznimi in škodljivci. Pazimo, da ne pride do stika z morebiti okuženim pridelkom, uporabljamo novo ali čisto embalažo, ki prej še ni bila uporabljena pri rodu *Allium*, oz. sterilizirano embalažo. Priderek skladiščimo ločeno od pridelkov rodu *Allium*, ki so ali bi lahko bili okuženi z *Ditylenchus dipsaci* ali *Sclerotium cepivorum*.

Vzgoja rastlin v izoliranih prostorih, množitev 1 do 3: Za prve množitve je obvezna pridelava v mrežnikih ali rastlinjakih, kjer rastline ne morejo priti v stik okuženimi rastlinami in kjer niso prisotni prenašalci virusov (listne uši, pršice,... ogorčice). Zemlja oz. rastni substrat mora biti ustrezno razkužena proti ogorčicam. Vse posevke, ki kažejo kakršnekoli znake okužbe ali neizenačenosti, moramo v celoti izločiti.

Vzgoja rastlin v tunelih ali na prostem množitev 4 in 5: Posevki na prostem morajo biti od drugih posevkov rodu *Allium* oddaljeni najmanj 300 m, oz. najmanj 100 m če je sorta tolerantna oz. odporna proti virusom. Med rastjo moramo posevek 6 do 8-krat pregledati in dosledno izločiti vsako rastlino, ki kaže znake bolezni, ali odstopa po morfoloških lastnostih.

Vzgoja na prostem, množitev 6: Posevki na prostem morajo biti od drugih posevkov rodu *Allium* oddaljeni najmanj 100 m, oz. najmanj 10 m če je sorta tolerantna oz. odporna proti

virusom. Oddaljenost je izjemoma lahko tudi manjša kadar obstajajo primerne naravne ovire ali ima posevek česna, ki ni v certifikaciji, enako preteklost/poreklo. Med rastjo moramo posevek 6 do 8-krat pregledati in dosledno izločiti vsako rastlino, ki kaže znake bolezni, ali odstopa po morfoloških lastnostih.

Nadzor in analize

Pri vseh posevkih na polju je potreben vsaj en uradni nadzor med rastjo in en uradni nadzor ob spravilu ali med skladiščenjem.

Vsak posevek mora biti vzorčen in analiziran na navzočnost ogorčic.

Uporabljena literatura

- Izvedbena direktiva komisije 2014/98/EU, UL L št. 298 z dne 16.10.2014, str. 22) http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/ALL/?uri=uriserv:OJ.L_.2014.298.01.0022.01.SLV
- Pravilnik o trženju razmnoževalnega in sadilnega materiala zelenjadnic, razen semena, Uradni list Republike Slovenije, št. 61/05, 66/07 in 18/14. <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV6801>
- Bohanec B. 1992. Tehnike rastlinskih tkivnih kultur. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Center za rastlinsko biotehnologijo in žlahtnjenje rastlin: 168 str.
- CABI, 2017. *Ditylenchus dipsaci* (stem and bulb nematode). V: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/19287>
- Cafrune E. E., Perotto M. C., Conci V.C. 2006. Effect of two *Allexivirus* isolates on garlic yield. Plant Disease, 90: 898-904. DOI: 10.1094/PD-90-0898
- California Department of Food and Agriculture (CDFA): Seed garlic certification. <https://www.cdfa.ca.gov/plant/pe/nsc/nursery/seedgarlic.html>
- Conci V. C., Perotto M. C., Cafrune E. in Lunello P. 2005. Program for Intensive Production of Virus-Free Garlic Plants. Acta horticulturae 688:195-200.
- Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants (GNIS) and Association of French Producers of Certified Garlic and Shallot Plants (Prosemail): The certified garlic plant. <http://plant-certifie-ail.org/en/index.php>
- Lešić R., Pavlek P., Cvjetković B. 1993. Proizvodnja povrtnog sjemena. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 81-85.
- Lunello P., Di Rienzo J., Conci V. C. 2007. Yield loss in garlic caused by *Leek yellow stripe virus* Argentinean isolate. Plant Disease, 91: 153-158. doi: 10.1094/PDIS-91-2-0153
- Katis N. I., Maliogka V. I., Dovas C. I. 2012. Viruses of the genus *Allium* in the Mediterranean region. Advances in Virus Research, 84: 163-208.
- Murashige, T, Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473–497. [doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)

- Mavrič I., Mikrovič V., Ravnikar M. 1999. Virusne okužbe rastlin iz rodu *Allium*. V: Maček J. (ur.) Zbornik predavanj in referatov s 4. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož, 3.-4. marec 1999, Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije: str. 45-50.
- Mavrič Pleško I. 2015. Preverjanje prisotnosti škodljivih organizmov na semenskem materialu česna: virusi : predavanje na delavnici Kakovost semenskega materiala česna, Jابلje, 7. maj 2015. Kmetijski inštitut Slovenije.
- Perotto M. C., Cafrune E. E., Conci V.C. 2010. The effect of additional viral infections on garlic plants initially infected with Allexiviruses. *European Journal of Plant Pathology*, 126: 489–495. DOI 10.1007/s10658-009-9555-7
- Ravnikar M., Plaper I., Ucman R., Žel J. 1994. Establishment of an efficient method for virus elimination in meristem cultures and regeneration of high quality plants. V: Javornik B. (ur.), Bohanec B. (ur.), Kreft I. (ur.) *Proceedings of the International Colloquium on Impact of Plant Biotechnology on Agriculture*, Rogla, 5.-7. december 1994, Ljubljana, Biotechnical Faculty, Agronomy Department, Centre for Plant Biotechnology and Breeding: 97-102.
- Ravnikar M., Mavrič I., Ucman R., Ivanovič S., Kus M., Žel J. 1996. Virusi česna (*Allium sativum* L. cv. 'ptujski spomladanski') in vzgoja zdravih rastlin v tkivni kulturi. V: Šesek, P. (ur.) *Novi izzivi v poljedelstvu '96 : zbornik simpozija*, Radenci, 9. in 10. december 1996, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo:189-193.
- Salomon R., 2001: Virus diseases in garlic and the propagation of virus-free plants. V: Rabinovitch H.D. (ur.), Currah L. (ur.) *Allium crop science: recent advances*. CABI Publishing, Walingford, UK: 311-327.
- Širca S., Štrukelj M., Strajnar P., Gerič Stare B., Urek G.. 2017. Stebelne ogorčice *Ditylenchus dipsaci* v pridelavi česna. V: Trdan S. (ur.) *Izvečki referatov, 13. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo*, Rimske Toplice, 7.-8. marec 2017, Ljubljana: Društvo za varstvo rastlin Slovenije: 33-34. http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/izvlecki/Zbornik_izvleckov_17.pdf
- Viršček Marn M., Mavrič Pleško I., Ugrinovič K., Škof M., Komatar B. 2017. Vzgoja kakovostnega razmnoževalnega materiala česna sorte Ptujski jesenski. V: Zbornik predavanj in referatov 13. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Rimske toplice, 7. – 8. marec 2017, Ljubljana, Društvo za varstvo rastlin Slovenije – v tisku. <http://www.dvrs.bf.uni-lj.si/>

Zahvala

Zahvaljujemo se ARRS in MKGP za financiranje CRP projekta V4-1413 z naslovom Vzpostavitev sistema vzdrževalne selekcije in pridelave semenskega materiala sort kmetijskih rastlin za sonaravne oblike kmetovanja, v okviru katerega so bili pridobljeni nekateri uporabljeni podatki in izdelan postopek vzdrževalne selekcije.

Datum: 12.9.2017

Priloga:

Postopki za eliminacijo virusov, uporabljeni v okviru CRP projekta »Vzpostavitev sistema vzdrževalne selekcije in pridelave semenskega materiala sort kmetijskih rastlin za sonaravne oblike kmetovanja« pri sorti Ptujski jesenski

TERMOTERAPIJA

Izbrane rastline v loncih gojimo na relativni zračni vlažnosti 65%, ob fotoperiodi 16/8 in stalni temperaturi 30 °C, ki jo po enem tednu povišamo na 37 °C. Rastline zalivamo zmerno, tako, da je rastni substrat le rahlo vlažen. Termoterapijo izvajamo najmanj 3 tedne.

GOJENJE *IN VITRO*:

Priprava rastlin in izolacija meristemov:

Rastline previdno izpulimo in pod tekočo vodo speremo substrat. Odrežemo korenine in vrh tako, da ostane 2-3 cm velika čebulica. Pred začetkom rezanja nove čebulice steriliziramo skalpel. Steriliziramo 15 sekund v 70% etanolu in nato 15 minut na magnetnem mešalu v 5% raztopini razkužila Izosan®-G (Pliva, Hrvaška) v destilirani vodi in z dodatkom 2 kapljic močila Tween 20. Trikrat speremo s sterilno destilirano vodo. V brezprašni komori izrežemo rastni vršiček (naj bo čim manjši: od 0,3 – 0,7 mm) in ga damo na gojišče za razvoj meristemov: makro in mikroelementi po Murashige in Skoog (1962), 1 mg/l 2iP, 0.5 mg/l NAA, 30 g/l sladkorja in 7 g agarja Bacto™ (Brecton, Dickinson and Company, ZDA), pH 5,9 – 6.

Razmnoževanje:

Kulture gojimo pri fotoperiodi 16/8 in dnevni temperaturi 23 in nočni 21 °C in jih redno pregledujemo. Neokužene meristeme, ki so odgnali in se razvili po okrog 6 tednih presadimo na gojišče za rast in razvoj čebulic: makro in mikroelementi po Murashige-Skoog (1962), 100 g/l sladkorja in 8 g agarja Bacto™ (Brecton, Dickinson and Company, ZDA). Za razmnoževanje rastlin lahko uporabimo metodo rezanja dobro razvitih rastlinic na 2 enaka dela. Po 4-6 tednih se razvije 2-6 novih rastlinic. Podobno stopnjo razmnoževanja dobimo, če dobro razvitim rastlinicam v kulturi tkiva odrežemo bazalno ploščo. Iz nje se po 4-6 tednih razvije od 2-8 novih rastlinic. Na mediju za razvoj čebulic se razvijejo tudi korenine. Za presajanje *in vivo* izberemo samo dobro razvite rastline s glavicami nad najmanj 8 mm.

V teku vzgoje rastline testiramo na navzočnost virusa. Negativne rezultate okužbe z OYDV potrdimo z molekularnimi testi.

KEMOTERAPIJA

V gojišče za rast in razvoj čebulic dodamo k virustatik Ribavirin in sicer 50 mg na liter gojišča.

Murashige, T, Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum. 15: 473–497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x