

**Protokol pre mikropropagáciu vybraných druhov rodu *Rubus* spp.
(ostružina malinová, ostružina černicová)**

Alena Gajdošová, Gabriela Libiaková, Júlia Hunková, ÚGBR SAV, Nitra

Ostružina malinová a ostružina černicová (maliny, černice) patria medzi hodnotné druhy ovocia s pozitívnym dopadom na ľudské zdravie z dôvodu vysokého obsahu zdraviu prospešných látok. Zvýšený dopyt po tomto ovocí je možné zabezpečiť intenzívnym veľkoplošným pestovaním, čo si vyžaduje dostatočnú produkciu zdravého a kvalitného sadbového materiálu.

Klasické vegetatívne rozmnožovanie malín a černíc (odnožami podzemkov, koreňovými odrezkami, potápaním jednoročných stoniek, rezkovaním) nesie so sebou riziko prenosu chorôb. Nevýhody klasického množenia je možné eliminovať **využitím pletivových kultúr** - kultúr rastlinných buniek, pletív a orgánov v sterilných podmienkach, na agarových živných médiách s cieľom regenerácie a vývinu celistvých rastlín. *In vitro* kultivácia rastlinných pletív predstavuje účinný a spoľahlivý spôsob klonálneho množenia umožňujúci rýchle množenie cenných odrôd nezávisle od ročného obdobia a vývinovej fázy rastliny, dosahovanie vyššieho množiteľského koeficientu a ozdravenie rastlinného materiálu od patogénov.

Postup mikropropagácie

1) Odber a sterilizácia rastlinného materiálu

- * Odber primárnych explantátov pre založenie pletivových kultúr *in vitro* (izolované dormantné púčiky, stonkové segmenty nesúce dormantné púčiky) – január, február.
- * Sterilizácia rastlinného materiálu (pranie pod tečúcou vodou/1 hod, 70% etanol/2min, 0,1% HgCl₂/5 min, pranie v sterilnej vode/3x 15 min).

2) Štádia mikropropagácie:

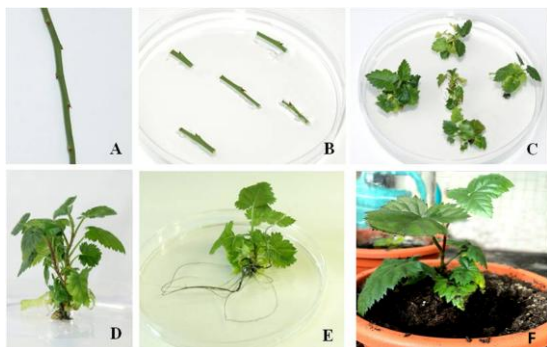
Štádium 1: Založenie sterilnej kultúry – uloženie povrchovo sterilizovaného explantátu na kultivačné médium a iniciácia rastu výhonkov. Kultivačné médium - MS médium (Duchefa), sacharóza (30 g.l⁻¹), Plant agar (8 g.l⁻¹), rastové látky BAP (1 mg.l⁻¹), IBA (0,1 mg.l⁻¹), GA₃ (0,1 mg.l⁻¹), pH 5,6-5,8. Kultivácia 22–24 °C, intenzita svetla 50 μmol.m⁻².s⁻¹ a fotoperiódá 16 hodín svetlo a hodín tma.

Štádium 2: Multiplikácia – produkcia mnohopočetných výhonkov na rovnakom médiu s 0,5 mg.l⁻¹ BAP

Štádium 3: Tvorba koreňov - predlžovanie výhonkov a ich zakoreňovanie na MS médiu s 1 mg.l⁻¹ IBA

Štádium 4: Aklimatizácia - prenos regenerovaných rastlín do pôdy do prirodzených podmienok prostredia.

Všetky operácie zahrňujúce prácu s explantátmi musia byť uskutočnené v sterilnom prostredí v laminárnom boxe.



***In vitro* multiplikácia *Rubus fruticosus* použitím jednonodálnych segmentov**

- A) stonka s dormantnými púčikmi
- B) primárny explantát – jednonodálny segment s dormantným púčikom na kultivačnom médiu
- C, D) formujúce sa trsy výhonkov
- E) zakorenený výhonok cv. Čačanska Bestrna
- F) aklimatizácia rastliny v *in vivo* podmienkach