

MNOŽENÍ A ZAKOŘEŇOVÁNÍ VIŠEŇ PÍSEČNÉ *IN VITRO*SAND CHERRY *IN VITRO* MULTIPLICATION AND ROOTING

Matěj Semerák, Jiří Sedlák

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.,
Holovousy 129, Holovousy 508 01

e-mail: semerak@vsuo.cz, ORCID ID: 0000-0003-0666-8143

ABSTRAKT

Višeň písečná (*Prunus pumila* L.), severoamerický keř s jedlými plody, je v oblasti střední Evropy zatím málo známá, avšak díky své přizpůsobivosti a odolnosti vůči suchu má předpoklady dostat se do okruhu zájmu místních pěstitelů. Kromě zpracovatelných plodů tkví význam tohoto druhu i v jeho použitelnosti coby meruňkové či broskvoňové podnože. Cílem předkládané práce byl výzkum mikropropagačních technik kultivace tohoto druhu. Používali jsme růstové médium Murashige a Skoog s vybranými auxiny a cytokininy. V multiplikační fázi se osvědčil thidiazuron v koncentraci 1 nebo 2 mg/L, při indukci kořenění jsme uspokojivých výsledků dosáhli s použitím kyseliny indol-3-máselné v koncentraci 5 mg/L.

Klíčová slova: višeň písečná, *Prunus pumila* L., *in vitro*, multiplikace, zakořeňování

ABSTRACT

Prunus pumila L., the dwarf sand plum (also named sand cherry), is a North American shrub with edible fruit. It is not yet widely known in Central Europe, but it has the potential to become of interest to growers thanks to its adaptability and drought tolerance. Apart from the fruit processing, the value of this species lies in its applicability as a rootstock for apricot and peach. Our work aimed at the micropropagation techniques for this species. We used the Murashige and Skoog growth medium with selected auxins and cytokinins added. In the multiplication phase, thidiazuron proved itself to be efficient in the concentration 1 or 2 mg/L. For the rooting induction, satisfactory results were obtained when indole-3-butyric acid was used in the concentration 5 mg/L.

Keywords: dwarf sand plum, *Prunus pumila* L., *in vitro*, multiplication, rooting

ÚVOD

Višeň písečná (*Prunus pumila* L.), řazená v rámci rodu *Prunus* do sekce *Microcerasus*, je druh slivoně původem z USA a Kanady. Na původních stanovištích se jedná o keře dorůstající výšky 1,5 m. Druh vytváří i poléhavé nižší formy, *Prunus pumila* L. var. *depressa* (Pursh) Bean. Na západě USA se vyskytuje i poddruh *Prunus pumila* L. var. *besseyi* (L. H. Bailey) Waugh. Přestože česká botanická nomenklatura používá rodový název višeň, severoamerické zdroje

odkazují na bližší genetickou příbuznost se slivoněmi (Ramming a Cociu 1991, USDA 2022). Někteří autoři rozlišují v rámci taxonu dva samostatné druhy: *Prunus pumila* a *Prunus besseyi* (Ramming a Cociu 1991).

Plody višně písečné jsou obvykle tmavě fialové až černé barvy, kulovité o velikosti 1 až 1,5 cm. U studovaného druhu existuje i variabilita v kvalitě plodů. Chuť je obvykle příjemně sladce navinulá, existují ale i genotypy sladce nahořklé. Původní obyvatelé Severní Ameriky konzumovali višně písečné v čerstvém stavu, ale také je sušili pro pozdější použití v zimních měsících. V dnešní době se v USA plody kuchyňsky uplatňují v cukrářských výrobcích, želé, džemech, sirupech i pro výrobu ovocných vín. Koláč z tohoto druhu višně je velmi oblíbený na americkém středozápadě. Plody jsou rovněž na původních stanovištích konzumovány mnoha druhy volně žijících živočichů včetně jelenů (Clark 2014, Bruneni 2019).

V průběhu kulturního pěstování byly vyselektovány některé odrůdy 'Catskill', které se množí v komerčním školkařském sektoru pro sadovnické účely (Clark 2014). Od studovaného druhu byla vyselektována i slaběji rostoucí podnož 'Pumiselekt' používaná v ovocnářském sektoru zejména pro meruňky a broskvoně (Krška *et al.* 2004, Gudarowska 2006). Výhodou tohoto druhu višně, zejména při zmíněném uplatnění coby podnože v oblasti komerční produkce peckovin, je v současných podmínkách globální klimatické změny a oteplování i značná suchovzdornost a adaptabilita.

Cílem předložené práce byl výzkum technik mikropropagace višně písečné. Ve srovnání s řadou ostatních zástupců rodu *Prunus* je *in vitro* kultivace tohoto druhu nedostatečně prozkoumána, a v případě nalezení vhodného protokolu zde existuje významný potenciál pro zefektivnění produkce školkařského materiálu. Moderní metody pěstování v *in vitro* kulturách navíc nejsou, na rozdíl od tradičních školkařských metod používajících odběr řízků, omezeny jen na určitou část roku.

MATERIÁL A METODY

Pokusy s *in vitro* množением višně písečné probíhaly ve VÝZKUMNÉM A ŠLECHTITELSKÉM ÚSTAVU OVOCNÁŘSKÉM HOLOVOUSY s.r.o. (VŠÚO). Teplota v kultivační místnosti byla nastavena na stálých 22 °C, fotoperioda na 16 hodin světlo/8 hodin tma. Založené *in vitro* kultury višně písečné (Obrázek 1) byly kultivovány v Erlenmeyerových baňkách s 30 mL agarového živného média typu MS (Murashige a Skoog 1962) se sacharózou v množství 30 g/L.

Před zahájením pokusu probíhalo množení na médiu s přídavkem 1,5 mg 6-benzylaminopurinu (BAP) a 0,1 mg kyseliny indol-3-máselné (IBA) na litr. Pro multiplikační experiment byly kultury přesazeny na média bez auxinu, obsahující buď cytokinin BAP v koncentraci 1, 2 či 4 mg/L, nebo thidiazuron (TDZ) v koncentraci 0,5, 1 či 2 mg/L. Na každé médium bylo nasazeno 30 výhonů. Po měsíci kultivace byl pro jednotlivé varianty vypočítán multiplikační koeficient.

Za účelem zakořenění byla část výchozích kultur převedena na média bez cytokininu, pouze s 5 mg/L auxinu. Kromě IBA byly testovány ještě kyselina indol-3-octová (IAA) a 1-naftyloctová (NAA). Na média s jednotlivými auxiny bylo opět nasazeno po 30 výhonech. Po měsíci kultivace byl stanoven podíl zakořeněných, a u těchto též průměrný počet kořenů.

Zakořeněné výhony byly zasazeny do rašelinových tablet Jiffy a udržovány při vysoké vzdušné vlhkosti v minipařeništích. Po aklimatizaci na *ex vitro* podmínky byly dále pěstovány v běžném zahradnickém substrátu (Obrázek 2).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky multiplikace na médiích s různou koncentrací cytokininů shrnuje graf 1. Ze studovaných variant vytvářela více písčná zdaleka nejvíce postranních výhonů na médiích s TDZ v množství 1 nebo 2 mg/L. Při nižší koncentraci TDZ se kultury nemnožily téměř vůbec, podobně jako při použití BAP. Právě v případě BAP však sehrála roli i skutečnost, že zejména při koncentracích 1 a 2 mg/L výhony neprosplávaly a postupně odumíraly.

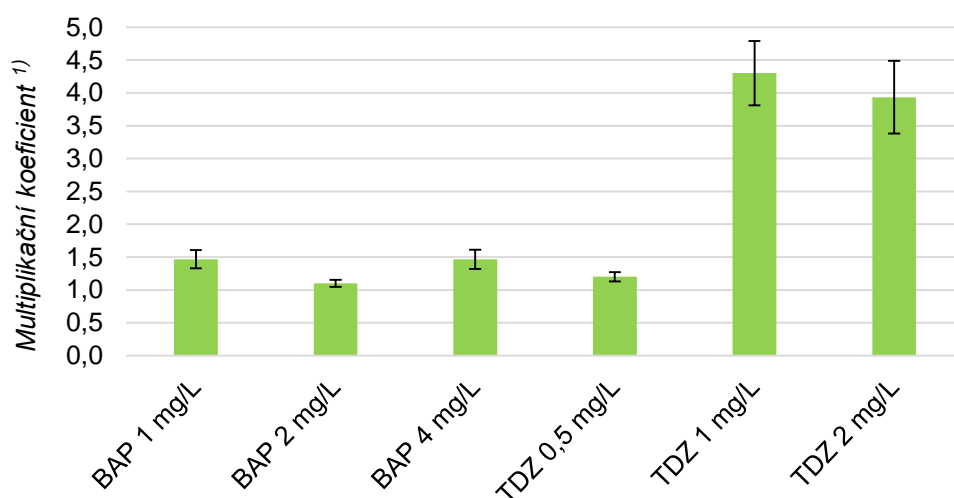
Ve fázi kořenění (Tabulka 1) se jako neúčinnější ukázala NAA. Kultury rostoucí na médiu obohaceném o tento auxin však při bázi nadměrně tvořily kalus. Při použití IBA nebo IAA tento problém nenastával, a s ohledem na dosažené hodnoty tak lze konstatovat, že IBA se při indukci kvalitního zakořenění osvědčila lépe. K další optimalizaci by mohly přispět experimenty s širším spektrem koncentrací.

Množství dostupných informací o pěstování višně písčné je velmi omezené, proto dosažené výsledky nelze porovnat přímo s odpovídajícími literárními zdroji. Ve VŠÚO Holovousy probíhaly pokusy zaměřené na *in vitro* kultivaci slivoně pobřežní (*Prunus maritima*), druhu ze sekce *Prunocerasus*, který se višni písčné částečně blíží svým habitem i charakterem plodů. Navzdory této podobnosti však slivoň pobřežní odlišně reagovala na přídavek BAP. Na médiu s 1 mg/L dosáhl její multiplikační koeficient hodnoty 2,6, a s rostoucí koncentrací BAP se pak snižoval. Na rozdíl od višně písčné nebylo pozorováno odumírání výhonů. Při použití TDZ se nicméně u obou druhů projevil podobný trend, tj. koncentrace 0,5 mg/L ani u slivoně pobřežní téměř žádné množení nevyvolala, zatímco při množství 1 a 2 mg/L byl zaznamenán multiplikační koeficient kolem 2,5.

Při *in vitro* kultivaci višně plstnaté (*Prunus tomentosa*), druhu přímo ze sekce *Microcerasus*, byla rovněž zaznamenána jiná reakce na BAP než u višně písčné. Při koncentraci 2 až 3 mg/L BAP bylo u *Prunus tomentosa* dosaženo multiplikačního koeficientu kolem 3,5 (Pruski *et al.* 2005), což naznačuje, že i fylogeneticky blízké příbuzné druhy mohou při kultivaci *in vitro* vyžadovat rozdílné podmínky.

Graf 1. Multiplikace višně písčné v závislosti na použitém médiu; chybové úsečky znázorňují standardní chybu průměru

Graph 1. Multiplication of the dwarf sand plum depending on the media used; error bars depict the standard error of the mean



1) Multiplication coefficient

Tabulka 1. Kořenění višně písečné v závislosti na použitém médiu; u průměrného počtu kořenů uvedena standardní chyba průměru

Table 1. Rooting of the dwarf sand plum depending on the media used; standard error of the mean calculated for the average number of roots

Médium ¹⁾	Podíl zakořeněných ²⁾	Průměrný počet kořenů ³⁾
50% MS + 5 mg NAA/L	100,0 %	6,7 ± 0,6
50% MS + 5 mg IBA/L	43,3 %	3,1 ± 0,4
50% MS + 5 mg IAA/L	23,3 %	4,0 ± 0,5

1) Media type, 2) Percentage of rooted shoots, 3) Average number of roots

ZÁVĚR

Pokusy s *in vitro* kultivací višně *Prunus pumila* prokázaly možnost jejího rychlého a efektivního množení s využitím fytohormonu TDZ. Přestože jedlé plody tohoto druhu nacházejí v oblastech původního výskytu široké kuchyňské uplatnění, dá se do budoucna v ovocnářství předpokládat spíše využití při šlechtění nebo selekci relativně suchovzdorných podnoží v oblasti komerční produkce peckovin. *In vitro* metody a funkční mikropropagační protokoly mají potenciál tuto podnožovou produkci do budoucna urychlit a ekonomicky zefektivnit.

PODĚKOVÁNÍ

Výsledek byl vytvořen za podpory projektu institucionální podpory RO1522 (MZe). Děkujeme Jiřině Rachotové za péči o explantátové kultury, výpočet multiplikace a stanovení kořenění.

LITERATURA

- BRUNENI, S. *Western sand cherry: Prunus pumila var. besseyi*. Santafebotanicalgarden.org [online]. ©2022 [cit. 2019-05-22]. Dostupné z: <https://santafebotanicalgarden.org/plant-of-the-month-may-2019/>.
- CLARK, S. *Release Brochure for 'Catskill' dwarf sand cherry (Prunus pumila var. depressa (L.))* [online]. USDA-Natural Resources Conservation Service, Big Flats Plant Materials Center, ©2014 [cit. 2019-05-22]. Dostupné z: https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_PLANTMATERIALS/publications/nypmcrb12619.pdf.
- GUDAROWSKA, E. a M. LICZNAR-MAŁAŃCZUK. The quality of root system of dwarf rootstock 'Pumiselect' for peach trees. *Latvian Journal of Agronomy*. 2006, (9): 24–27. ISSN: 1691-3485
- KRŠKA, B., I. OUKROPEC a J. MAŘÁK. The possibilities of propagation of the rootstock of *Prunus pumila* L. 'Pumiselekt' by hardwood cuttings. *Acta Horticulturae*. 2004, (658): 647–649. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.658.98.

- MURASHIGE, T. a F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962, 15(3): 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.
- PRUSKI, K., T. ASTATKIE a J. NOWAK. Tissue culture propagation of Mongolian cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking cherry (*Prunus tomentosa*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2005, 82(2): 207–211. DOI: 10.1007/s11240-004-7836-6.
- RAMMING, D.W. a V. COCIU. Plums (*Prunus*). *Acta Horticulturae*. 1991, (290): 235–290. DOI: 10.17660/ActaHortic.1991.290.6.
- USDA, Agricultural Research Service. *Germplasm Resources Information Network (GRIN Taxonomy)* [online]. National Plant Germplasm System. Beltsville. ©2022 [cit. 2022-08-19]. Dostupné z: <http://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomydetail?id=30083>.

FOTOGRAFIE

Obrázek 1. Višeň písečná v kultuře *in vitro*

Picture 1. The dwarf sand plum *in vitro*



(autor fotografie: M. Semerák)

Obrázek 2. Dopěstování višně písečné po převodu *ex vitro*

Picture 2. Further cultivation of the dwarf sand plum after the *ex vitro* transfer



(autor fotografie: M. Semerák)