

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
VÚRV v.v.i. Praha



**Metodika ozdravování a získání viruprostých
základních rostlin odrůd jableň, hrušně a třešně
pro systém certifikace pomocí *in vitro* kultur,
chemoterapie a termoterapie**

**František Paprštein, Jiří Sedlák, Jaroslav Polák,
Sebastien Gadiou, Ladislava Svobodová**



**CERTIFIKOVANÁ
METODIKA
2014**



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

doc. Ing. Jaroslav Polák, DrSc., Mgr. Sebastien Gadiou, Ph.D.
VÚRV v.v.i. Praha

Název: **Metodika ozdravování a získání viruprostých základních rostlin
odrůd jabloně, hrušně a třešně pro systém certifikace pomocí
in vitro kultur, chemoterapie a termoterapie**

Vydal: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
Holovousy 1, 508 01 Hořice v Podkrkonoší

Vydáno bez jazykové úpravy.

Kontakt na vedoucího autorského kolektivu: fp@vsuo.cz

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

Ing. Michal Hnízdil
Ministerstvo zemědělství ČR

Fotografie: J. Sedlák

Fotografie na úvodní straně: *In vitro* rostlina hrušně připravená pro ozdravování

Certifikovaná metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výstupem řešení projektu NAZV QH 91153 „Využití *in vitro* kultur k ozdravení odrůd ovocných dřevin a révy vinné od virů, fytoplazem a karanténních patogenů pro systém certifikace výsadbového materiálu včetně ověřování kvality“. Využito bylo rovněž infrastruktury projektu CZ1.05/2.1.00/03.0116.

© Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2014

ISBN 978-80-87030-30-1

Obsah

Abstract	6
Souhrn	7
Úvod	9
1 CÍL METODIKY	10
2 VLASTNÍ POPIS METODIKY	11
2.1 Testování zdravotního stavu výchozího rostlinného materiálu	11
2.1.1 Metody testování	11
2.1.2 Popis zjištěných virových patogenů	13
2.2 Ozdravování <i>in vitro</i> kultur jabloně, hrušně a třešně	15
2.2.1 <i>In vitro</i> kultury	15
2.2.2 Vlastní postup ozdravování <i>in vitro</i> kultur pomocí chemoterapie	22
2.2.3 Vlastní postup ozdravování <i>in vitro</i> kultur pomocí termoterapie	25
2.3 Zakořenění ozdravených rostlin a převod do nesterilních podmínek	27
2.4 Dlouhodobé sledování zdravotního stavu a kontrola genetické stability	29
2.5 Výsledky a závěry	30
3 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ	31
4 POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY	31
5 EKONOMICKÉ ASPEKTY	32
6 SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY	32
7 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	35
8 Osvědčení o uplatněné certifikované metodiky	36

Souhrn

Cílem této práce bylo ozdravení primárních zdrojů jabloně, hrušně a třešně pro systém certifikace. Ozdravování probíhalo pomocí *in vitro* chemoterapie s využitím ribavirinu a *in vitro* termoterapie v 39 °C. Před zahájením ozdravování byla přítomnost virů a fytoplazem ve vybraných stromech příslušných odrůd zjišťována metodou ELISA a PCR. Na základě opakovaného testování byl u odrůd třešně 'Marta' a 'Amid' zjištěn virus PDV. U rostlin odrůdy jabloně 'Fragrance' byla zjištěna infekce viry ACLSV, ASGV a ASPV. U odrůd hrušně 'Omega', 'Dita' a jabloně 'Clijo' byl zjištěn virus ASPV. Všechny odrůdy byly úspěšně namnoženy v *in vitro* kultuře a následně ozdraveny. Nejvyšší koeficient množení (8,1) byl v našich pokusech zaznamenán u odrůdy jabloně 'Fragrance' na MS médiu s koncentrací BAP (6-benzylaminopurin) 4 mg · l⁻¹. Ze dvou v této metodice popsaných základních variant procesu ozdravování (*in vitro* termoterapie v 39 °C, chemoterapie s použitím ribavirinu) doporučujeme jako standardní, spolehlivější a méně nákladnou chemoterapii s využitím ribavirinu v koncentraci 20–40 mg · l⁻¹. V případě směsných infekcí více viry je možno použít koncentraci vyšší, až do 100 mg · l⁻¹ ribavirinu, nebo opakování chemoterapie. Získané viruprosté základní rostliny budou po opakovaném testování a dlouhodobém sledování v budoucnu zahrnuty do etablovaného systému certifikace zdravotního stavu výsadbového materiálu.