

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

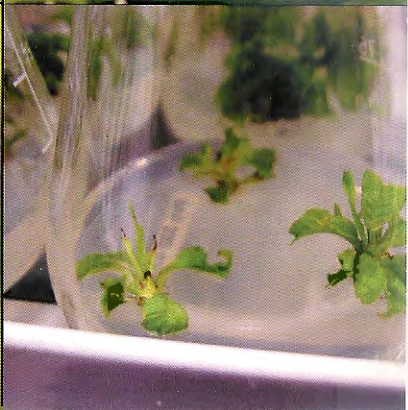


**Certifikovaná metodika
ozdravování třešně pomocí
chemoterapie *in vitro* kultur**

František Paprštejn, Jiří Sedlák, Jaroslav Polák,
Pavla Židová



CERTIFIKOVANÁ
METODIKA
2017



Autoři: Ing. František Paprštejn, CSc., Ing. Jiří Sedlák, Ph.D., Ing. Pavla Židová
VŠÚO Holovousy s.r.o.

Doc. Ing. Jaroslav Polák, DrSc.
VÚRV v.v.i. Praha

Název: **Certifikovaná metodika ozdravování třešně pomocí chemoterapie
in vitro kultur**

Vydal: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
Holovousy 129, 508 01 Hořice v Podkrkonoší

Vyšlo v roce: 2017

Vydáno bez jazykové úpravy.

Kontakt na vedoucího autorského kolektivu: fp@vsuo.cz

Oponenti: Certifikovaná metodika ozdravování třešně pomocí chemoterapie *in vitro* kultur

Ing. Jitka Drozdová
Ministerstvo zemědělství ČR

prof. RNDr. Milan Navrátil, CSc.
Univerzita Palackého v Olomouci

Certifikovaná metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výstupem řešení projektu NAZV QJ1210175 - Výzkum a vývoj standardních metodických postupů ozdravování ovocných dřevin a révy vinné pomocí chemoterapie *in vitro* kultur pro systém certifikace zdravotního stavu výsadbového materiálu. Na výsledku se také podílela finanční podpora MŠMT v rámci programu NPU I kód LO1608.

© Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2017

ISBN 978-80-87030-50-9

Obsah

Abstract	6
Souhrn	6
Úvod	7
I. CÍL METODIKY	8
II. VLASTNÍ POPIS METODIKY	8
1. Vybavení a chemikálie pro ozdravování chemoterapií	8
2. Testování zdravotního stavu výchozího rostlinného materiálu.....	9
3. Ozdravování <i>in vitro</i> kultur třešně.....	11
a. <i>In vitro</i> kultury jako výchozí materiál pro ozdravování.....	11
b. Vlastní postup ozdravování pomocí chemoterapie.....	18
c. Zakořenění ozdravených rostlin a převod do nesterilních podmínek.....	21
4. Popisy testovaných odrůd	23
III. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ.....	24
IV. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY	25
V. EKONOMICKÉ ASPEKTY.....	25
VI. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY.....	27
VII. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	28

Abstract

The aim of this work was to eliminate viruses from the basic plant material of sweet cherry for the system of certification. The elimination of viruses was carried out by *in vitro* chemotherapy with ribavirin. The presence of viruses in initial trees of selected cultivars was detected by ELISA and PCR testing before the beginning of chemotherapy. Based on the repeated testing, PDV was detected in sweet cherry cultivars 'Tamara' and 'Amid'. Both cultivars were successfully multiplied in *in vitro* cultures and recovered from viruses. The highest multiplication coefficient (2.6) was noted for sweet cherry cultivar 'Early Korvik' on MS medium with BAP (6-benzylaminopurin) $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. We obtained relatively high success of chemotherapy with ribavirin ($20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) after PCR testing. 100% sanitation from virus PDV was observed with cultivar 'Amid'. We noted 96.4% success of chemotherapy with cultivar 'Tamara'. Relatively high percentage of sanitized virus free plants shows high antiviral activity of ribavirin against PPV virus. Obtained virus-free plants will be included in the established system of certification of initial plant material after repeated testing and long term observation.

Souhrn

Cílem této práce bylo ozdravení primárních zdrojů třešně pro systém certifikace. Ozdravování probíhalo pomocí *in vitro* chemoterapie s využitím ribavirinu. Před zahájením ozdravování byla přítomnost virů ve vybraných stromech příslušných odrůd zjišťována metodou ELISA a PCR. Na základě opakovaného testování byl u odrůd třešně 'Marta' a 'Amid' zjištěn virus PDV. Obě odrůdy byly úspěšně namnoženy v *in vitro* kultuře a následně ozdraveny. Nejvyšší koeficient množení (2,6) byl v našich pokusech zaznamenán u odrůdy třešně 'Early Korvik' na MS médiu s koncentrací BAP (6-benzylaminopurin) $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. V našich pokusech bylo u třešně dosaženo vysoké úspěšnosti po ozdravování chemoterapií (ribavirin $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) po testování RT-PCR. 100% výsledek ozdravení po prvním RT-PCR testování byl dosažen u odrůdy 'Amid'. U odrůdy 'Tamara' byla zaznamenána 96,4% úspěšnost chemoterapie. Relativně vysoký podíl získaných bezvirózních rostlin dokládá vysokou antivirovou účinnost ribavirinu proti PDV. Získané viruprosté základní rostliny budou po opakovaném testování a dlouhodobém sledování v budoucnu zahrnuty do etablovaného systému certifikace zdravotního stavu výsadbového materiálu.