

MNOŽENÍ KOMPAKTNĚ ROSTOUCÍ SLIVONĚ 'DWARF' V *IN VITRO* KULTUŘE

PROPAGATION OF THE COMPACTLY GROWING PLUM 'DWARF' IN CONDITIONS OF *IN VITRO* CULTURE

Jiří Sedlák, Matěj Semerák

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

e-mail: jiri.sedlak@vsuo.cz, ORCID ID: 0000-0002-9360-4465

ABSTRAKT

In vitro techniky množení se obzvláště uplatňují u genotypů, u nichž klasické postupy selhávají nebo jsou méně efektivní. K těmto případům se řadí i kompaktně rostoucí slivoň 'Dwarf', která vinou svých zkrácených internodií velmi znesnadňuje množení školkařskými metodami. Pro mikropropagaci této slivoně jsme testovali živná média dle Murashige a Skoog (1962) s přidaným cytokininem 6-benzylaminopurinem, thidiazuronem nebo 2-isopentenyladeninem. Nejvyššího koeficientu množení (2,56) bylo dosaženo při koncentraci 4 mg/L 6-benzylaminopurinu.

Klíčová slova: mikropropagace, *Prunus domestica* L., multiplikace, cytokininy

ABSTRACT

In vitro propagation techniques particularly apply for genotypes, where classic approach fails to succeed or if it is less efficient. One of these cases is compactly growing plum cultivar 'Dwarf', which considerably complicates the nursery propagation due to its shortened internodes. For *in vitro* micropropagation of this plum, we tested the Murashige and Skoog (1962) growth media with cytokinin added: 6-benzylaminopurine, thidiazurone or 2-isopentenyladenine. The highest multiplication coefficient (2.56) was achieved at 4 mg/L of 6-benzylaminopurine.

Keywords: micropropagation, *Prunus domestica* L., multiplication, cytokinins

ÚVOD

Od roku 2015 dochází v České republice k výrazným redukcím ploch produkčních sadů u většiny ovocných plodin. U peckovin je největší pokles trvale zaznamenáván u teplomilných druhů, zejména broskvoní. U slivoní (*Prunus domestica* L.) tento trend zatím zjištěn nebyl, a druh lze považovat za perspektivní i do budoucna. Z hlediska celkových ploch pěstování v intenzivních sadech zaujímají slivoně v České republice v posledních pěti letech stabilně

druhé místo za jabloněmi. V roce 2022 bylo v tuzemsku evidováno 1 919 ha komerčních výsadeb slivoní. Ve stejném roce patřil tomuto druhu s 227 ha dokonce největší rozsah ploch nově zakládaných produkčních výsadeb a výsadeb na začátku plodnosti (Buchtová 2022). Slivoním patří dlouhodobě za jabloněmi i druhé místo v oblasti školkařské výroby u stromových druhů jaderovin a peckovin. V posledním v oblasti množitelské výroby statisticky evidovaném roce 2021 vyprodukoval školkařský sektor ČR 343 841 ks slivoní, a oproti roku 2020 tak došlo k významnému meziročnímu nárůstu produkce o téměř 8 % (Buchtová 2022).

Ve střední Evropě má pěstování slivoní dlouhou a bohatou tradici. Kromě intenzivních komerčních sadů jsou slivoně populární i pro samozásobitelské pěstování v menších výsadbách nebo na zahrádkách. Vedle přímého konzumu se plody využívají i ke zpracování v domácím potravinářském a konzervářském průmyslu a tradičně při výrobě ovocných destilátů.

Druh *P. domestica* je s největší pravděpodobností hybridního původu a planě v přírodě se nevyskytuje. Převažuje názor, že vznikl náhodnou hybridizací mezi trnkou (*Prunus spinosa* L.) a myrobalánem (*Prunus cerasifera* Ehrh.) v oblasti Přední Asie (Mareček *et al.* 2001). Hybridní charakter má za následek značnou botanickou a pomologickou heterogenitu, projevující se ve variabilitě velikosti, tvaru a zbarvení plodů, ale rovněž ve variabilitě intenzity růstu a v různých typech plodonosného obrostu (Kutina *et al.* 1991).

Jedním z aktuálních a moderních trendů v ovocnářství je získání výnosově výkonných genotypů se slabším kompaktním růstem. Při nižší intenzitě růstu dochází v provozních podmínkách k významným úsporám nákladů na řez a ošetřování plodících výsadeb. Jedním z těchto nových genotypů je i odrůda slivoně 'Dwarf', která byla vyšlechtěna ve VŠÚO Holovousy s.r.o. (VŠÚO).

Pomalý růst a zakrslý charakter koruny odrůdy 'Dwarf' má ale za následek problematické a pomalé množení tradičními metodami. Je při nich dosahováno nízké výtěžnosti štěpovaného školkařského materiálu pro zakládání nových výsadeb. Cílem této práce proto bylo zjistit možnosti rychlého množení pomocí moderních laboratorních *in vitro* technik s potenciálem produkce pravokořených sazenic a související úspory nákladů. Pozornost byla v první fázi výzkumu soustředěna zejména na nalezení vhodných typů multiplikačních médií a koncentrace cytokininů pro dosažení co nejvyššího koeficientu množení. Laboratorní *in vitro* technologie lze využít pro množení u řady ovocných plodin ze skupiny peckového ovoce (Erbenová *et al.* 2001, Ďurkovič 2006, Thakur *et al.* 2018, Sedlák a Paprštejn 2019). Z důvodu heterogenity druhově široce zastoupeného rodu slivoň (*Prunus*) je však nutné vyvíjet mikropropagační techniky až na úroveň jednotlivých druhů a genotypů, protože reakce na jednotlivé růstové regulátory se mezi různými odrůdami značně liší.

MATERIÁL A METODY

Multiplikační experiment byl založen z výchozích kultur (Obrázek 1) kultivovaných v rámci *in vitro* genofondu ovocných druhů udržovaných dlouhodobě biotechnologickými postupy ve VŠÚO. V případě odrůdy 'Dwarf' se jedná o genotyp pomologického typu pološvestka, která se od většiny tržně pěstovaných slivoní liší velmi pomalým a kompaktním růstem. Plody má menší až středně velké (27–32 g), vejčitého tvaru (Obrázek 2). Barva slupky je fialovo-modrá, ojíňená (Zelený *et al.* 2019).

Materiál byl kultivován ve 100mL Erlenmeyerových baňkách s 30 mL živného média Murashige a Skoog (1962) (MS). Cukr byl do média dodán ve formě sacharózy v množství 30 g/L, dále médium obsahovalo 4 mg/L kyseliny askorbové. Výsledná hodnota pH byla upravena na 5,7. Byl použit agar Difco Bacto v množství 8,5 g/L. Všechna připravená média byla skladována v temnu, aby nedošlo k degradaci účinných látek (zejména fytohormonů) působením světla. Teplota v kultivační místnosti byla nastavena na 22 ± 2 °C, fotoperioda na 16 hodin.

Před začátkem experimentu činil obsah fytohormonů v udržovacím kultivačním médiu 1,5 mg/L 6-benzylaminopurinu (BAP) a 0,1 mg/L kyseliny indol-3-máselné (IBA). Po dosažení dostatečného množství výhonů bylo založeno 8 kultivačních variant na médiích bez auxinu. První obsahovala 1 mg/L BAP, druhá 2 mg/L BAP, třetí 4 mg/L BAP, čtvrtá 0,5 mg/L thidiazuronu (TDZ), pátá 1 mg/L TDZ, šestá 10 mg/L 2-isopentenyladeninu (2iP), sedmá 20 g/L 2iP a osmá 40 mg/L 2iP. Na každé médium bylo nasazeno 100 až 105 explantátů. Po měsíci růstu v kultivační místnosti byl vyhodnocen průměrný multiplikační koeficient v každé variantě a byla stanovena standardní chyba průměrů SE (Standard Error) jako analýza variance. Výpočet byl proveden podle vzorce:

$$SE = \frac{s}{\sqrt{N}}, \text{ kde}$$

s – směrodatná odchylka neboli průměrná hodnota absolutních odchylek od střední hodnoty (aritmetického průměru), vypočítaná jako:

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}, \text{ přičemž}$$

N – počet sledovaných jedinců.

Všechna získaná data byla statisticky analyzována počítačovým programem Microsoft Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Naše pokusy potvrdily, že lze působením růstových regulátorů v podmínkách *in vitro* vyvolat proliferaci postranních prýtů v explantátové kultuře kompaktně rostoucí slivoně 'Dwarf'. Zjištěné multiplikační koeficienty jsou uvedeny v grafu. Z něj vyplývá, že BAP ve všech zkoumaných koncentracích vyvolal množení výhonů, přičemž nejlepšího výsledku bylo dosaženo při koncentraci 4 mg/L, kdy multiplikační koeficient přesáhl 2,5. Cytokininy TDZ ani 2iP se pro množení této slivoně neosvědčily, koeficienty se pohybovaly pouze mezi 1,0 a 1,3.

Ve VŠÚO byly *in vitro* množeny i další slivoně; cytokinin BAP se obecně ukázal být efektivním regulátorem růstu. U odrůd 'Švestka domácí', 'Hamanova' a 'Chrudimská' se nejvíce osvědčila nejvyšší koncentrace 4 mg/L; průměrné multiplikační koeficienty při tomto množství BAP v médiu se však mezi zmíněnými genotypy značně různily – pohybovaly se mezi 2,5 a 5,9. Ještě výrazněji se reakce těchto tří odrůd vzájemně lišily na médiích s TDZ. Například při koncentraci 0,5 mg/L se 'Švestka domácí' nemnožila vůbec, zatímco u odrůdy 'Hamanova' byl zaznamenán koeficient 4,6 (Sedlák a Paprštejn 2019). Je tedy patrná výrazná meziodrůdová variabilita. 'Gabrovská' a 'Wazonova renklóda' se při kultivaci na médiích s BAP nejrychleji množily při koncentraci 2 mg/L, ovšem multiplikační koeficient u těchto odrůd nedosahoval ani 2,5 (Sedlák a Semerák 2023).

Značné rozdíly mezi různými odrůdami při množení *in vitro* potvrzují i literární prameny ze zahraničí. Např. odrůda 'Stanley' vykazovala po měsíční kultivaci na MS médiu při 1,1 mg/L

BAP multiplikační koeficient kolem 10 (Pietropaolo a Reisch 1984), naopak u slivoně 'Črvena ranka' byl na MS médiu s 1 mg/L BAP, 0,1 mg/L IBA a 0,1 mg/L kyseliny gibberelové pozorován koeficient jen mezi 2,0 a 2,5 (Vujović *et al.* 2020). V našich pokusech dosažený multiplikační koeficient na médiu se 4 mg/L BAP je dostatečně vysoký i pro účely množení *in vitro* v komerčním měřítku. Při využití technik a výsledků popsaných v této práci tak existuje významný potenciál pro zrychlení produkce klonově identického školkařského materiálu této v tuzemsku nově vyšlechtěné kompaktně rostoucí slivoně.

ZÁVĚR

Byly zkoumány optimální podmínky pro mikropropagaci slivoňové odrůdy 'Dwarf', která se školkařskými technikami množí obtížně. Kultivace probíhala na MS médiích s přidavkem vybraných cytokininů. V porovnání s TDZ a 2iP se nejvíce osvědčil BAP, a to zejména v koncentraci 4 mg/L; při tomto složení média bylo dosaženo multiplikačního koeficientu přes 2,5.

In vitro produkce se nabízí jako perspektivní alternativa ke konvenčnímu množení, znesnadněnému slabým růstem studovaného genotypu. Ve VŠÚO jsou v současné době zkoumána vhodná média s převahou auxinů pro indukci kořenění a způsoby aklimatizace do standardních venkovních podmínek pro produkci pravokořených jedinců. Předpokládáme, že dosažené poznatky budou v českém ovocnářském sektoru využitelné i pro urychlení množení dalších slaběji rostoucích genotypů peckovin s kompaktním charakterem plodonosného obrostu.

PODĚKOVÁNÍ

Článek vznikl za podpory projektu DKRVO RO1523. Děkujeme Jiřině Rachotové za práci s explantátovými kulturami.

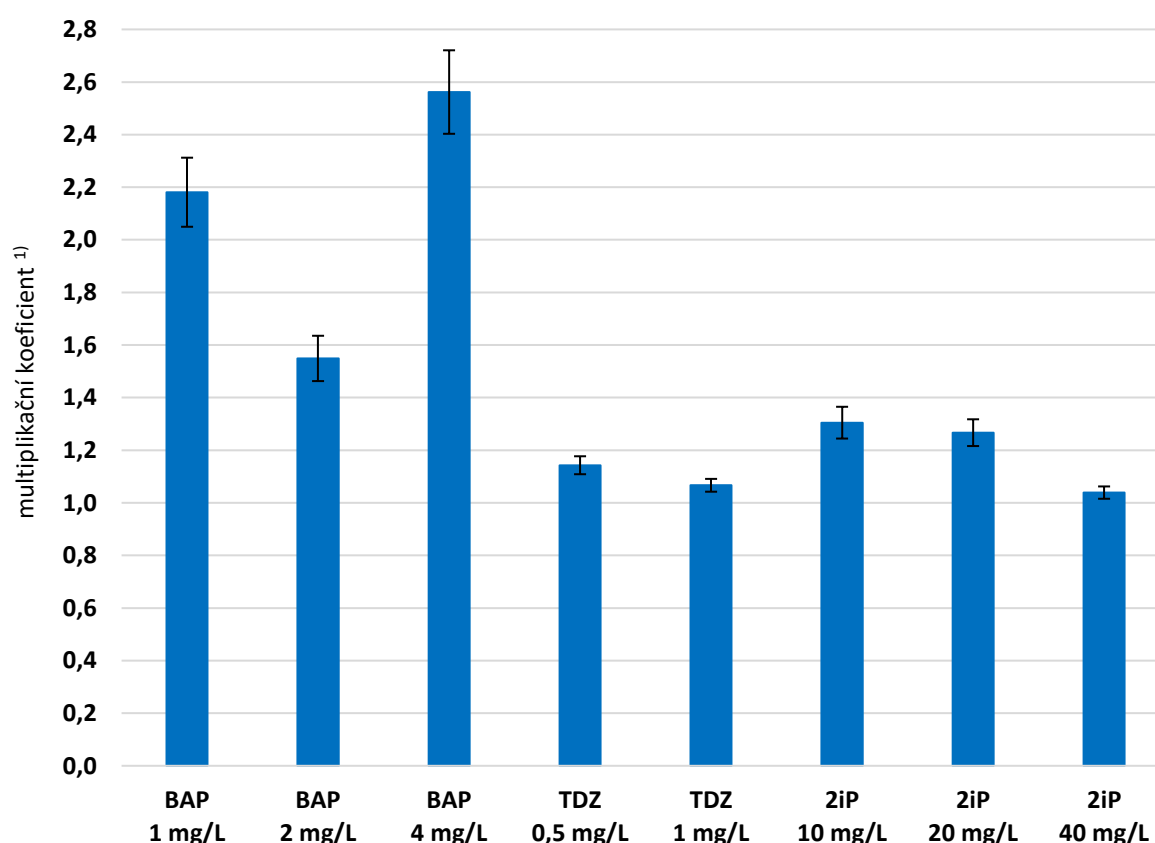
LITERATURA

- BUCHTOVÁ, I. *Situační a výhledová zpráva ovoce*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2022, 93 str. ISBN: 978-80-7434-676-7.
- ĎURKOVIČ, J. Rapid micropropagation of mature wild cherry. *Biologia Plantarum*. 2006, 50(4): 733–736. DOI: 10.1007/s10535-006-0118-x.
- ERBENOVÁ, M., F. PAPRŠTEIN a J. SEDLÁK. In vitro propagation of dwarfed rootstocks for sweet cherry. *Acta Horticulturae*. 2001, 560: 477–480. DOI: 10.17660/ActaHortic.2001.560.95
- KUTINA, J. *et al.* *Pomologický atlas 1*. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1991, 288 s. ISBN: 80-209-0089-6
- MAREČEK, F. *et al.* *Zahradnický slovník naučný 5*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských Informací, 2001, 674 s. ISBN: 80-7271-075-3.
- MURASHIGE, T. a F. SKOOG. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962, 15: 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

- PIETROPAOLO, P.A. a B.I. REISCH. Micropropagation of 'Stanley' plum. *HortScience*. 1984, 19(4): 535–536. DOI: 10.21273/HORTSCI.19.4.535.
- SEDLÁK, J. a F. PAPRŠTEIN. In vitro množení odrůd slivoně švestky. *Zahradnictví*. 2019, (7): 30–31. ISSN: 1213-7596.
- SEDLÁK J. a M. SEMERÁK. Založení in vitro kultury a multiplikace slivoní. *Zahradnictví*. 2023, (3): 18–19. ISSN: 1213-7596.
- THAKUR, M. *et al.* In vitro propagation of plum (*Prunus salicina*) cv. 'Santa Rosa' and assessment of genetic stability using RAPD markers. *Indian Journal of Plant Physiology*. 2018, 23: 161–168. DOI: 10.1007/s40502-018-0354-z.
- VUJOVIĆ, T. *et al.* In vitro propagation and medium-term conservation of autochthonous plum cultivar 'Crvena Ranka'. *Acta Agriculturae Serbica*. 2020, 25(50): 141–147. DOI: 10.5937/AASer2050141V.
- ZELENÝ, L. *et al.* *Šlechtění ovoce v Holovousích*. Holovousy: VŠÚO Holovousy s.r.o., 2019, 118 s. ISBN 978-80-87030-72-1.

GRAFY

Graf. Multiplikace slivoně odrůdy 'Dwarf' na testovaných médiích po 1 měsíci kultivace
Graph. Multiplication of 'Dwarf' plum on tested media after one-month cultivation



1) Multiplication coefficient

FOTOGRAFIE

Obrázek 1. *Kultury in vitro*

Picture 1. *In vitro cultures*



(autor fotografie: Matěj Semerák)

Obrázek 2. *Plody slivoně odrůdy 'Dwarf'*

Picture 2. *Fruits of plum variety 'Dwarf'*



(autor fotografie: Lubor Zelený)