

# AKTINIDIE VÝZNAČNÁ 'ISSAI' *IN VITRO* A MOŽNOSTI JEJÍHO DOPĚSTOVÁNÍ

## HARDY KIWI 'ISSAI' *IN VITRO* AND ITS FURTHER CULTIVATION

Matěj Semerák, Alexandra Slámová

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

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

### ABSTRAKT

Aktinidii význačnou, liánu blízce příbuznou mnohem známější aktinidii lahodné, lze díky její mrazuvzdornosti pěstovat i ve středoevropských podmínkách. Plody, nazývané mini-kiwi, jsou bohatým zdrojem vitamínů a minerálů. Při množení tohoto druhu lze vedle klasických technik dobře uplatnit i metodu mikropropagace. V rámci experimentu jsme založili explantátovou kulturu samosprašné odrůdy 'Issai', vyvolali její multiplikaci a po dosažení dostatečného množství postranních výhonů také kořenění. Zakořenělé explantáty byly převedeny *ex vitro*. Potvrdili jsme vysokou efektivitu *in vitro* přístupu pro množení aktinidie, avšak ve fázi dopěstování v podmínkách skleníku byla masivně napadána škůdci, což vedlo k chřadnutí a potřebě opakovaných postřiků.

**Klíčová slova:** mikropropagace, aktinidie význačná, Issai, *in vitro*

### ABSTRACT

*Actinidia arguta*, a liana closely related to well-known *Actinidia deliciosa*, can be cultivated in Central European conditions thanks to its frost hardiness. The fruit, called kiwi berry, offers a rich source of vitamins and minerals. Micropropagation can be successfully applied in addition to traditional techniques for this species. We established an explant culture of a self-pollinating variety 'Issai', induced its multiplication and subsequent rooting, after obtaining sufficient number of lateral shoots. The rooted explants were transferred *ex vitro*. We confirmed high effectivity of *in vitro* approach for propagation of *Actinidia*, but during further cultivation in greenhouse, it was massively attacked by pests, which led to health deterioration and repeated need of spraying.

**Keywords:** micropropagation, *Actinidia arguta*, Issai, *in vitro*

### ÚVOD

Mezi lidmi vzrůstá poslední dobou poptávka po méně známých druzích ovoce. Některé z nich se v našich podmínkách pěstují jen obtížně, a dostupný sortiment se tak víceméně omezuje na nabídku plodů. Jiné mohou plnit i okrasnou a užitkovou funkci v zahradách. Může jít o

rostliny pozapomenuté, jež se opětovně dostávají do širšího povědomí. Na druhou stranu roste i obliba otužilých genotypů druhů exotických, které u nás bez větších problémů dlouhodobě přežívají. Do této skupiny můžeme zařadit aktinidii význačnou, *Actinidia arguta* (Siebold a Zuccarini), popínavou rostlinu příbuznou kiwi (*Actinidia deliciosa*).

Aktinidii význačně stačí v porovnání se známějším kiwi kratší vegetační doba a v zimním období snese pokles teplot až  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . To umožňuje její pěstování ve střední Evropě. Tato aktinidie, stejně jako ostatní druhy tohoto rodu, roste velmi bujně jako liána. Ve své domovině (v severní Číně, Japonsku, Koreji a na Sibiři) šplhá až do korun stromů. Načervenalé řapíky nesou velké listy vejčitého až srdčitého tvaru. Rostliny bývají dvoudomé. Drobné nažloutlé nebo nazelenalé kvítky se u samčích rostlin sdružují do květenství. Plody, chutné zelené bobule velikosti angreštu, kterým se přezdívá mini-kiwi, se doporučuje sklízet včas, protože po dozrání rychle opadávají. V podmínkách ČR se bobule sklízí koncem října. Dobře se uplatní přímo syrové, na rozdíl od běžného kiwi druhu *Actinidia deliciosa* se konzumují vcelku i s hladkou slupkou. Hodí se rovněž k výrobě šťáv, džemů, sušeného ovoce i vína. Druh se pro domácí potřebu pěstoval od 19. století a již tehdy probíhaly snahy o šlechtění. Významnější komerční výsadby však dosud nevznikly. Pozornost je třeba věnovat značným nárokům na závlahu a bezpodmínečné potřebě kvalitní opory. Z klasických metod množení se pro aktinidii hodí zejména řízkování a hřížení (Dlouhá *et al.* 1995; Janick a Paull 2008, Horák *et al.* 2019).

Aktinidie význačná se může stát hostitelem řady škůdců. Na Novém Zélandu, kde se hojněji pěstuje např. na severním pobřeží severního ostrova, bylo v různých ročních obdobích popsáno napadení housenkami obalečů, třásněnkami, vlnatkami nebo štítenkami (McKenna *et al.* 2009).

Mini-kiwi je zdrojem řady zdravích prospěšných látek. Obsahuje velké množství vitamínu C, draslík, vápník, zinek, lutein, fenoly a mimořádně vysoké množství myo-inositolu. Jsou zmiňovány jeho blahodárné účinky při některých onemocněních gastrointestinálního traktu, uvádí se i protizánětlivé působení (Latocha 2017). Z plodů bylo izolováno množství látek, které se v plodech klasického kiwi druhu *Actinidia deliciosa* nevyskytují (Matich *et al.* 2003).

Mezi odrůdami mini-kiwi vyniká 'Issai', kříženec druhů *Actinidia arguta* a *Actinidia rufa* (Medic *et al.* 2021). Jedná se o odrůdu hexaploidní, což u této aktinidie není příliš obvyklé (Janick a Paull 2008). Z praktického pohledu významnějším je fakt, že na rozdíl od ostatních dokáže 'Issai' tvořit plody i partenokarpicky, takže k zajištění úrody není třeba vysazovat více jedinců. Takto vzniklé plody bývají navíc bezsemenné (Mizugami *et al.* 2007). Naplno se u nich projeví přidaná hodnota konzumace slupky. Ta totiž u této odrůdy vykazuje nejen vysoký obsah kyseliny askorbové, nýbrž také mimořádně vysoké celkové antioxidační vlastnosti (Horák *et al.* 2019).

Druh *Actinidia arguta* lze úspěšně kultivovat *in vitro* (Călugăru-Spătaru *et al.* 2014, Hameg *et al.* 2017, 2018). Mikropropagační techniky představují mocný nástroj k rychlému vegetativnímu množení. Podaří-li se nalézt vhodné podmínky sterilizace, založení kultury, multiplikace, zakořenění a převodu *ex vitro*, skýtá tento přístup jedinečnou možnost, jak v krátkém čase získat velké množství geneticky identických rostlin.

## MATERIÁL A METODY

V březnu roku 2022 byla z listových pupenů rostliny *Actinidia arguta* 'Issai' založena explantátová kultura v *in vitro* podmínkách. Pupeny byly nejprve ponořeny do destilované vody, dále sterilizovány v 0,15% roztoku  $\text{HgCl}_2$  po dobu jedné minuty a poté dvakrát

propláchnuty v destilované vodě. Získaný materiál byl kultivován ve 100mL Erlenmeyerových baňkách s 30 mL živného média (MS) dle Murashige a Skoog (1962). Interval mezi pasážemi činil jeden měsíc. Kultivační médium obsahovalo 6,5 g/L agaru VWR, 30 g/L sacharózy, 4 mg/L kyseliny askorbové, 1,5 mg/L 6-benzylaminopurinu (BAP) a 0,1 mg/L kyseliny indol-3-máselné (IBA). Hodnota pH byla upravena pomocí pH metru na 5,7. Materiál (obrázek č.1) byl uchováván v kultivační místnosti, kde byla nastavena fotoperioda po 12 hodinách. Denní teplota dosahovala v úrovni pěstebních polic cca 26 °C a v noci se snížila na cca 22 °C.

**Obrázek 1.** *Actinidia arguta* 'Issai' po měsíci růstu na multiplikačním médiu

**Figure 1.** *Actinidia arguta* 'Issai' after one-month growth on medium for multiplication



(autor fotografie: Alexandra Slámová)

Po několika kultivačních cyklech byla kultura přepasážována na zakořeňovací média. Tato média obsahovala v základu poloviční množství makro a mikroprvků než v klasickém multiplikačním MS. Oproti tomu množství železa bylo použito dvojnásobné. Byla porovnávána dvě média, lišící se fytohormonálním složením: první obsahovalo 1 mg/L kyseliny 1-naftyloctové (NAA), zatímco do druhého se přidával 1 mg/L IBA. Ostatní komponenty byly přidávány ve stejném množství jako u klasického MS a totéž platilo pro úpravu pH.

Pro zpracování a analýzu statistických dat byl použit program MS Excel, kde byly spočítány popisné statistiky a vytvořen graf se směrodatnými odchylkami.

Jakmile došlo k dostatečnému zakořeňování, byly rostliny převedeny do *ex vitro* podmínek. Pro tyto účely byly použity mini sadbovače naplněné klasickým zahradním substrátem firmy AGRO CS a.s. (Říkov), do kterých byly umístěny zakořeňované rostliny. Pro lepší regulaci vlhkosti a kontrolu ventilace vzduchu bylo použito víko na sadbovači s regulovatelnými ventilačními otvory. Sadbovače byly umístěny do fytotronu POL-EKO (Wodzisław Śląski, Polsko) s vlhkostí nastavenou na 40 % (obrázek č. 2). Ve fytotronu byla nastavena fotoperioda na 16 hodin dne (22 °C) a 8 hodin noci (18 °C). Po aklimatizaci a zesílení rostlin došlo k jejich

přesunutí do skleníku a přesazení do objemnějších květináčů. Kvůli poléhavému vzrůstu byla aktinidiím přidána podpora v podobě bambusových tyček.

**Obrázek 2.** Zakrytý sadbovač ve fytotronu

**Figure 2.** Covered seedbed in the phytotron



(autor fotografie: Matěj Semerák)

Ve skleníku byla pravidelně regulována zvlhka postřikem z hadice, naplavováním pěstebních stolů a posléze po vlně tropických teplot formou mlhoviny. V letních měsících byly rostliny napadeny sviluškami a mšicemi, a proto bylo nutné použít chemické postřiky proti daným škůdcům (střídavě Milbeknock, Omite, Vermitec, Sanmite) a v pravidelných intervalech je nadále aplikovat, aby nedošlo k opětovnému rozmnožení a následnému zamoření rostlin. Dále byl také aplikován fungicid Flint Plus. Rostliny byly také pravidelně přihnojovány přípravky Hycol či Kristalon.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkově bylo nasazeno 17 listových pupenů. Z tohoto množství bylo možné použít 10 pupenů k založení explantátové kultury, u zbylých došlo ke kontaminaci. Z těchto údajů vyplývá, že úspěšnost při založení tkáňové kultury *Actinidia arguta* 'Issai' byla 59 %. Kultivace na multiplikačním médiu probíhala bez problémů a materiál se velmi dobře množil, multiplikační koeficient činil cca 4. Médium, které se v naší laboratoři standardně používá, vyvolalo zcela dostačující tvorbu postranních výhonů, tudíž nebylo nutné jeho složení nijak upravovat. Potvrdila se tak bezproblémová multiplikace tohoto druhu (Călugăru-Spătaru *et al.* 2014, Hameg *et al.* 2017, 2018). Při prodloužení subkultivačního intervalu z obvyklých 4 (obrázek č. 1) na 6 týdnů se dokonce vytvářely kořeny bez kalusu na klasickém multiplikačním médiu.

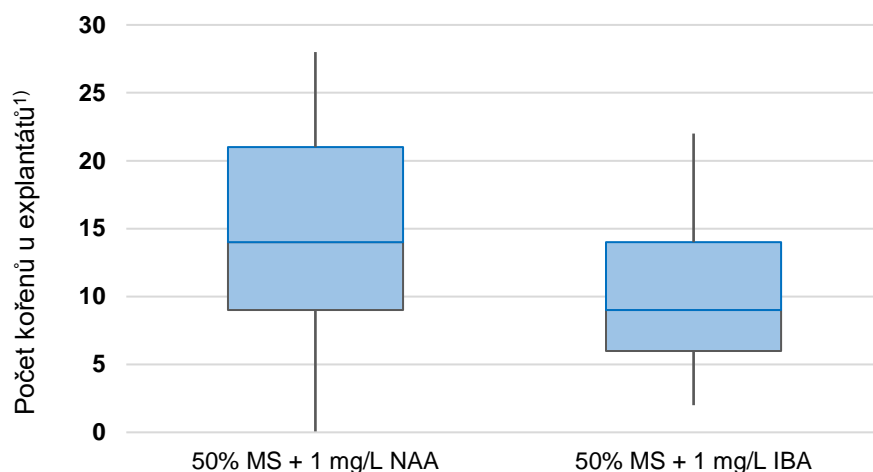
Naopak po převedení materiálu na zakořeňovací média došlo k vytvoření kalusů, ze kterých vyrůstaly kořeny, nezávisle na typu použitého média. Výskyt kalusu není žádoucí (Welander 1983), takže by v úvahu přicházela vhodná úprava poměru fytohormonů. Tyto poznatky

naznačují, že by se do zakořeňovacích médií nemusely přidávat auxiny v množství 1 mg/L, nýbrž by pro tvorbu kořenů stačily i dávky nižší.

U obou typů zakořeňovacích médií se provedlo pozorování 25 rostlin a u každé rostliny se zaznamenal počet kořenů. Použití obou druhů zakořeňovacích médií vedlo k úspěšnému zakořeňování: na médiu s 1 mg/L NAA zakořeňovalo 96 % explantátů s průměrným počtem kořenů 14,2, při použití média obsahujícího 1 mg/L IBA zakořeňoval všechny materiál a průměrné množství kořenů bylo 9,88. Minimální a maximální počet kořenů je uveden v tabulce. Z uvedeného grafu a hodnot v tabulce vyplývá, že střední hodnoty obou souborů nejsou shodné. Směrodatné odchylky obou souborů byly vysoké z důvodu rozptýlených hodnot od průměru, což lze pozorovat v tabulce i grafu. Standardní chyby průměru obou souborů by v případě vyššího počtu pozorování byly nižší, což by zlepšilo vypovídající statistickou hodnotu.

**Graf.** Krabicový graf porovnávající kořeňování na médiích s různými auxiny

**Graph.** Box plot comparing the rooting on media with various auxins



1) Number of roots in explants

**Tabulka.** Statistické vyhodnocení zakořeňování in vitro

**Table.** Statistic evaluation of in vitro rooting

	50% MS + 1 mg/L NAA	50% MS + 1 mg/L IBA
<b>Aritmetický průměr počtu kořenů<sup>1)</sup></b>	14,2	9,88
<b>Směrodatná odchylka<sup>2)</sup></b>	7,22	5,03
<b>Standardní chyba<sup>3)</sup></b>	1,45	1,01
<b>Minimum kořenů<sup>4)</sup></b>	0	2
<b>Maximum kořenů<sup>5)</sup></b>	28	22

1) Arithmetic average – number of roots, 2) Standard deviation, 3) Standard error, 4) A minimum of roots, 5) A maximum of roots

Následný krok převedení rostlin z *in vitro* do *ex vitro* podmínek byl úspěšný a přežilo 80 % rostlin z původního vzorku. Bohužel se v letních měsících při extrémně vysokých teplotách projevilo napadení sviluškami a jejich následné přemnožení. Na rostlinách se začaly objevovat drobné pavučiny, chloróza (tzv. žloutenka) a bělavé skvrny na listech (obrázek č. 3). Rovněž se potvrdil výskyt mšic, projevující se hlavně zkroucením listů a voskovitým povlakem na jejich povrchu. Následně docházelo k zasychání listů, posléze v některých případech i k odumírání celých rostlin (obrázek č. 4).

**Obrázky 3 a 4.** Počáteční stádium napadení škůdci, pokročilé stádium zasychání a odumírání  
**Figures 3 and 4.** Initial stage of pest infestation, advanced stage of drying and dying



(autor fotografií: Boris Krška)

V souladu s McKenna *et al.* (2009) jsme pozorovali, že aktinidii význačnou může vážně ohrozit řada škůdců. Na rostlinách jiných druhů, včetně čerstvě *ex vitro* převedených, které byly pěstovány současně ve stejném skleníku, k takto devastačnímu napadení nedocházelo. Extrémně vysoké teploty, výkyvy teplot, nedostatečná cirkulace a vlhkost vzduchu a nízký predanční tlak mohou být důležitými faktory, které mohou negativně ovlivnit pěstování aktinidií ve skleníkových podmínkách a zapříčinit zavlečení a následné přemnožení nežádoucích organismů. Z těchto důvodů se jeví jako lepší varianta pěstovat aktinidie ve venkovních podmínkách, kde dochází k přirozené cirkulaci vzduchu a zajištění biologické ochrany v podobě predátorů daných škůdců. Mladé rostliny by se měly chránit před přímými slunečními paprsky, které by mohly v letních měsících spálit listy, a proto je vhodné pro ně vytvořit otevřené stínoviště s jednoduchou konstrukcí a zakryté např. plachtou. Starší rostliny je možné již vystavit slunečnímu záření a vytvořit pro ně opěrnou konstrukci, kolem které by se mohly dále popínat.

**ZÁVĚR**

Díky správně zvolenému sterilizačnímu činidlu byla založena životaschopná explantátová kultura. Náš experiment potvrdil poznatky mnohých již zmíněných autorů, že multiplikace této rostliny je bezproblémová, snadno se množí a lze ji tudíž doporučit jako cenný genetický zdroj do *in vitro* banky. Převod aktinidií na obsahově různá zakořeňovací média se obešlo bez komplikací a rostliny zakořenily téměř ve všech případech. Aktinidie se také velmi dobře aklimatizovala v sadbovačích.

Největší problém se vyskytl při převodu do skleníku, kde ji v letních měsících vlivem vysokých teplot a dalších faktorů napadli škůdci. Aktinidie se tak jeví jako velmi citlivé vůči napadení škůdci a mikroklimatickým faktorům v porovnání s ostatními druhy rostlin bezproblémově pěstovaných ve skleníku. Proto doporučujeme její pěstování spíše ve venkovních přirozených podmínkách. Jedná-li se o rostliny namnožené *in vitro*, bude u mladých rostlin nezbytné zastínění a následné postupné odkrytí u starších rostlin. Pro pěstování ve skleníku by bylo nutné přistoupit k zavedení druhově specifických podmínek pro aktinidie.

Jelikož se jedná o popínavou rostlinu, je nutné jí od počátku poskytnout nejprve dočasnou oporu a poté pevnou opěrnou konstrukci. Odrůda 'Issai' je samosprašná a mrazuvzdorná. Plody jsou zdravé i chutné a lze je konzumovat syrové nebo uplatnit při výrobě domácích produktů. Pro tyto vlastnosti by se z ní mohla stát pro zahrádkáře a pěstitele atraktivní a žádaná komodita. Zároveň její značný potenciál spočívá v kultivaci v *in vitro* podmínkách a mikropropagaci.

**PODĚKOVÁNÍ**

Výsledek byl vytvořen za podpory projektu institucionální podpory RO1523 (MZe).

**LITERATURA**

- CĂLUGĂRU-SPĂTARU T., R. IVANOVA a A. DASCALIUC. *In vitro multiplication and cultivation of Actinidia arguta in the Republic of Moldova*. Online. Biologija. 2014, 59: 301–308.  
Dostupné z: <https://doi.org/10.6001/biologija.v59i3.2793>. [citováno 2023-09-17].
- DLOUHÁ, J., M. RICHTER, P. VALÍČEK a P. LIŠKA. *Ovoce*. 1. čes. vyd. Praha: Aventinum, 1997, ©1995. 223 s. Krystal. ISBN 80-7151-768-2.
- HAMEG, R., T. ARTETA, P. GALLEGO a M.E. BARREAL. *Selecting an efficient proliferation medium for Actinidia arguta 'Issai' explants*. Online. Acta Horticulturae. 2018, 1218: 565–572.  
Dostupné z: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1218.77>. [citováno 2023-08-31].
- HAMEG, R., P. GALLEGO a M.E. BARREAL. *In vitro establishment and multiplication of hardy kiwi (Actinidia arguta 'Issai')*. Online. Acta Horticulturae. 2017, 1187: 51–58.  
Dostupné z: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1187.6>. [citováno 2023-09-10].
- HORÁK, M., P. ŠNURKOVIČ, I. ONDRÁŠEK, J. BALÍK a V. SRILAONG. *Comparison of some physico-chemical parameters of kiwiberry (Actinidia arguta) cultivars from a cold climate*. Online. Folia Horticulturae. 2019, 31(2): 375–383. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/fhort-2019-0030>. [citováno 2023-09-01].
- JANICK, J. a R.E. PAULL. *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*. CABI Publishing, 2008.
- LATOCHA, P. *The Nutritional and Health Benefits of Kiwiberry (Actinidia arguta) – a Review*. Online. Plant Foods for Human Nutrition. 2017, 72(4): 325–334. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0637-y>. [citováno 2023-08-17].

- MATICH, A.J., H. YOUNG, J.M. ALLEN, M.Y. WANG, S. FIELDER, M.A. McNEILAGE, a E.A. MacRAE. *Actinidia arguta: Volatile compounds in fruit and flowers*. Online. Phytochemistry. 2003, 63(3): 285–301. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00142-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00142-0). [citováno 2023-09-21].
- McKENNA, C., S. DOBSON a J. PHARE. *Insect Pests of Kiwifruit. The insect pest complex of Actinidia arguta kiwifruit*. Online. New Zealand Plant Protection. 2009, 62: 262–267. Dostupné z: <https://doi.org/10.30843/nzpp.2009.62.4793>. [citováno 2023-08-14].
- MEDIC, A., M. HUDINA a R. VEBERIC. *The effect of cane vigour on the kiwifruit (Actinidia chinensis) and kiwiberry (Actinidia arguta) quality*. Online. Scientific Reports. 2021, 11: 12749. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92161-8>. [citováno 2023-09-05].
- MIZUGAMI, T., J.G. KIM, K. BEPPU, T. FUKUDA a I. KATAOKA. *Observation of parthenocarpy in Actinidia arguta selection „Issai”*. Online. Acta Horticulturae. 2007, 753: 199–204. Dostupné z: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.753.22>. [citováno 2023-08-15].
- MURASHIGE, T. a F. SKOOG. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Online. Physiologia Plantarum. 1962, 15(3): 473–497. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>. [citováno 2023-08-02].
- WELANDER, M. *In vitro rooting of the apple rootstock M-26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets*. Online. Physiologia Plantarum. 1983, 58(3): 231–238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb04174.x>. [citováno 2023-08-23].