

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sabina VOLF

AKLIMATIZACIJA EPIFITNIH ORHIDEJ
RAZMNOŽENIH V *IN VITRO* RAZMERAH

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Sabina VOLF

AKLIMATIZACIJA EPIFITNIH ORHIDEJ RAZMNOŽENIH V *IN VITRO* RAZMERAH

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

ACCLIMATIZATION OF EPIPHYTIC ORCHIDS PROPAGATED IN *IN VITRO* CONDITION

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega strokovnega študija kmetijstvo – agronomija, smer Hortikultura. Opravljeno je bilo na Katedri za genetiko, biotehnologijo, statistiko in žlahtnjenje rastlin Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorico diplomske naloge imenovala izr. prof. dr. Zlato LUTHAR.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc Batič

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Članica: izr. prof. dr. Zlata LUTHAR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Gregor OSTERC

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Sabina Volf

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 635.9:582.59:631.532:57.085 (043.2)
- KG vegetativno razmnoževanje/*in vitro* kulture/rodovi orhidej/križanci/
mikropropagacija/gojišče/substrat/aklimatizacija
- KK AGRIS F02
- AV VOLF, Sabina
- SA LUTHAR, Zlata (mentorica)
- KZ SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2009
- IN AKLIMATIZACIJA EPIFITNIH ORHIDEJ RAZMNOŽENIH V *IN VITRO*
RAZMERAH
- TD Diplomsko delo (Visokošolski strokovni študij)
- OP IX, 27 str., 2 pregl., 19 sl., 25 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V poskus aklimatizacije kot zadnjo fazo mikropropagacije je bilo vključenih 7 epifitnih orhidej. Med njimi štirji vrste *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda cristata* in trije križanci *Phalaenopsis* z oznakami A-3600, A-4269 in A-4266. Vse orhideje so bile razmnožene v *in vitro* razmerah. Rastline smo posadili v substrat proizvajalca Slingerland iz Nizozemske v mini rastlinjake in spremljali uspešnost aklimatizacije. Na začetku aklimatizacije so bile rastline velike 3-5 cm in imele so vsaj 2 lista in 2 korenini, odvisno od vrste. V obdobju aklimatizacije so tiste, ki so se prilagodile na avtotrofne razmere nadaljevale z rastjo, pridobile so po en list in več korenin. V petih tednih aklimatizacije je največ rastlin, 69,44 %, propadlo pri *Doritis pulcherrima*, 51,78 % pri *Cattleya violacea*, 45,85 % pri križancu A-4269, bistveno manj, 21,23 %, pri *Cattleya maxima*, 19,04 % pri *Vanda cristata*, 14,89 % pri križancu A-4266 in najmanj, 7,66 %, pri križancu A-3600. Križanca A-4266 in A-3600 sta zelo obetavna, saj imata zelo veliko prilagodljivost na avtotrofne razmere in tudi v *in vitro* razmerah zelo hitro rasteta ter sta bila med prvimi primerna za aklimatizacijo.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Vs
- DC UDC 635.9:582.59:631.532:57.085 (043.2)
- CX vegetative reproduction/*in vitro* culture/genus orchids/hybrid/
micropropagation/culture medium/substrate/acclimatization
- CC AGRIS F02
- AU VOLF, Sabina
- AA LUTHAR, Zlata (supervisor)
- PP SI– 1000, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2009
- TI ACCLIMATIZATION OF EPIPHYTIC ORCHIDS PROPAGATED IN *IN VITRO*
CONDITIONS
- DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
- NO IX, 27 p., 2 tab., 19 fig., 25 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB To experiment on the acclimatization as the last phase of micropropagation, seven epiphytic orchids were used. Among them were four species of *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda cristata* and three crossbreeds of *Phalaenopsis* with the labels A-3600, A-4269 and A-4266. All orchids were multiplied under *in vitro* conditions. The plants were planted in the substratum of the producer Slingerland from the Netherlands in mini greenhouses and the success of the acclimatization was observed. At the beginning of the acclimatization the plants were 3-5 cm high and had at least two leaves and two roots, depending on the sort. During the acclimatization, those plants that adapted to the autotrophic conditions, continued to grow, they acquired one leaf and more roots. Within five weeks of the acclimatization, the biggest percentage, 69,44 % of plants, decayed among *Doritis pulcherrima*, 51,78 % among *Cattleya violacea*, 45,85 % among the crossbreed A-4269, much less, 21,23 % among *Cattleya maxima*, 19,04 % among *Vanda cristata*, 14,89 % among the crossbreed A-4266 and the least, 7,66 %, among the crossbreed A-3600. The crossbreeds A-4266 and A-3600 are very promising since they have a big adaptability to autotrophic conditions, they grow fast also in the *in vitro* conditions and were among the first ones to be suitable for the acclimatization.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	IV
Key words documentation	V
Kazalo vsebine	VI
Kazalo slik	VIII
Kazalo preglednic	IX
1 UVOD	1
1.1 DELOVNA HIPOTEZA	1
1.2 CILJ NALOGE	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OBLIKA RASTI ORHIDEJ	3
2.2 BOTANIČNA KLASIFIKACIJA IN OPIS ORHIDEJ VKLJUČENIH V POSKUS	5
2.2.1 <i>Cattleya maxima</i> (Lindl.)	5
2.2.2 <i>Cattleya violacea</i> (Schltr.)	6
2.2.3 <i>Doritis pulcherrima</i> (Lindl.)	7
2.2.4 <i>Vanda cristata</i> (Lindl.)	8
2.2.5 <i>Križanci Phalaenopsis</i>	9
2.3 AKLIMATIZACIJA NA AVTOTROFNE RAZMERE	9
3 MATERIAL IN METODE	10
3.1 RASTLINSKI MATERIAL	10
3.2 SUBSTRAT	12
3.3 GOJITVENI PROSTOR IN POSTOPEK AKLIMATIZACIJE	13
3.4 VREDNOTENJE	14

4 REZULTATI	15
4.1 POSTOPEK AKLIMATIZACIJE	15
5 RAZPRAVA IN SKLEP	23
5.1 RAZPRAVA	23
5.2 SKLEP	24
6 POVZETEK	26
7 VIRI	27
ZAHVALA	

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Oblika rasti orhidej: A- monopodialna s kompaktnim stebлом; B- monopodialna vzpenjavka; C - simpodialna	4
Slika 2: Oblika rasti in cvet orhideje <i>Cattleya maxima</i>	5
Slika 3: Oblika rasti in cvet orhideje <i>Cattleya violacea</i>	6
Slika 4: Oblika rasti in cvet orhideje <i>Doritis pulcherrima</i>	7
Slika 5: Oblika rasti in cvet orhideje <i>Vanda cristata</i>	8
Slika 6: Mikropropagirane orhideje pred aklimatizacijo	11
Slika 7: Rastline z vsaj dvema listoma in dvema koreninama primerne za aklimatizacijo	11
Slika 8: Rastline pred sajenjem v substrat	12
Slika 9: Substrat za orhideje uporabljen v postopku aklimatizacije	13
Slika 10: Mini rastlinjak napolnjen s substratom in z dvema odprtinama na pokrovu	13
Slika 11: Posajene rastline v mini rastlinjaku	14
Slika 12: Odstotek propadlih orhidej <i>Cattleya maxima</i> v petih tednih aklimatizacije	16
Slika 13: Odstotek propadlih orhidej <i>Cattleya violacea</i> v petih tednih aklimatizacije	17
Slika 14: Odstotek propadlih orhidej <i>Doritis pulcherrima</i> v petih tednih aklimatizacije	17
Slika 15: Odstotek propadlih orhidej <i>Vanda cristata</i> v petih tednih aklimatizacije	18
Slika 16: Odstotek propadlih orhidej križanca A-3600 v petih tednih aklimatizacije	18
Slika 17: Odstotek propadlih orhidej križanca A-4266 v petih tednih aklimatizacije	19
Slika 18: Odstotek propadlih orhidej križanca A-4269 v petih tednih aklimatizacije	19
Slika 19: Odstotek propadlih orhidej v petih tednih aklimatizacije	20
Slika 20: Rast in razvoj orhidej na začetku 1. tedna in na koncu 5. tedna aklimatizacije; A, B - <i>Cattleya maxima</i> ; C, D - <i>Cattleya violacea</i> ; E, F - <i>Doritis pulcherrima</i> ; G, H - <i>Vanda cristata</i> ; I, J - križanec A-3600; K, L - križanec A-4266 in M, N - križanec A-4269	22

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Rod, vrsta in oblika rasti orhidej vključenih v poskus aklimatizacije	10
Preglednica 2: Število posajenih in propadlih orhidej v 5 tednu aklimatizacije	15

1 UVOD

Orhideje so po raznolikosti oblik in barv cvetov prav gotovo na prvem mestu med sobnimi rastlinami. Priljubljene so tako lončnice kot tudi rezano cvetje. Še do nedavnega se je njihovo gojenje zdelo težavno. Večina vrst dobro uspeva v rastlinjakih, nekatere zlahka gojimo doma, mnoge pa uspevajo samo v naravi. Iz orhidej, ki rastejo v naravi, je pridobljenih veliko križancev, zaradi uvajanja asimbiotskega razmnoževanja s semeni (Trenc-Frelj, 1990).

Orhideje ne uspevajo le v džunglah Afrike in Srednje Amerike, temveč jih najdemo tudi v Aziji, Avstraliji, Evropi in tudi v Sloveniji. Poseljujejo vse kontinente sveta, razen pretirano mrzle Antarktike (Fortner, 1996).

Razmnoževanje orhidej s semeni je dokaj zahtevno, saj le-to zahteva mnogo znanj in specifične razmere. Posejati je treba veliko količino semen in potem upati, da bo nekaj teh semen našlo primerno okolje z mikorizno glivo. Za kalitev semen je potrebna mikorizna gliva ali alternativa, asimbiotsko gojenje v *in vitro* razmerah.

Gojenje orhidej iz semena do cvetenja zahteva ogromno časa in potrpljenja. Na primer: če želimo videti sad svojega dela od drobnega semena do cveta, potrebuje *Phalaenopsis* približno 5 let, *Cattleya* 7 do 8 let, *Vanda* pa celo do 15 let. To seveda ni tržno zanimivo, lahko pa ta postopek z novimi biotehnološkimi poteki bistveno skrajšamo in tako postane gojenje dobičkonosna dejavnost (Greisen, 2000).

1.1 DELOVNA HIPOTEZA

V poskus aklimatizacije so bile vključene različne epifitne orhideje *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda christata* in 3 križanci *Phalaenopsis* z oznakami A-3600, A-4266 in A-4269, ki so bile asimbiotsko razmnožene v *in vitro* razmerah. Aklimatizacija je zadnja faza mikropropagacije in velikokrat najbolj problematična, saj se mlade, heterotrofne rastline težko prilagodijo na avtotrofne razmere. Uspešna aklimatizacija z velikim odstotkom preživelih vitalnih rastlin je ena od pomembnih faz, da je celoten postopek mikropropagacije zaključen in ekonomsko upravičen. Štirim različnim vrstam epifitnih orhidej, med njimi trem križancem, smo želeli poenostaviti in poenotiti aklimatizacijo ter ugotoviti, katera vrsta orhidej je manj občutljiva na propadanje v obdobju aklimatizacije. Zanimalo nas je tudi, kako se bodo na postopek aklimatizacije prilagodili križanci, ki do sedaj še niso bili testirani.

1.2 CILJ NALOGE

Cilj naloge je bil doseči velik odstotek vitalnih in uspešno aklimatiziranih rastlin, ne glede na to, da imamo štiri različne vrste orhidej in tri križance, ki do sedaj še niso bili v

postopku aklimatizacije. Za njih nimamo podatka, kako uspešno bodo preživeli postopek aklimatizacije.

2 PREGLED OBJAV

Orhideje so rastline, ki so uvrščene v zelo obsežno družino Orchidaceae - kukavičevke. V tej družini je okoli 25000-35000 različnih vrst in domnevno okoli 60000 hibridov (Wales, 2001).

Stebila nekaterih, predvsem simpodialnih orhidej, imajo pogosto odebeljen spodnji del, ki se imenuje psevdobulbil ali neprava čebulica. Le-ta služi kot vir vode in hrane v sušnih in manj ugodnih razmerah za preživetje rastlin. Iz stebel poganjajo preobražene nadomestne zračne korenine. Te korenine so zelo mesnate, večina jih prosto visi v zraku, del pa se jih pričvrsti na podlago, na kateri rastejo. Na zunanem delu so velikokrat obdane z belim spužvastim ali gobastim tkivom, ki sprejme vodo iz zraka (Ravnik, 2002).

Listi so različnih oblik (suličasti, jajčasti, jajčasto-suličasti, eliptični,...), žametni, marmorirani, omeseneli, največkrat nedeljeni, celorobi in sedeči. Žile potekajo največkrat vzporedno, lahko tudi mrežasto (Ravnik, 2002). Listi izraščajo iz osrednje rozete ali pa so pritrjeni v rozetah po celem stebelu. Orhideje poženejo cvetno steblo ob strani neprave čebulice ali iz njenega vrha, večkrat pa tudi iz terminalnega brsta pri monopodialni razrasti rastlin. Cvetno steblo je razvejano v grozde, late ali klase, lahko pa je na koncu stebila le en sam cvet.

Cvetovi so somerni, sestavljeni iz šestih cvetnih listov in največkrat dvospolni. Trije zunanji listi ustrezajo po mnenju nekaterih čašnim listom (sepali), dva notranja pa venčnim listom (petali). Eden od notranjih cvetnih listov je navadno modificiran. Ta list je večji, bolj pisan in nazobčan ter tudi sama oblika je navadno drugačna, imenuje se medena ustna ali labelum. Ustna s svojo pisanostjo in obliko privablja različne žuželke, ki oprahujejo cvetove. Insekte pa ne privablja zgolj ustna, ampak tudi inteziven vonj nekaterih vrst orhidej, barvitost in lesket cvetov. Ustna je pri nekaterih orhidejah sestavljena iz dveh delov: ephila – sprednjega dela in hipohila – zadnjega dela (Ravnik, 2002).

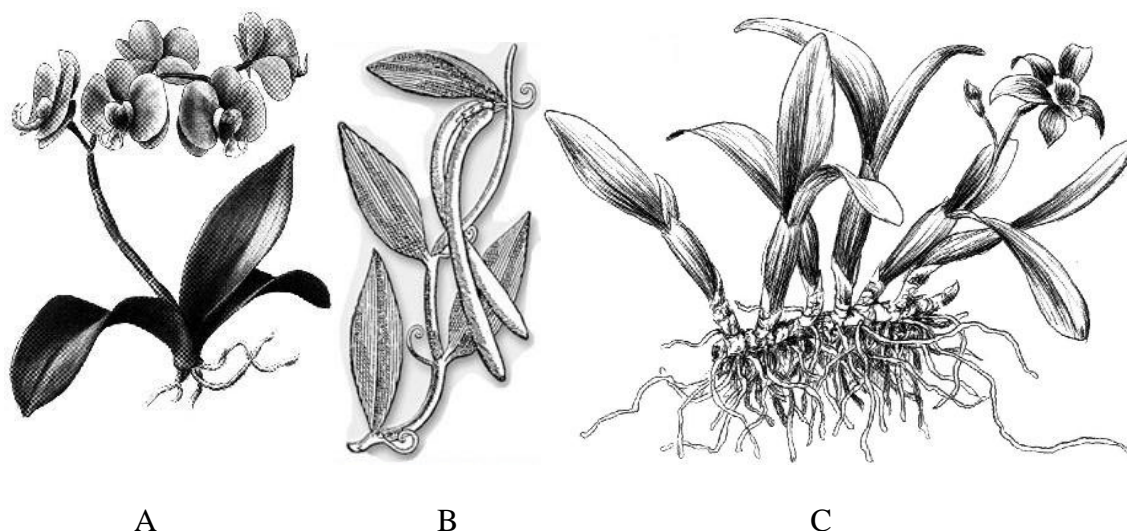
Razmnoževalni organi so združeni v stebriček, ki je zelo značilna tvorba pri orhidejah. Tam se nahajajo prašniki s pelodnimi zrnji, ki so razviti kot polinij . Plodnica je podrasla in sestavljena iz treh medsebojno zraslih plodnih listov (Ravnik, 2002). Orhideje so tujeprašnice in jih najpogosteje oprahujejo žuželke.

2.1 OBLIKA RASTI ORHIDEJ

Epifiti so rastline, ki živijo na drugih rastlinah npr. na drevesih in grmovjih, vendar niso zajedavci. Gostitelja uporabljajo le za sidranje, pridobivanje hrane ter vlage iz zraka in humusa, ki se nabira v vogalih vej oz. v drevesnih razpokah.

Epifitske orhideje delimo v dve skupini glede na razrast nadzemnih delov, v monopodialne in simpodialne (Ravnik, 2002). Monopodialne so rastline, katerih stranski poganjki so popolnoma podrejeni glavnemu poganjku in rastejo s podaljševanjem. Rast je nedeterminirana, saj se glavno steblo podaljšuje z vsakim novim listom (Pridgeon, 1999). Steblo je zelo kompaktno, kot pri orhideji *Phalaenopsis* (slika 1A), lahko pa so hitrorastoče, kot vzpenjavka *Vanilla* (slika 1B) (Kramer, 1997).

Ravno obratno je pri simpodialnih rastlinah, katerih razrast je sestavljena iz zaporednih stranskih poganjkov (Ravnik, 2002). Pri tej obliki rastline poženejo vsako leto nov poganjek iz osnovne lanskoletne rasti. Orhideje tega rastnega tipa tvorijo nepravne čebulice. To je odebeljeni del stebela, ki služi kot skladišče vode in hrane. Velikost nepravih čebulic je različna, lahko so velike od nekaj milimetrov do 20 cm, najpogosteje so jajčaste, sploščene ali podolgovate oblike. Cvetno steblo požene ali iz vrha dozorele nepravne čebulice ali iz njegovega vznožja (slika 1C) (Kramer, 1997).



Slika 1: Oblika rasti orhidej: A- monopodialna s kompaktnim stebлом; B- monopodialna vzpenjavka; C - simpodialna (Answers..., 2008)

2.2 BOTANIČNA KLASIFIKACIJA IN OPIS ORHIDEJ VKLJUČENIH V POSKUS

2.2.1 *Cattleya maxima* (Lindl.)

DEBLO: Spermatophyta–semenke

PODDEBLO: Magnoliophytina (Angiospermae)–kritosemenke

RAZRED: Liliopsida (Monocotyledoneae)–enokaličnice

PODRAZRED: Laliinae

NADRED: Orchidanae

RED: Orchidales–kukavičevci

DRUŽINA: Orchidaceae–kukavičevke

PODDRUŽINA: Orchidoideae

ROD: *Cattleya*

VRSTA: *Cattleya maxima* (*Cattleya*..., 2009)

Za orhidejo *Cattleya maxima* se uporabljata tudi sinonima *Cattleya malouana* in *Epidendrum maximum*. Izvira iz Venezuele, Kolumbije, Ekvadorja in severnega Peruja. Raste na nadmorski višini 10 - 1500 m. Znani sta dve obliki, ki se razlikujeta po višini rasti in habitusu. Uspevata v rahlo različnih klimatskih razmerah. Uvrščeni sta med srednje velike, ki zrastejo do 30 cm višine, in velike orhideje, ki dosežejo 60 cm v višino. Višja oblika uspeva na manjši nadmorski višini z nočno temperaturo do 22 °C in nekoliko več sonca, a pri srednje močni svetlobi. Nižja oblika uspeva v višje ležečih predelih s povprečno nočno temperaturo 17 °C. Psevdobulbili so kijasti, sploščeni in 10 - 25 cm veliki. Iz psevdobulbilov izraščajo listi, dolgi 8 - 20 cm. Razvije močno cvetno steblo z 10 - 20 cvetovi, velikimi do 12,5 cm. Ustna je vijolična do škrlatna, ostali cvetni listi so svetlo rumeni. Cveti poleti 4 - 8 tednov. V bivalnih prostorih ji ustreza srednje močna svetloba. Idealna poletna dnevna temperatura se giblje od 27 do 35 °C. Pozimi ji ustreza za 10 °C nižja temperatura kot poleti (slika 2).



Slika 2: Oblika rasti in cvet orhideje *Cattleya maxima* (Bildarkiv..., 2008; Cattleya, 2008)

2.2.2 *Cattleya violacea* (Schltr.)

DEBLO: Spermatophyta–semenke

PODDEBLO: Magnoliophytina (Angiospermae)–kritosemenke

RAZRED: Liliopsida (Monocotyledoneae)–enokaličnice

PODRAZRED: Laliinae

NADRED: Orchidanae

RED: Orchidales–kukavičevci

DRUŽINA: Orchidaceae–kukavičevke

PODDRUŽINA: Orchidoideae

ROD: *Cattleya*

VRSTA: *Cattleya violacea* (*Cattleya...*, 2009)

Cattleya violacea je bila včasih, ponekod pa je še sedaj, znana in prodajana pod imenom *Cattleya superba*. Vse vrste orhidej rodu *Cattleya* so epifiti iz pragozdov Srednje in Južne Amerike. Ima močan koreninski sistem s pokončnimi nepravimi čebulicami – psevdobulbili jajčaste oblike. Razrast je simpodialna. *Cattleya* je poznana po velikih dekorativnih cvetovih (slika 3).



Slika 3: Oblika rasti in cvet orhideje *Cattleya violacea* (Großräschener..., 2001; Exposição..., 2007)

2.2.3 *Doritis pulcherrima* (Lindl.)

DEBLO: Spermatophyta–semenke

PODDEBLO: Magnoliophytina (Angiospermar)–krito semenke

RAZRED: Liliopsida (Monocotyledoneae)–enokaličnic

PODRAZRED: Liliidae

NADRED: Orchidanae

RED: Orchidales–kukavičevci

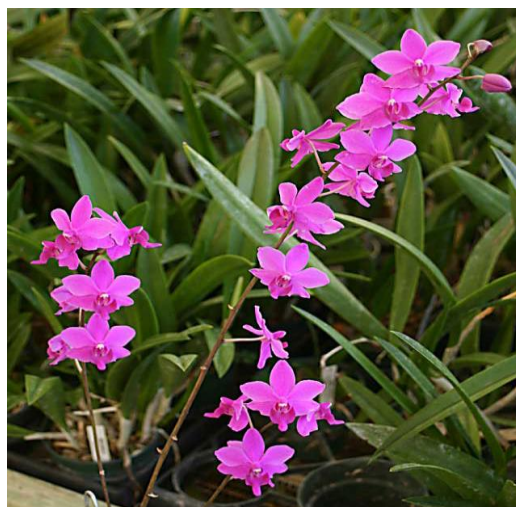
DRUŽINA: Orchidaceae–kukavičevke

PODDRUŽINA: Orchidoideae

ROD: *Doritis*

VRSTA: *Doritis pulcherrima* (*Doritis*..., 2009)

Ime izvira iz latinske besede *pulcher*, kar pomeni zelo lep. *Doritis pulcherrima* prihaja iz jugovzhodne Azije (Burma, Vietnam, Tajska, Malezija in Sumatra). McKenzie Black (1999) navaja, da je ime *Doritis pulcherrima* le sinonim za *Phalaenopsis buyssoniana*. V nekaterih drugih virih, pa je mogoče zaslediti še druge sinonime za orhideje *Doritis pulcherrima*. Raste do 1200 m nadmorske višine. Je orhideja ki se monopodialno razrašča. Tvori kompakten koreninski splet. Korenine so številne, mesnate in okrogle ter štrlijo nekoliko nad substratom, kjer črpajo zračno vlago. Orhideje te vrste imajo kratka olistana stebila. Listi so ploščati, mesnati, podolgovati, eliptični, njihove konice so žašiljene, oblika je konkavna. Dolgi so približno 15 cm in široki 3 cm. Cvetno steblo požene ob strani rozete in je dolgo 50 - 60 cm ter raste ortotrofno - pokončno. Na njem je navzkrižno nanizanih od 10 do 30 cvetov, ki cvetijo zelo dolgo, dva ali več mesecev. Posamezen cvet je velik 1,25 - 5 cm (Pfahl, 1997). *Doritis pulcherrima* cveti večkrat na leto (slika 4).



Slika 4: Oblika rasti in cvet orhideje *Doritis pulcherrima* (Miscellaneous..., 2009; Phalaenopsis..., 2008)

2.2.4 *Vanda cristata* (Lindl.)

DEBLO: Spermatophyta–semenke

PODDEBLO: Magnoliophytina (Angiospermae)–kritosemenke

RAZRED: Liliopsida (Monocotyledoneae)–enokaličnice

PODRAZRED: Liliidae

NADRED: Orchidanae

RED: Orchidales–kukavičevci

DRUŽINA: Orchidaceae–kukavičevke

PODDRUŽINA: Orchidoideae

ROD: *Vanda*

VRSTA: *Vanda cristata* (*Vanda...*, 2009)

Vanda cristata je znana tudi pod imenom *Trudelia cristata*. Izvira iz visokogorskih predelov Nepala in Butana ter spada med monopodialno rastoče orhideje. Raste večinoma epifitsko na drevju in koreninskih izboklinah, kamor se prirašča z močnimi in dolgimi zračnimi koreninami. Ta majhna orhideja zraste okoli 20 cm, ima čvrsta zelena stebila in številne korenine. Listi rastejo horizontalno in so dolgi 12 - 15 cm. Kratka socvetja izraščajo iz listne pazduhe, so pokončna in nosijo 3 - 6 cvetov, širokih približno 5 cm. Povoščeni cvetovi cvetijo nekaj tednov in imajo prijeten vonj. Cvetni in venčni listi so rahlo upognjeni naprej in so rumeni do rumeno zeleni. Cvetni listi so nekoliko krajši in ožji kot 2,5 - 3 cm dolgi venčni listi. Medena ustna je mesnata, trokrpata in na površini obarvana izrazito svetlorumeno z rdeče rjavimi progami, na spodnji strani pa je rumeno zelena (slika 5) (McKenzie Black, 1999).



Slika 5: Oblika rasti in cvet orhideje *Vanda cristata* (*Vanda...*, 2007)

2.2.5 Križanci *Phalaenopsis*

Križanci z oznakami A-3600, A-4266 in A-4269 so nastali med različnimi vrstami oz. hibridi znotraj rodu *Phalaenopsis* v Univerzitetnem botaničnem vrtu Brno, Češka. Dokler se postopek potrjevanja, v primeru tržne zanimivosti, ne zaključi, žlahtnitelj molči o vključenih starših v posameznega križanca.

2.3 AKLIMATIZACIJA NA AVTOTROFNE RAZMERE

Rastline imajo v tkivni kulturi heterotrofni metabolizem, za rast in razvoj uporabljajo že sintetizirane organske snovi oz. hranila. Njihova sinteza organskih snovi je skrajno omejena. Ta sprememba v metabolizmu je posledica zalog ogljikovih hidratov (saharoza, glukoza itd.) v gojišču, majhne količine CO₂, omejene izmenjave plinov in nizke intenzitete svetlobe v rastnih komorah oz. gojitvenih razmerah. Rastline so v *in vitro* razmerah izpostavljene mikrookolju, ki ne omogoča prilagajanja na stresne razmere, zato je za njihov prenos v naravno okolje potrebna postopna prilagoditev oz. utrjevanje – aklimatizacija. Rastline rastejo v *in vitro* razmerah pri skoraj 100 % vlagi, zato moramo pri prenosu v *in vivo* razmere postopno zmanjšati zračno vlago. Prehod iz heterotrofnih v avtotrofne razmere lahko omilimo z dodajanjem razredčene mineralne raztopine, ki je podobne sestave kot gojišče. Nekatere rastlinske vrste, med njimi tudi orhideje, ne prenesejo bogatih substratov in dognojevanja v obdobju aklimatizacije. Intenziteto svetlobe je treba povečevati postopno, prav tako je treba kontrolirati temperaturo, da ne pride do premočne transpiracije. V postopku aklimatizacije se rastline ali tkiva ponovno prilagajajo na avtotrofni način rasti oz. metabolizem, ki jim omogoča sintetizirati potrebne hranilne snovi s pomočjo sončne svetlobe (Ravnikar, 1996).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 RASTLINSKI MATERIAL

V postopek aklimatizacije so bile vključene štiri vrste tropskih orhidej: *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda cristata* in trije križanci *Phalaenopsis* z oznakami A-3600, A-4266 in A-4269 (preglednica 1). Orhideje so bile asimbiotsko razmnožene v *in vitro* razmerah. Semena smo inokulirali na gojišče za kalitev v petrijevkah premera 90 mm. Postopno, glede na rast in razvoj, smo jih subkultivirali na gojitveno gojišče v steklene kozarce s polietilenskimi pokrovi velikosti 55×75 mm (slika 6).

Preglednica 1: Rod, vrsta in oblika rasti orhidej vključenih v poskus aklimatizacije

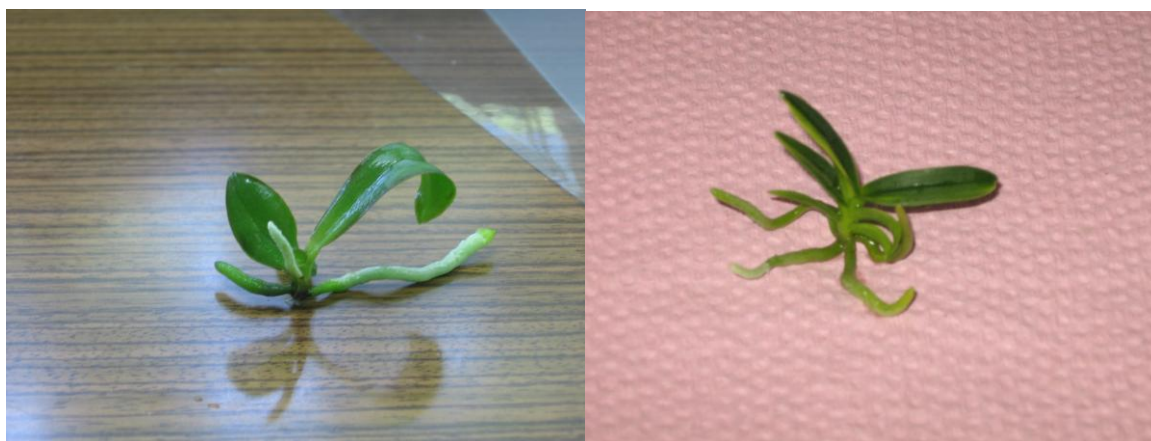
Rod in vrsta orhidej	Oblika rasti
<i>Cattleya maxima</i>	simpodialna
<i>Cattleya violacea</i>	simpodialna
<i>Doritis pulcherrima</i>	monopodialna
<i>Vanda cristata</i>	monopodialna
A-4266	monopodialna
A-4269	monopodialna
A-3600	monopodialna

Rastline so bile ob začetku aklimatizacije velike od 3 do 5 cm, odvisno od vrste in rodu. Bolj kot velikost je pomembno, da so imele vsaj dva lista in vsaj dve korenini (slika 7). Pred sajenjem v substrat smo s korenin sprali ostanke gojišča z destilirano vodo, da čimbolj preprečimo razvoj patogenih mikroorganizmov v substratu. Očiščene rastline smo pred izsušitvijo pustili v destilirani vodi (slika 8). Nato smo jih posadili v substrat (slika 9) v mini rastlinjaku in takoj pokrili s pokrovom (slika 10 in 11). V obdobju aklimatizacije

smo jih zalivali z destilirano vodo, da se po rastlinah ne bi izločal kalcijev karbonat, ki lahko zamaši pore na listih, steblih in koreninah.



Slika 6: Mikropropagirane orhideje pred aklimatizacijo



Slika 7: Rastline z vsaj dvema listoma in dvema koreninama primerne za aklimatizacijo



Slika 8: Rastline pred sajenjem v substrat

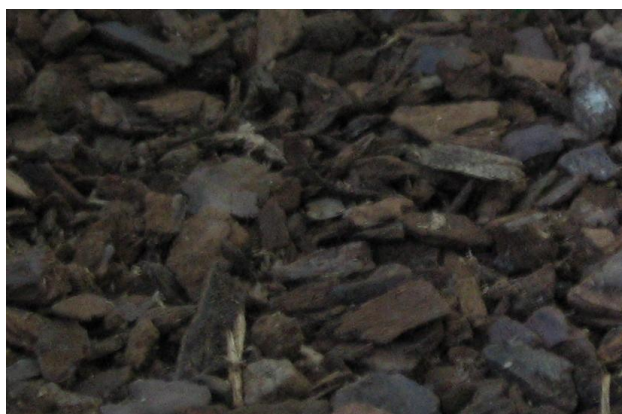
3.2 SUBSTRAT

V poskus aklimatizacije je bil vključen substrat proizvajalca Slingerland iz Nizozemske, ki ga za gojenje podjetje uporablja Ocean Orchids iz Dobrovnika (slika 9).

Sestava substrata:

- 50 % delcev je velikosti med 5 in 15 mm
- 50 % delcev je velikosti med 15 in 20 mm
- sterilizirano borovo lubje (*Pinus sylvestris*)
- 2 kg/m³ šotni mah
- 2 kg/m³ dolokat (10 % MgO)
- 0,5 kg/m³ kalcijev nitrat (CaNO₃)
- 250 g/m³ PG mešanica N:P:K 12:14:24

Substrat odlikuje stabilna sestava in koncentracija komponent od serije do serije nakupa.



Slika 9: Substrat za orhideje uporabljen v postopku aklimatizacije

3.3 GOJITVENI PROSTOR IN POSTOPEK AKLIMATIZACIJE

Primerno velike orhideje smo iz gojitvenega gojišča posadili v substrat v plastične mini rastlinjake (slike 6, 7, 8, 9 in 10).

Na dno mini rastlinjakov smo natrosili približno dvocentimetrsko plast substrata.

Mini rastlinjaki so sestavljeni iz dveh delov. Spodnji del je temno ali svetlo zelen in izdelan iz mehkejše plastike, zgornji del je trši in prozoren. Na vrhu pokrova ima dve odprtini oz. zračnika za prezračevanje gojitvenega prostora. Velikost spodnjega dela mini rastlinjaka je $36 \times 22 \times 6$ cm, zgornjega dela (pokrov) pa $36 \times 22 \times 12$ cm (slika 10).



Slika 10: Mini rastlinjak napolnjen s substratom in z dvema odprtinama na pokrovu

Ko smo rastline vzeli iz steklenih kozarcev s polipropilenskim pokrovom (slika 6), smo jih pred posledicami izsušitve namočili v destilirano vodo in s korenin sprali gojišče (slika 7 in 8). Po tem smo jih posadili v mini rastlinjake ter jih zalili z destilirano vodo (slika 10 in 11). Substrat in rastline ne smejo biti preveč vlažne, ker imajo neaklimatizirane orhideje neutrjene celične stene in povrhnjico ter se hitro okužijo in propadejo. Zato smo v mini rastlinjake dali po dve 50 ml posodi z vodo, da se je v mini rastlinjaku čim prej vzpostavila visoka relativna vlaga, tako da se je zarosil pokrov.

Po prvem tednu aklimatizacije smo posode z vodo odstranili. Prvi in drugi teden smo zračnike mini rastlinjakov pustili zaprte in vsak dan samo prezračili gojitveni prostor tako, da smo za nekaj minut odstranili pokrove in jih nato pokrili nazaj. Tretji teden smo zračnike napol odprli in pustili odprte 3 dni, po treh dneh smo jih čisto odprli, na koncu tedna (6. dan) pa na eni strani pokrove podložili s 5 cm debelim stiroporom. Četrty in peti teden smo pokrove popolnoma odstranili. Odkrite orhideje smo v mini rastlinjakih zalivali vsaj enkrat tedensko oz. po potrebi – glede na vlažnost substrata.



Slika 11: Posajene rastline v mini rastlinjaku

3.4 VREDNOTENJE

Vsak teden ob sobotah smo spremljali število preživelih in propadlih rastlin. Zbrane podatke in izračunane odstotke ter povprečja smo prikazali v preglednicah in slikah ter jih opisali z metodami opisne statistike.

4 REZULTATI

4.1 POSTOPEK AKLIMATIZACIJE

V poskus aklimatizacije smo vključili 783 različnih orhidej, ki so bile asimbiotsko razmnožene in do aklimatizacije *in vitro* gojene. Od tega 113 rastlin *Cattleya maxima*, 168 rastlin *Cattleya violacea*, 36 rastlin *Doritis pulcherrima*, 63 rastlin *Vanda cristata*, 261 rastlin A-3600, 94 rastlin A-4266, 48 rastlin A-4269.

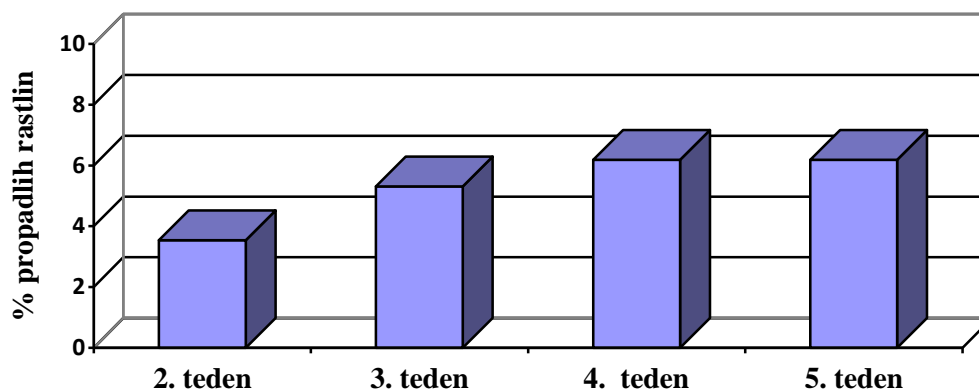
Odmiranje orhidej se je razlikovalo od vsakega tedna posebej ter od vrste orhidej. Pri tem moramo poudariti, da so vse orhideje imele enake razmere za rast in razvoj.

V prvem tednu ni propadla nobena orhideja, zato smo prikazali propad šele v drugem tednu.

Preglednica 2: Število posajenih in propadlih orhidej v 5 tednih aklimatizacije

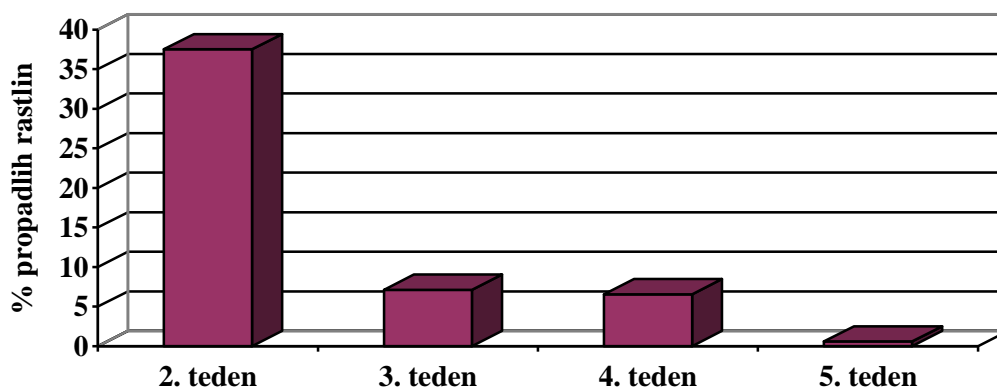
ROD VRSTA	ŠT. POSAJENIH ORHIDEJ	ŠT. TEDNOV AKLIMATIZACIJE				ŠT. PROPADLIH ORHIDEJ
		2	3	4	5	
<i>Cattleya maxima</i>	113	4	6	7	7	24
<i>Cattleya violacea</i>	168	63	12	11	1	87
<i>Doritis pulcherrima</i>	36	15	7	2	1	25
<i>Vanda cristata</i>	63	0	2	4	6	12
A-3600	261	2	6	8	4	20
A-4266	94	12	0	0	2	14
A-4269	48	13	1	6	2	22

Cattleya maxima je na začetku aklimatizacijskega postopka štela 113 rastlin. Na koncu aklimatizacije smo ugotovili, da je največ rastlin, 7, propadlo v četrtem in petem tednu. Skupno je propadlo 24 rastlin. *Cattleya violacea* je na začetku aklimatizacijske dobe štela 168 rastlin. Največ rastlin, 63, je propadlo v drugem tednu, potem se je propadanje upočasnilo. Skupno je propadlo 87 rastlin. *Doritis pulcherrima* je štela samo 36 rastlin, od tega jih je na koncu aklimatizacije propadlo 25. Največ rastlin, 15, je propadlo v drugem tednu aklimatizacije. Na začetku aklimatizacije smo imeli 63 rastlin *Vande cristate*, ki pa so pri aklimatizaciji začele propadati. Največ rastlin, 6, je propadlo v petem tednu. Skupno jih je propadlo 12. Največ rastlin je bilo posajenih pri križancu A-3600. Od 261 rastlin jih je v času aklimatizacije propadlo 20, največ 8 v četrtem tednu. Križanec A-4266 je na začetku aklimatizacije imel 94 rastlin, največ, 12, jih je propadlo v drugem tednu. Na koncu je propadlo 14 rastlin. Pri križancu A-4269 smo posadili 48 rastlin, od tega jih je na koncu postopka odmrlo 21. Največ rastlin, 13, jih je propadlo v drugem tednu (preglednica 2).

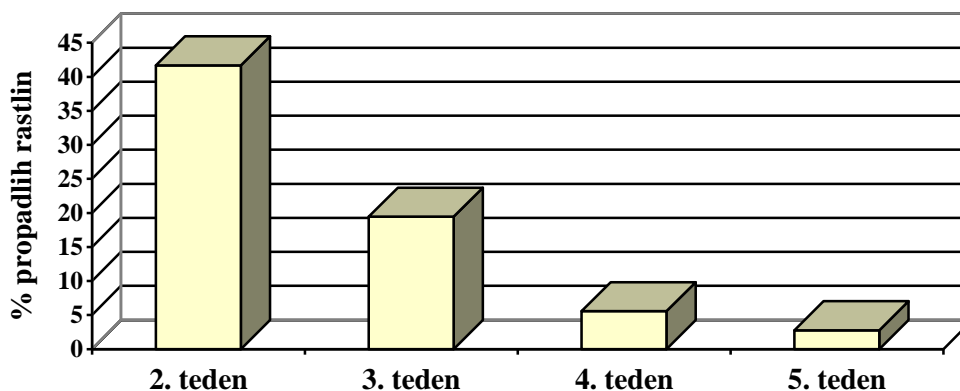


Slika 12: Odstotek propadlih orhidej *Cattleya maxima* v petih tednih aklimatizacije

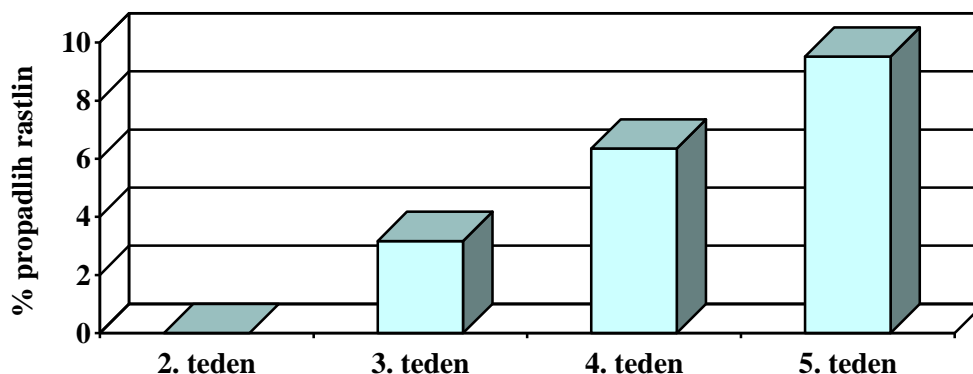
Cattleya maxima je na začetku aklimatizacijskega postopka štela 113 rastlin. Po končanem poskusu smo ugotovili, da nam je v postopku aklimatizacijskega postopka propadlo 21,23 % rastlin. V drugem tednu jih je propadlo 3,54 %, sledil je tretji teden, ko jih je propadlo 5,31 %, ter četrti teden, ko je propadlo 6,19 % rastlin. Peti teden je ponovno propadlo 6,19 % rastlin (preglednica 2, slika 12).

Slika 13: Odstotek propadlih orhidej *Cattleya violacea* v petih tednih aklimatizacije

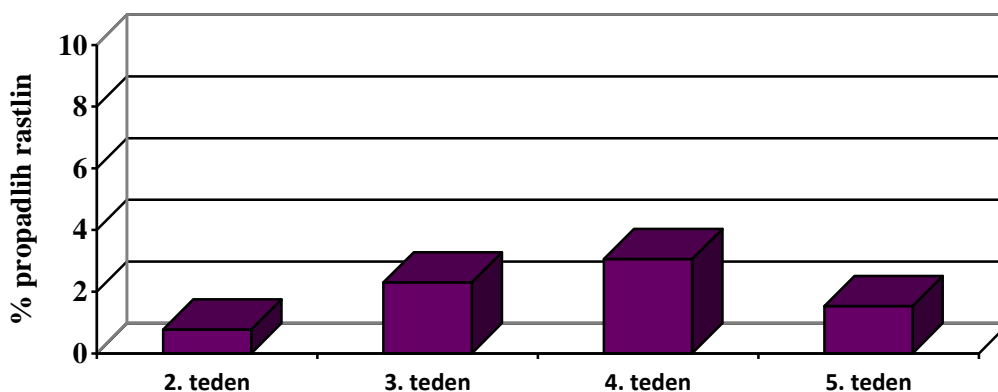
Cattleya violacea je na začetku aklimatizacijskega postopka imela 168 rastlin. Največ rastlin, 37,5 %, je propadlo v drugem tednu, v tretjem tednu jih je propadlo 7,14 %, sledil je četrty teden, ko je propadlo 6,55 % rastlin, konec poskusa v petem tednu pa jih je propadlo 0,59 % (preglednica 2, slika 13).

Slika 14: Odstotek propadlih orhidej *Doritis pulcherrima* v petih tednih aklimatizacije

Doritis pulcherrima je na začetku aklimatizacijskega postopka štela 36 rastlin, s tem pa tudi najmanjše število posejanih rastlin. V drugem tednu je propadlo 41,67 % rastlin, v tretjem tednu 19,44%, v četrtem tednu 5,56 % ter v petem tednu 2,77 % rastlin (preglednica 2, slika 14).

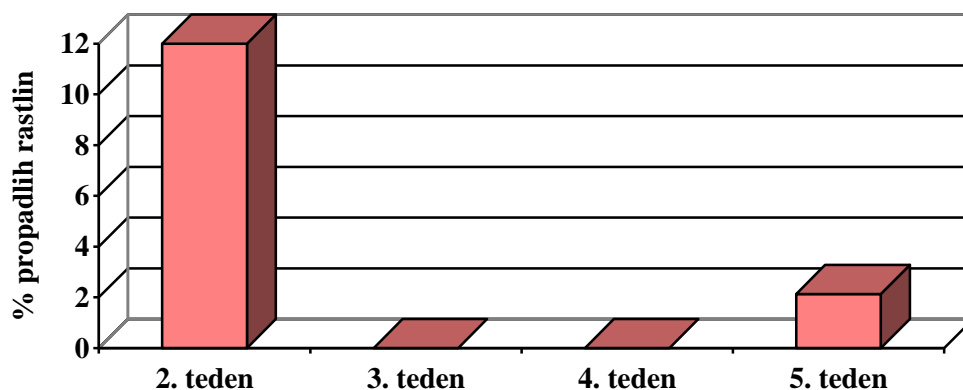
Slika 15: Odstotek propadlih orhidej *Vanda cristata* v petih tednih aklimatizacije

Vanda cristata je na začetku aklimatizacijskega postopka štela 63 rastlin, katerih število pa se je od 3. tedna naprej zmanjševalo. V drugem tednu namreč ni propadla nobena rastlina. Propad rastlin se je začel šele v tretjem tednu, ko je propadlo 3,17 % rastlin, propad se je nadaljeval v četrtem tednu, ko jih je propadlo 6,35 %. Peti teden aklimatizacijskega postopka in konec poskusa smo zabeležili, da je propadlo 9,52 % rastlin (preglednica 2, slika 15).



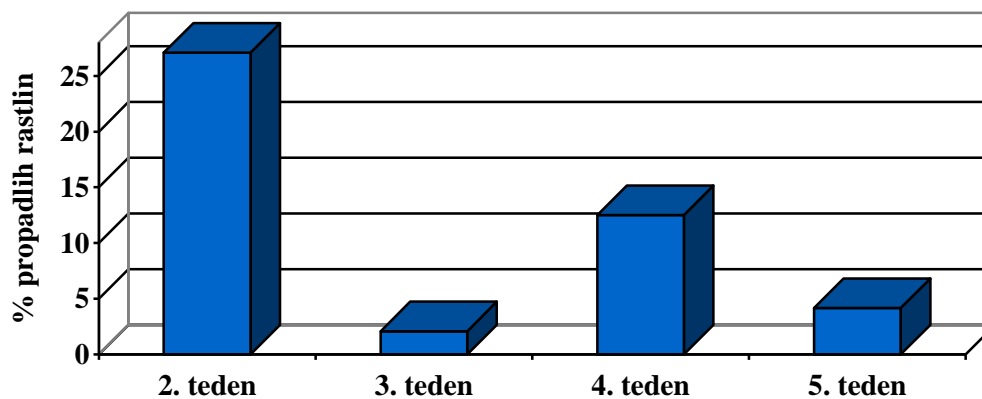
Slika 16: Odstotek propadlih orhidej križanca A-3600 v petih tednih aklimatizacije

Pri križancu *Phalaenopsis* z oznako A-3600 nam je v *in vitro* razmerah uspelo razmnožiti največ primernih rastlin za aklimatizacijo in je bila od vseh sedmih skupin najštevilčnejša z 261 rastlinami. V drugem tednu je propadlo 0,77 %, v tretjem tednu 2,30 %, v četrtem tednu 3,06 % ter v petem tednu 1,53 % rastlin (preglednica 2, slika 16).



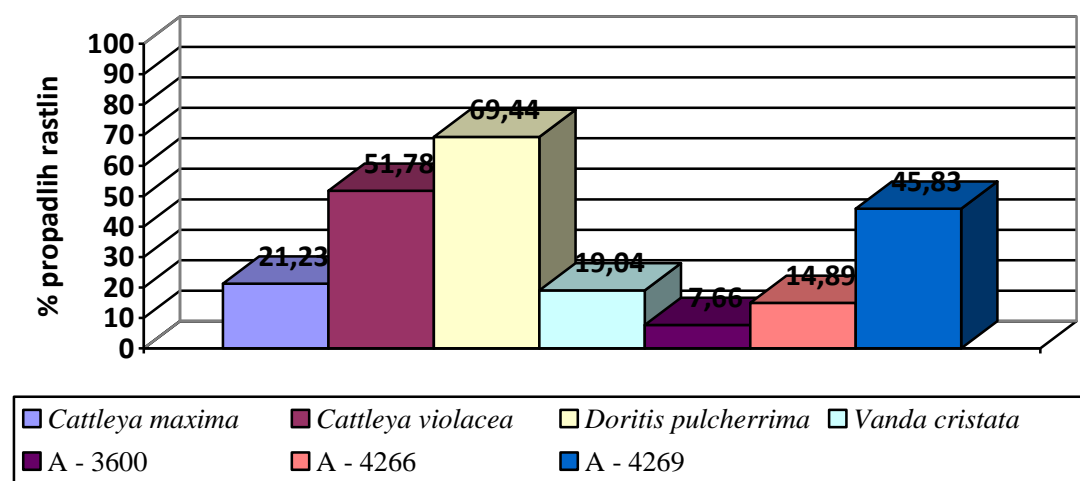
Slika 17: Odstotek propadlih orhidej križanca A-4266 v petih tednih aklimatizacije

Križanec *Phalaenopsis* z oznako A-4266 je na začetku aklimatizacijskega postopka štel 94 rastlin. V drugem tednu je propadlo 12,76 % rastlin. Tretji in četrti teden ni propadla nobena rastlina, peti teden pa jih je propadlo 2,13 % (preglednica 2, slika 17).



Slika 18: Odstotek propadlih orhidej križanca A-4269 v petih tednih aklimatizacije

Križanec *Phalaenopsis* z oznako A-4269 je na začetku aklimatizacijskega postopka štel 48 rastlin. V drugem tednu aklimatizacije je propadlo 27,09 % rastlin, sledil je tretji teden, ko jih je propadlo 2,08 %. V četrtem tednu je propadlo 12,5 %, v petem tednu pa 4,16% rastlin (preglednica 2, slika 18).



Slika 19: Odstotek propadlih orhidej v petih tednih aklimatizacije

Slika 19 prikazuje skupen propad rastlin v aklimatizacijskem postopku. Največ rastlin je propadlo pri vrsti *Doritis pulcherrima* in to kar 69,44 %. Malo več kot polovični propad z 51,78 % je bil pri orhideji *Cattleya violacea*. Pri križancu *Phalaenopsis* z oznako A-4269 je propadlo 45,83 % rastlin, pri rodu *Cattleya maxima* jih je propadlo 21,23 %, 19,04 % rastlin je propadlo pri rodu *Vanda cristata*, pri križancu *Phalaenopsis* z oznako A-4266 je propadlo 14,89 % rastlin in najmanj, samo 7,66 % rastlin, je propadlo pri križancu A-3600.

1. teden



A

5. teden



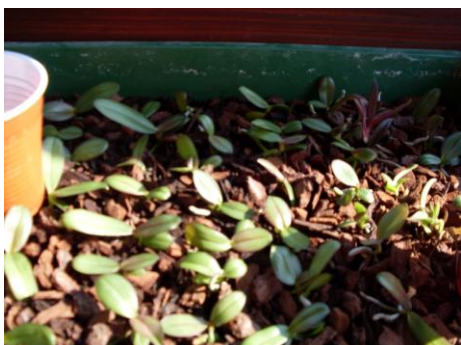
B



C



D



E



F



G



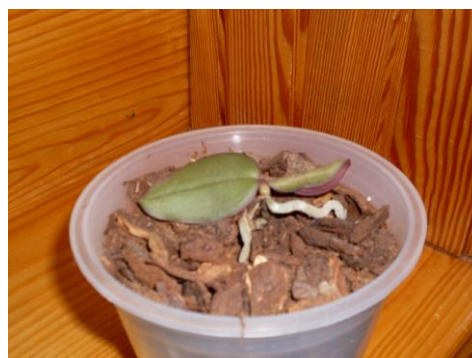
H

nadaljevanje

se nadaljuje



I



J



K



L



M



N

Slika 20: Rast in razvoj orhidej na začetku 1. tedna in na koncu 5. tedna aklimatizacije; A, B - *Cattleya maxima*; C, D - *Cattleya violacea*; E, F - *Doritis pulcherrima*; G, H - *Vanda cristata*; I, J - križanec A-3600; K, L - križanec A-4266 in M, N - križanec A-4269

5 RAZPRAVA IN SKLEP

5.1 RAZPRAVA

Rastline sedmih skupin epifitnih orhidej, ki rastejo v naravi kot priraslike, so bile vključene v poskus aklimatizacije kot zadnjo fazo mikropropagacije. Predhodno so bile asimbiotsko razmnožene v *in vitro* razmerah. Na začetku aklimatizacije so bile rastline v povprečju velike od 3 do 5 cm, odvisno od vrste in rodu. Bolj kot velikost je pomembno, da so imele vsaj dva lista in vsaj dve korenini (slika 6). Croezen (2002) navaja, da je primerna velikost za aklimatizacijo orhidej, ko so njihovi listi veliki vsaj 5 cm, medtem ko Park in sod. (2003) priporočajo velikost poganjka 3 - 4 cm, z dvema listoma in 3 - 4 koreninami. Nayak in sod. (1997) priporočajo za monopodialno orhidejo *Acampe praemorsa* poganjek s povprečno 4,5 koreninami, dolgimi 3,7 cm. Chang in Chang (1998) za simpodialno orhidejo *Cymbidium ensifolium* navajata primerno velikost regenerantov 5 cm. V literaturi so navedeni različni podatki, ki so odvisni od rodu in vrste orhidej. Tudi orhideje, vključene v poskus aklimatizacije, so bile različno velike in v različnih razvojnih fazah, odvisno od rodu in vrste.

Aklimatizacija je zaradi lažjega kontroliranja razmer potekala v mini rastlinjakih (slika 10) in na substratu za gojenje orhidej Slingerland iz Nizozemske. Pri aklimatizaciji smo morali poleg ustrezne vlage paziti tudi na ostale parametre, kot so: svetloba, temperatura, kroženje zraka in izbira ustreznega substrata (Gordon, 1991).

V poskus aklimatizacije smo v organski substrat skupno posadili 783 orhidej *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda cristata* in tri križance *Phalaenopsis* z oznakami: A-4269, A-4266 ter A-3600.

V prvem tednu aklimatizacije ni propadla nobena orhideja. Orhideje so imele zagotovljeno veliko zračno vlago, pokrovi mini rastlinjakov so bili orošeni, ki smo jih v prvem tednu vzdrževali z vodo v posodah. Tako smo preprečili, da bi bil substrat preveč namočen. V takem substratu je propad rastlin veliko večji kot v zmerno vlažnem substratu. Vsak dan smo za približno 5 min odstranili pokrove mini rastlinjakov, da se je zrak zamenjal. Poleg vzdrževanja zračne vlage z vodo v posodah, smo substrat zalivali tudi po potrebi. Za zalivanje orhidej smo v času aklimatizacije uporabljali deževnico, da se ne bi zamašile pore na listih, steblih in koreninah, skozi katere rastline dihajo oz. izmenjujejo CO₂ in O₂ ter vlago.

V drugem tednu smo odstranili čaše z vodo, tako da rastline niso imele več zagotovljene visoke zračne vlage iz posod, temveč samo iz substrata. S tem smo začeli odstotek vlage zmanjševati. To pa vpliva na utrditev povrhnjice – kutikule – in vzpostavitev funkcije

listnih rež ter na transpiracijo. Še vedno smo vsak dan pokrove rastlinjakov odstranili za približno 5 min in tako poskrbeli za kroženje zraka v mini rastlinjakih.

V drugem tednu je propadlo 109 rastlin oz. 13,92 %. V tem obdobju so bili pokrovi mini rastlinjakov še pokriti, v njih ni bilo posod z vodo, samo za 5 minut na dan smo prezračevali gojitveni prostor.

V tretjem tednu smo zračnike na mini rastlinjakih postopoma odpirali. Na koncu tedna smo pokrov na najdaljši stranici podložili s stiroporom in tako povečali kroženje zraka ter zmanjšali relativno zračno vlago, kar je vplivalo na funkcijo listnih rež in izoblikovanje ter utrjevanje voskaste prevleke po listih in steblih. Propadlo je 34 rastlin oz. 4,34 %.

V četrtem tednu aklimatizacije smo pokrove odstranili in tako poskrbeli za sprotno kroženje zraka in zmanjšanje relativne zračne vlage. Ker je bilo zračne vlage zelo malo, smo morali orhideje večkrat rositi in zalivati z destilirano vodo. Propadlo je 38 orhidej oz. 4,85 %.

V petem tednu aklimatizacije so rastline v povprečju pridobile vsaj en nov list in več korenin. Orhideje so se utrdile in vzpostavile funkcijo listnih rež ter posledično transpiracijo, saj listi niso veneli, je pa v tej fazi propadlo še 22 rastlin oz. 2,81 %.

V petih tednih aklimatizacije je največ rastlin, 69,44 %, propadlo pri *Doritis pulcherrima*, 51,78 % pri *Cattleya violacea*, 45,85 % pri križancu A-4269, bistveno manj, 21,23 %, pri *Cattleya maxima*, 19,04 % pri *Vanda cristata*, 14,89 % pri križancu A-4266 in najmanj, 7,66 %, pri križancu A-3600. Tiste rastline, ki so v obdobju aklimatizacije in po njej nadaljevale z rastjo in bile vitalne, so se prilagodile na avtotrofne razmere in se bile sposobne asimilirati.

5.2 SKLEP

Uporaba mini rastlinjakov za aklimatizacijo orhidej vključenih v poskus aklimatizacije se je izkazala za zelo priročno, saj omogočajo preprost način vzdrževanja optimalne zračne vlage in temperature.

Pri aklimatizaciji moramo uskladiti pet rastnih dejavnikov. To so: temperatura, substrat, svetloba, kroženje zraka in vlaga.

Križanca A-3600 s 7,66 % in A-4266 s 14,89 % propadlih rastlin sta zelo perspektivna, saj sta zadnjo fazo mikropropagacije zelo uspešno preživela, medtem ko je pri križancu A-4269 propadlo kar 45,83 % rastlin.

Pri vrstah je najmanj rastlin, samo 19,04 %, propadlo pri monopodialni orhideji *Vanda cristata*, nekoliko več, 21,23 %, jih je propadlo pri simpodialni orhideji *Cattleya maxima*,

veliko več, 51,78 %, pri drugi simpodialni orhideji *Cattleya violacea* in največ, 69,44 %, pri monopodialni orhideji *Doritis pulcherrima*.

Enake razmere aklimatizacije so različne orhideje različno uspešno preživele, saj so genetske razlike med njimi zelo velike in s tem tudi potrebe v postopku prilagajanja na avtotrofne razmere.

Osnovni pogoj uspeha je, da so *in vitro* rastline pred aklimatizacijo dovolj velike in vitalne, s primerno zalogo hranil v listih in koreninah, ter ustrezni ukrepi v obdobju aklimatizacije.

6 POVZETEK

Zaradi vedno večjega povpraševanja po tropskih orhidejah in pri nekaterih rodovih težavnega razmnoževanja ter zmanjševanja pritiska na okolje, ki ga trpi zaradi odnašanja rastlin iz njihovega naravnega habitata ter nedovoljenega trgovanja, se je razvilo asimbiotsko razmnoževanje in gojenje orhidej v *in vitro* razmerah. Zadnja in zelo pomembna faza *in vitro* gojenja je aklimatizacija. V tej fazi želimo rastline, ki so rasle v optimalnih razmerah, kjer smo jim nudili dovolj hranil, vlage, temperature in svetlobe, prilagoditi na rastne razmere, ko vse te razmere niso vedno optimalni. Uspešen rezultat aklimatizacije je pridobiti čim več vitalnih rastlin, ki bi hitro zacvetele in bile tržno zanimive.

V poskus aklimatizacije so bile vključene štiri vrste epifitnih orhidej *Cattleya maxima*, *Cattleya violacea*, *Doritis pulcherrima*, *Vanda cristata* in trije križanci *Phalaenopsis* z oznakami A-3600, A-4266 in A-4269 (preglednica 1). Skupno je bilo posajenih 783 orhidej (preglednica 2).

Na začetku aklimatizacijskega postopka so imele orhideje ne glede na rod in vrsto vsaj dva lista ter vsaj dve korenini ter so bile velike 3 - 5 cm (slika 6). V postopku aklimatizacije so bile rastline 5 tednov in v tem obdobju smo spremljali propad oz. preživelost vsak teden.

Največ rastlin, 92,34 % oz. 261, je preživel pri križancu *Phalaenopsis* z oznako A-3600. Nekoliko manj, 85,11 % oz. 80, jih je preživel pri križancu A-4266. Pri orhideji *Vanda cristata* je bilo vitalnih 80,95 % oz. 51 rastlin. Pri orhideji *Cattleya maxima* je preživel 78,76 % oz. 89 rastlin, pri križancu z oznako A-4269 je preživel malo več kot polovica, 54,16 % oz. 26 rastlin, pri orhideji *Cattleya violacea* je bilo vitalnih 48,24 % oz. 81 rastlin, pri orhideji *Doritis pulcherrima* pa se je aklimatiziralo najmanj, samo 30,56 % oz. 11 rastlin.

7 VIRI

- Answers.com™. 2008. Technology.
<http://www.answers.com/topic/sympodial> (5.9.2008)
- Bildarkiv–Orkide.
<http://www.stenasa.se/blommarnu/orkide/Cattleya%20maxima.jpg> (7.9.2008)
- Cattleya. (1.10.2008)
<http://www.elicriso.it/es/orquideas/cattleya/cattleya/> (1.4.2009)
- Cattleya (26.4.2009)
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Cattleya>)
- Chang C., Chang W. C. 1998. Plant regeneration from callus culture of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors*. *Plant Cell Reports*, 17: 251-255
- Croezen P. 2002. In vitro orchid cultivation. OrchidMania Inc.
<http://www.orchids.org/conservation/inVitro.html> (15.10.2008)
- Doritis. (9.6.2009)
<http://en.wikipedia.org/wiki/Doritis> (10.6.2009)
- Exposição da AMO 2007. Cattleya violacea.
<http://www.ufv.br/aovv/viagens/ExpoAMO07/index.htm> (5.9.2008)
- Fortner L. 1996. What are orchids. Linda's Orchid Page.
<http://www.orchidlady.com/whatrorc.html> (25.9.2008)
- Gordon D. 1991. Steering a new course: transportation, energy, and the environment. Cambridge: Union of Concerned Scientists: 105 str.
- Greisen K. S. 2000. Commercial Propagation of Orchids in Tissue Culture: Seed-Flasking Methods. America Orchid Society.
- Großräschener Orchids.
<http://www.orchideenwloдаряczyk.de/shop/catalog/cattleya-violacea-p-808.html>
(6.9.2008).
- Kramer J. 1997. Orchid for everyone. New York, Smithmark Publisher: 208 str.
- McKenzie Black P. 1999. Orchid growing. London, Ward Lock Book: 160 str.
- Miscellaneous Species.
http://www.orchids.iastate.edu/gallery/Miscellaneous-Species/Doritis_pulcherrima
(6.9.2009)

Nayak N.R., Patnaik S., Rath S.P. 1997. Direct shoot regeneration from foliar explants of an epiphytic orchid, *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and McCann. *Plant Cell Reports*, 16:583-586.

Park S.Y., Murthy H.N., Paek K.Y. 2003. Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root trip cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science* 164:919-923.

Pfahl J. 1997. Internet orchid species photo encyclopedia.

<http://www.orchidspecies.com> (6.8.2008)

Phalaenopsis and Phalaenopsis Clones.

<http://www.odoms.com/images/inventory/5P44.jpg> (5.9.2008)

Pridgeon A. 1999. *The Illustrated encyclopedia of orchids*. The Rocks, Lansdowne Publishing Pty Ltd: 304 str.

Ravnikar R. 1996. Rastlinske tkivne kulture. V: *Biotehnologija – osnovna znanja* Raspor P. (ur.). Ljubljana, Bia: 149-164

Ravnik V. 2002. *Orhideje Slovenije*. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 192 str.

Trenc–Frelj I. 1990. *Orhideje. Slovenija*. Ljubljana, Mladinska knjiga

Vanda. (13.3.2009)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Vanda> (10.6.2009)

Vanda cristata. (31.12.2007)

<http://www.orchidsonline.com.au/node/595> (29.11.2008)

Wales J. Wikipedia. 2001. Wikimedia Foundation Inc (13.7.2008)

<http://sl.wikipedia.org/wiki/Kukavičevke>(8.9.2008)

ZAHVALA

Na prvem mestu bi se rada zahvalila svoji mentorici izr. prof. dr. Zlati Luthar za njeno pomoč, potrpežljivost in za ves dragocen čas, ki si ga je vzela pri pripravi moje diplomske naloge.

Zahvaljujem se recenzentoma prof. dr. Franc Batič in izr. prof. dr. Gregorju Ostercu za pregled naloge.

Za posredovane križance in substrat se najlepše zahvaljujem Tomažu Jevšniku, dipl. ing. agr. iz podjetja Ocean Orchids.

Posebna zahvala gre moji družini, ki mi je omogočila študij in so pri njem sodelovali tako moralno kot finančno.

Hvala Roku Ahlinu za ves trud in potrpežljivost pri grafičnem oblikovanju diplomske naloge.

Vsem se iskreno zahvaljujem!