

UCHOVÁVANIE OVOCNÝCH PLODÍN *IN VITRO* TECHNIKAMI

IN VITRO PRESERVATION OF FRUIT CROPS

Klára STUDENÁ

SÚHRN

Ovocné druhy možno uchovávať formou meristémových *in vitro* kultúr v tme a pri zníženej teplote 0 až + 4 °C v chladiarenskom boxe od 12 do 14 mesiacov v závislosti od rodu, druhu a odrody na uvádzaných médiách.

ABSTRACT

Fruit crops can be preserved by meristem culturs *in vitro* conditions: in the colt storage for 12 to 14 monts, in the dark, at 0 to +4 °C depending on genus, species and cultivar.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: Jahody, maliny, jablone, slivkoviny, podpníky, explantátové kultúry, uchovávanie *in vitro*

KEY WORDS: strawberries, raspberries, apples, plums, roostocks, meristem culturs, *in vitro* preservation

ÚVOD

Genetické zdroje rastlín včítané ovocných plodín sú dôležitou súčasťou biologickej diverzity. Radíme ich k najdôležitejším zložkám národného bohatstva. Majú nezastupiteľnú biologickú, kultúrnu aj potenciálnu ekonomickú hodnotu. Uchovávanie genetických zdrojov preto v každom ekonomickom a sociálne rozvinutom štáte sa považuje za nenahraditeľnú a prioritnú úlohu.

Ovocné plodiny sa v rozhodujúcej miere rozmnožujú vegetatívne, a preto u nich doteraz prevláda uchovávanie genetických zdrojov formou dlhovekých poľných kolekcíí, prípadne formou chránených krajinných rezervácií. V malej miere nachádza uplatnenie uchovávanie formou semenných vzoriek pri veľmi nízkych teplotách. Najnovšími formami sú metódy využívajúce techniky *in vitro* kultúr.

MATERIÁL A METÓDY

Problematike uchovávania ovocných plodín *in vitro* technikami pri nízkej teplote sme sa vo VÚOOD, a.s. Bojnice začali venovať v roku 1992. Prvou založenou a uchovanou kolekciovou bol rod *Fragaria vesca*. Momentálne uchovávame 36 najdôležitejších odrôd jahôd. Primárna kultúra jahôd, mikrorozmnožovanie, bola založená podľa schválenej metodiky MALIARČIKOVÁ (1987). Pre uchovávanie sa namnožené zhľuky výhonov jahôd *in vitro* transférovali do skúmaviek, uzatvorili sa kovovým uzáverom a zabalili do samolepiacej fólie, ktorá znížila riziko kontaminácie obsahu skúmavky, ako aj vysychanie média. Takto pripravený rastlinný materiál sme uložili do genobanky – miestnosti, v ktorej je zabezpečené udržiavanie stálej teploty 0 až +4 °C a tma. Pre etapu uchovávania zhľuky meristémových výhonkov jahôd *in vitro* sme použili 3 kultivačné médiá: (G1: 1/2 MS + 0,1 mg/l IBA, G2: 1/2 MS + 0,1 mg/l IBA + 0,5 mg/l BAP + 1,0 mg/l riboflavínu a G5: ako G2 + 100 mg/l prolínu).

Okrem rodu *Fragaria* sme podobne založili do genobanky aj odrody ovocných plodín rodu *Rubus*, *Prunus*, *Malus* a podpníky jabloní a slivkovín.

Odrody malín sme dopestovali podľa u nás používanej metodiky. Zhľuky *in vitro* malín sme v skúmavkách odskúšavali na 3 médiách: (G3: MS s vitamínmi podľa Votrubu (1987) s 0,5 mg/l BAP s 1,0 mg/l riboflavínu, G4: 1/5 MS + 0,1 mg/l IBA + 50 mg/l kyselina askorbová + 1,0 mg/l riboflavínu, G6: MS s vitamínmi podľa Votrubu (1987) + 1,0mg/l BAP + 100 mg/l prolínu.)

Pre uchovávanie *in vitro* vzoriek pri zníženej teplote, v tmavom chladiarenskom boxe sme jablone a podpníky jabloní založili vo forme zhľukov výhonkov v skúmavkách na médiu Nitsch a Nitsch (1969) s prídavkami 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l riboflavínu + 100 mg/l prolínu.

Pri slivkovinách a ich podpníkoch sme postupovali podobne. Po založení primokultúry, namnožení zhľukov kompaktných nevitifikovaných výhonkov sme ich transferovali na médium Quoirin a Lepoivre (1977) doplnené o 0,1 mg/l IBA + 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l riboflavínu + 100 mg/l prolínu + 0,01 mg/l kinetínu.

V priebehu uchovávania ovocných plodín v genobanke sme v pravidelných intervaloch vizuálne hodnotili vzhľad a kondičný stav vzorky 9 bodovou stupnicou (1=nevitálny, odumretý, hnedý explantát, 9=plne vitálny, sviežozelený explantát).

Pre revitalizáciu ovocných plodín *in vitro* sme pri všetkých druhoch, rodoch a odrodách použili mikrorozmnožovacie médium.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre uchovávanie zhľuku meristémových výhonkov jahôd *in vitro* sme overovali 3 kultivačné médiá a na základe dosiahnutých výsledkov konštatujeme, že najvýhodnejšie je médium G5 s prídavkami prolínu a riboflavínu. Po mesiaci uchovávania sa prakticky nezmenil vzhľad a kondičný stav vzoriek. Po 5. mesiaci sme začali pozorovať výraznejšie znižovanie životaschopnosti, rozsah vitálnych vzoriek bol 58,3 – 100 % s priemerom 80,65%. Po 10. mesiaci dosiahla životaschopnosť veľmi dobrú 56,23% priemernú hodnotu (rozpätie 33,3 – 75,0%). V 16. mesiaci uchovávania vitalita kolísala od 16,6 do 58,3% s priemerom 38,1%. Tieto hodnoty určujú hornú hranicu doby uchovateľnosti, žiadna vzorka nevypadla a 46,4% malo nadpriemerne vysokú, vyhovujúcu životaschopnosť. V 18. mesiaci uchovávania sa vitalita pohybovala 0 – 33,3% s priemerom 10,12% a 46,4 % vzoriek už nebolo vitálnych.

Pri malinách sme tiež pre uchovávanie overovali 3 kultivačné médiá. Na médiu G6 boli explantáty najvitálnejšie, preto sa ďalej pre zakladanie vzoriek používa toto médium. Výsledky revitalizácie malín uvádzame v tabuľke č.1.

Tabuľka č.1: Hodnotenie revitalizácie malín po uchovávaní

Odroda	po 5.mesiaci		po 10.mesiaci		po 12.mesiaci		po 16.mesiaci	
	%U	K	%U	K	%U	K	%U	K
Bulharský rubín	75,0	2	66,6	0	50,0	3	16,6	2
Afrodita	58,3	2	50,0	3	41,6	3	8,3	2
Bojana	50,0	0	50,0	3	33,3	3	0,0	1
Granát	91,7	0	75,0	1	58,3	2	0,0	1
Medea	66,6	3	58,3	2	50,0	1	8,3	1
Ada	100,0	0	75,0	3	58,3	2	8,3	2
Sajana	75,0	3	50,0	3	41,6	3	0,0	4
Canby	83,3	1	58,3	5	41,6	2	0,0	4
Zeva	75,0	1	50,0	4	25,0	5	0,0	7
Priemer	75,0	11,1	59,3	15,7	44,4	21,3	4,63	22,2

Poznámka: %U = percento revitalizácie

K = kontaminácia

Tabuľka č.2: Hodnotenie revitalizácie odrôd jabloní a jabloňových podpníkov po uchovávaní

Odroda	po 5.mesiaci		po 8.mesiaci		po 11.mesiaci		po 14.mesiaci	
	%U	K	%U	K	%U	K	%U	K
Prima	66,6	2	41,6	3	25,0	3	16,6	4
Vista Bela	75,0	2	41,6	0	16,6	4	25,0	2
Topaz	58,3	3	33,3	2	8,3	3	0,0	6
Rubín	66,6	1	41,6	2	16,6	3	8,3	3
Podpníky jabloní								
J-TE-H	58,3	0	50,0	1	33,3	2	16,6	3
M 26	66,6	0	58,3	1	41,6	2	25,0	5
M 9	58,3	2	50,0	2	33,3	2	16,6	2
J-TE-E	66,6	2	50,0	3	33,3	1	8,5	2
M 7	58,3	1	50,0	1	41,6	2	16,6	4
MM 106	66,6	1	50,0	0	33,3	4	16,6	2

Poznámka: %U = percento revitalizácie
K = kontaminácia

Tabuľka č.3: Hodnotenie revitalizácie odrôd slivkovín a ich podpníkov po uchovávaní

Odroda	po 5.mesiaci		po 8.mesiaci		po 11.mesiaci		po 14.mesiaci	
	%U	K	%U	K	%U	K	%U	K
Čačan. najbolja	66,7	2	58,3	2	41,7	2	25,0	1
Kovk	58,3	2	50,0	1	33,3	2	16,7	1
Jeti	66,7	3	50,0	3	41,7	0	25,0	4
Myred	75,0	3	50,0	1	50,0	0	16,7	2
Podpníky slivkovín								
S-BO-1	66,6	1	58,3	1	50,0	1	41,6	2
PB-3	66,6	0	50,0	1	41,6	2	33,3	3

Poznámka: %U = percento revitalizácie
K = kontaminácia

ZÁVER

Na základe výsledkov, pre praktické uchovávanie odporúčame vzorky jahôd a malín za daných podmienok uchovávať 12 mesiacov. Jablone a ich podpníky (okrem odrody Topaz) boli ešte po 14. mesiacoch schopné revitalizácie. Najlepšie výsledky sme dosiahli u slivkovín a ich podpníkov, kde schopnosť revitalizácie bola ešte po 14. mesiacoch veľmi uspokojivá.

LITERATÚRA

MALIARČÍKOVÁ, V. a kol.: Produkcia zdravého biologického materiálu záhradných jahôd. VÚOOD Bojnice, 1987, 24 ss.

MURASHIGE, T., SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol.Pl.*15, 1962, s 47–479.

NITCH,J.P., NITCH,C.: Haploids plants from pollen grains. *Science*, 163, 1969, s 85 – 87.

QUOIRIN,M., LEPOIVRE, P.: Improved media for in vitro culture of *Prunus* sp. *Acta Hortic.* 78, 1977, s 437–442, ISSN 1335-2563

VOTRUBA, M.: Explantátové techniky pro biotechnology a šľachtitele. VŠZ Praha, 1987, 102ss.

WALKEY,D.G.A., Production of apple plantles from axillary bud meristems.Can.J.Plant.Sci.52, 6, 1972, s. 1085–1087.

ADRESA AUTORA

Ing. Klára Studená, VÚOOD a.s. Bojnice, Prievidzská 53, 972 01 Bojnice, Tel. 046/5430780,
e-mail: vúood@pd.psg.sk