

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici

VYUŽITÍ KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ PRO MNOŽENÍ BANÁNOVNÍKU

METODOU *IN VITRO*

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Martina Kudělková

Vypracovala:

Bc. Eliška Kadlecová

Lednice 2016



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Eliška Kadlecová**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Zahradnictví
Konzultant: Dr. Shermarl Wongchaochant, Ph.D.
Název tématu: **Využití kultivačních médií pro množení banánovníku metodou in vitro**
Rozsah práce: 50

Zásady pro vypracování:

1. V první části práce bude vytvořena literární rešerše zaměřená na charakteristiku rodu *Musa* (z hlediska botanického, jeho významu, pěstování, rozšíření, způsoby množení s podrobnějším zacílením na in vitro kultivaci).
2. Experiment bude zaměřen na aplikaci různých druhů živných půd a jejich vliv na in vitro multiplikaci u vybraných odrůd banánovníku. V metodické části bude popsán konkrétní rostlinný materiál a kompletní postup experimentu včetně pracoviště, kde bude realizován.
3. Výsledkem diplomové práce bude souhrn a porovnání metod používaných pro multiplikaci banánovníků z dostupných literárních zdrojů a výsledků z vlastního experimentu.



Seznam odborné literatury:

1. Arinaitwe, G., Rubaihayo, P. R., & Magambo, M. J. S. (2000). Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa spp.*) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 86(1), 13-21.
2. Dahot, M. U. (2007). Micro-propagation efficiency in banana (*Musa sp.*) under different immersion systems. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(5), 726-733.
3. Gübbük, H., & Pekmezci, M. (2004). In vitro propagation of some new banana types (*Musa spp.*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(5), 355-361.
4. Roels, S., Escalona, M., Cejas, I., Noceda, C., Rodríguez, R., Canal, M. J., ... & Debergh, P. (2005). Optimization of plantain (*Musa AAB*) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82(1), 57-66.

Datum zadání diplomové práce: listopad 2014

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2016

L. S.




Bc. Eliška Kadlecová
Autorka práce



Ing. Martina Kudělková
Vedoucí práce



doc. Mgr. Miroslav Baránek, Ph.D.
Vedoucí ústavu



doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci *Využití kultivačních médií pro množení banánovníku metodou in vitro* vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna na v souladu s § 47b zákona. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne: 2. 5. 2016

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Kadlcová', is written on a light blue rectangular background. Below the signature is a horizontal dotted line.

podpis

Obsah

Seznam použitých zkratk.....	7
1. Úvod.....	8
2. Cíl práce	9
3. <i>Musa</i>	10
3.1 Botanické zařazení	10
3.2 Rod <i>Musa</i>	10
3.3 Popis rostliny	11
3.3.1 Corm.....	11
3.3.2 Kořeny.....	11
3.3.3 Pseudokmen	11
3.3.4 Listy	12
3.3.5 Květenství.....	13
3.3.6 Plody	13
3.4 Původ	14
3.5 Ploidie a rozdělení	15
3.5.1 AAA kultivary	16
3.5.2 AB kultivary	16
3.5.3 AAB kultivary	16
3.5.4 ABB kultivary	17
3.5.5 <i>Australimusa</i>	17
3.6 Nejvýznamnější kultivary.....	18
3.6.1 ‘Gros Michel‘	18
3.6.2 ‘Dwarf Cavendish‘	18
3.6.3 Skupina Giant Cavendish	18
3.6.4 Skupina Robusta.....	19
3.6.5 ‘Red‘ a ‘Green Red‘	19
3.7 Význam	19
3.1 Produkce a trh	20
3.1.1 Trh banánů exportovaných z tropických oblastí	20
3.1.2 Trh banánů ze subtropických oblastí	21
3.1.3 Lokální trh	21
3.2 Využití.....	21
3.3 Banán jako potrava.....	22
3.4 Množení	22
3.5 Sterilita a šlechtění	23
3.6 Choroby a škůdci.....	23
3.6.1 Sigatoka.....	23
3.6.2 Panamská nemoc	24
3.6.3 Bakteriální vadnutí	25
3.6.4 Virové choroby.....	26
3.6.5 Škůdci.....	27
4. Banánovník <i>in vitro</i>	28
4.1 Embryokultury	28
4.2 Somatická embryogeneze	29
4.3 Kultury prašníků.....	29
4.4 Uchování kolekcí.....	29
4.5 Mikropropagace	30
4.5.1 Média	31
4.5.2 Založení kultury	31

4.5.3	Multiplikace a zakořenění.....	32
4.5.4	Převedení do nesterilních podmínek.....	32
4.6	Somaklonální variace	33
5.	Materiál a metodika.....	34
5.1	Pracoviště.....	34
5.2	Rostlinný materiál	34
5.2.1	Kluai Namwa.....	34
5.2.2	‘Namwa Tanaosri‘	35
5.2.3	‘Namwa Choke Wichian‘	35
5.2.4	‘Namwa Kab Khao‘	35
5.3	Průběh experimentu.....	36
5.3.1	Příprava médií	36
5.3.2	Založení kultury	36
5.3.3	Typické kultury po 30 dnech	37
5.4	Měření hodnot	38
5.4.1	Tekuté médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 3 mg.l ⁻¹	39
5.4.2	Tekuté médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 5 mg.l ⁻¹	39
5.4.3	Tekuté médium, 'Namwa Kab Khao', BA 3 mg.l ⁻¹	40
5.4.4	Tekuté médium, 'Namwa Kab Khao', BA 5 mg.l ⁻¹	40
5.4.5	Tekuté médium, 'Namwa Tanaosri', BA 3 mg.l ⁻¹	41
5.4.6	Tekuté médium, 'Namwa Tanaosri', BA 5 mg.l ⁻¹	41
5.4.7	Pevné médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 3 mg.l ⁻¹	42
5.4.8	Pevné médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 5 mg.l ⁻¹	42
5.4.9	Pevné médium, 'Namwa Kab Khao', BA 3 mg.l ⁻¹	43
5.4.10	Pevné médium, 'Namwa Kab Khao', BA 5 mg.l ⁻¹	43
5.4.11	Pevné médium, 'Namwa Tanaosri', BA 3 mg.l ⁻¹	44
5.4.12	Pevné médium, 'Namwa Tanaosri', BA 5 mg.l ⁻¹	44
6.	Výsledky	45
6.1	‘Namwa Choke Wichian‘	45
6.2	‘Namwa Kab Khao‘	46
6.3	‘Namwa Tanaosri‘	48
6.4	Statistické závislosti	49
6.5	Porovnání kultivarů a médií	51
6.6	Souhrn výsledků	52
7.	Diskuze	53
8.	Závěr	55
9.	Shrnutí.....	56
10.	Resumé.....	57
	Použité zdroje.....	58

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

- **MS** – médium Murashige a Skoog (1962)
- **IAA** – indolyl-3-octová kyselina
- **IBA** – indolyl-3-máselná kyselina
- **BA** – benzyladenin
- **TIS** – temporary immersion system (systém dočasného zaplavení)

1. ÚVOD

Banány jsou po rýži, pšenici a kukuřici 4. nejvýznamnější zemědělskou plodinou na světě. Světově jde o nejvýznamnější ovocnou komoditu, co se týče objemu obchodu s čerstvými plody. Jedná se o jedinou skupinu ovoce, která je považována za základní potravinu pro miliony lidí. Banány jsou konzumovány čerstvé, vařené, pečené i zkvašené ve formě alkoholických nápojů.

Banánový průmysl vznikl v 19. století a pěstování banánovníků získávalo na oblibě díky jejich univerzálnosti, přizpůsobivosti stanovištním podmínkám, celoroční produkci ovoce a vysokému výnosu (až 60 tun ovoce na hektar za rok). Zároveň při správné péči může banánová plantáž vydržet produktivní až 20 let. Plody jsou přitom celosvětově velmi oblíbené. Díky těmto faktorům se pěstování banánů rozšířilo do více než 150 zemí světa.

Množení rostlin *in vitro* je stále více využíváno nejen ve výzkumu, ale i ke komerčnímu množení rostlin. Explantáty mohou být i velmi malé, někdy pouhých několik buněk. Mikropropagace umožňuje z relativně malého množství materiálu vypěstovat mnoho samostatných jedinců, přičemž nové rostliny (klony) mají stejnou genetickou výbavu a většinou i fenotypový projev jako matečná rostlina.

V *in vitro* kulturách je také možné udržovat ohrožené rostliny a málo pěstované odrůdy, aby byly zachovány jako genové zdroje. U banánovníků jde především o staré kultivary ohrožené nově se šířícími patogeny a škůdci, kvůli kterým se od jejich pěstování ustupuje nebo jsou již zcela nahrazeny, a lokálních odrůd, které vytlačují výnosnější masově pěstované kultivary.

In vitro kultury jsou významné také pro výzkum a šlechtění – umožňují dopěstovat haploidní buňky v celé haploidní rostliny, indukovat fúze protoplastů a vznik hybridů, slouží k získávání geneticky modifikovaných rostlin i k indukci a sledování mutací, které mohou být následně podchyceny pro další zkoumání a případné využití.

2. CÍL PRÁCE

Cílem této práce je charakterizovat rod *Musa* – jeho taxonomické zařazení, morfologii rostliny banánovníku, původ, rozdělení, rozšíření a jeho význam. Součástí rešerše bude také popis tržně nejvýznamnějších kultivarů banánovníku a v současnosti nejzávažnějších chorob a škůdců.

Druhá část práce se bude věnovat možnostem *in vitro* kultivace banánovníku jakožto nejvýznamnějšímu způsobu množení, ale také prostředku uchování existujících kultivarů a šlechtění nových.

V experimentální části bude popsán a zhodnocen pokus s *in vitro* množím tří lokálních thajských odrůd banánovníku. Pro každý kultivar bude vyhodnoceno nejefektivnější médium k multiplikaci, případně navrženy možnosti dalších zlepšení.

3. *MUSA*

3.1 Botanické zařazení

Rod:	<i>Musa</i> (banánovník)
Čeď:	<i>Musaceae</i> (banánovníkovité)
Řád:	<i>Zingiberales</i> (zázvořníkotvaré)
Třída:	<i>Liliopsida</i> (jednoděložné)
Oddělení:	<i>Magnoliophyta</i> (kryťosemenné)
Podříše:	<i>Trachebionta</i> (cévňaté rostliny)
Říše:	<i>Plantae</i> (rostliny) (Kole, 2007)

3.2 Rod *Musa*

Banánovník je zařazen do rodu *Musa* v čeledi *Musaceae*. Čeď *Musaceae* obsahuje dva rody: *Musa* a *Ensete*.

Všechny jedlé banány a plantainy jsou zařazeny v rodu *Musa*. Tento rod obsahuje přibližně 50 druhů rozdělených do pěti skupin: *Australimusa*, *Callimusa*, *Rhodochlamys*, *Eumusa* a *Ingentimusa*. Tyto skupiny se liší počtem chromozomů: *Calimusa* a *Australimusa* mají základní počet chromozomů $x=10$, *Eumusa* a *Rhodochlamys* $x=11$.

Skupina *Ingentimusa* obsahuje pouze jeden druh, *Musa ingens* N.W. Simmonds, s počtem chromozomů $2n=14$. *M. ingens* N.W. Simmonds pochází z horských oblastí Papui Nové Guiney a jedná se o největší známou bylinu.

Sekce *Callimusa* a *Rhodochlamys* neobsahují partenokarpické druhy a nejsou využívány pro jedlé plody, patří sem ovšem některé druhy okrasných banánovníků.

Skupina *Australimusa* se skládá z partenokarpických jedlých typů banánovníků, známých jako Fe'i kultivary. Mají červenou mizu a trsy plodů u těchto banánovníků rostou vzpřímeně. Fe'i banánovníky jsou významné nejen pro produkci jedlých plodů, ale i vlákniny. Z pseudokmene je získáváno hodnotné tmavě červené barvivo.

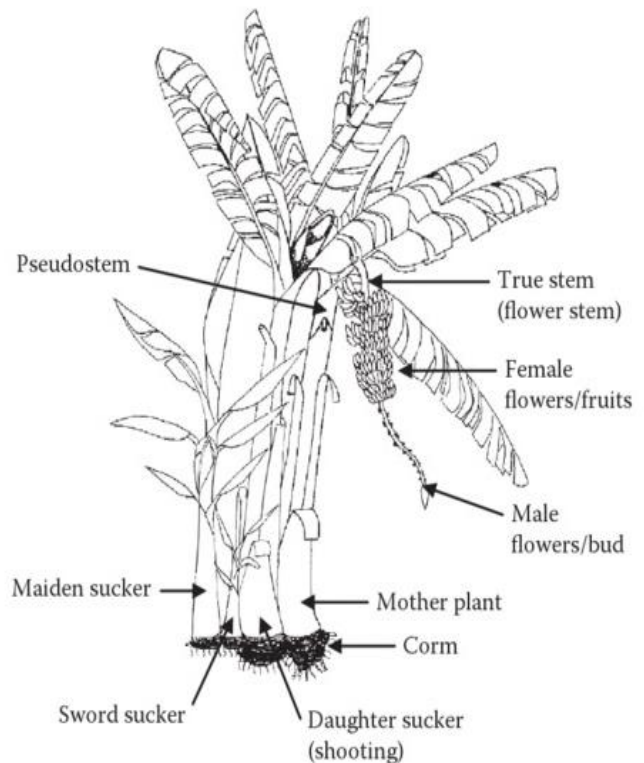
Eumusa je největší a nejdůležitější skupinou banánovníků. Patří sem všechny ostatní jedlé druhy banánovníků. Většina kultivarů je odvozena od dvou druhů: *Musa acuminata* Colla a *Musa balbisiana* Colla (Kole, 2007).

3.3 Popis rostliny

3.3.1 Corm

Pojmem corm nebo také hlava je označován podzemní přeměněný stonek, na kterém se nacházejí pupeny. Z cormu vyrůstají nové výhony, listy, kořeny a květenství. Obsahuje velké množství zásobních živin.

Po odumření nadzemní části rostliny začíná z cormu vyrůstat nová. Vždy z něj vyrůstá jeden hlavní výhon a často také dceřiné rostliny. Corm může sloužit k vegetativnímu množení banánovníku (Pillay, Tenkouano, 2011).



Obrázek 1- popis rostliny banánovníku (Pillay, Tekouano, 2011)

3.3.2 Kořeny

Adventivní kořeny vyrůstají z cormu. Jsou poměrně mělké, takže je rostlina náchylná k vyvrácení silným větrem a může trpět suchem. Kořenový systém rostliny dorůstá obvykle 2-3 m, většina kořenů je však soustředěna do vzdálenosti 60 cm od cormu (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.3.3 Pseudokmen

Pseudokmen neboli zdánlivý kmen je tvořen pevně svinutými pochvami listů. Je oporou rostliny a spojuje kořeny s listy a květenstvím. Výška a zbarvení pseudokmene je značně variabilní a slouží jako jeden z důležitých určovacích znaků skupin a jednotlivých kultivarů: banánovníky skupiny AB, AAB a ABB mají pseudokmeny zbarvené žlutozeleně s minimálním nebo vůbec žádným růžovým pigmentem, zatímco

skupiny AA a AAA mají pseudokmeny mnohobarevné, přičemž některé kultivary se vyznačují výrazným hnědým nebo narůžovělým zbarvením (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.3.4 Listy

List se skládá z mohutné pochvy, která tvoří zdánlivý kmen stromu, řapíku a velké podlouhle oválné čepele. Žilnatina je rovnoběžná, otevřená, hustá, kolmá na podélnou osu listu.

Listy vyrůstají z apikálního meristému cormu a svinuté prorůstají středem pseudokmene vzhůru. Tím jsou ostatní listové pochvy pseudokmene tlačeny od středu a zdánlivý kmen zvětšuje svůj objem. Když list proroste nad úroveň pseudokmene, listová čepel se rozvine a časem se vlastní vahou svěsí do přibližně horizontální polohy.

Barva listů je také jedním z rozlišovacích znaků jednotlivých druhů a kultivarů – mohou být celé zelené, s načervenalou či nafialovělou spodní stranou listu i s voskovitým povrchem (Pillay, Tenkouano, 2011).

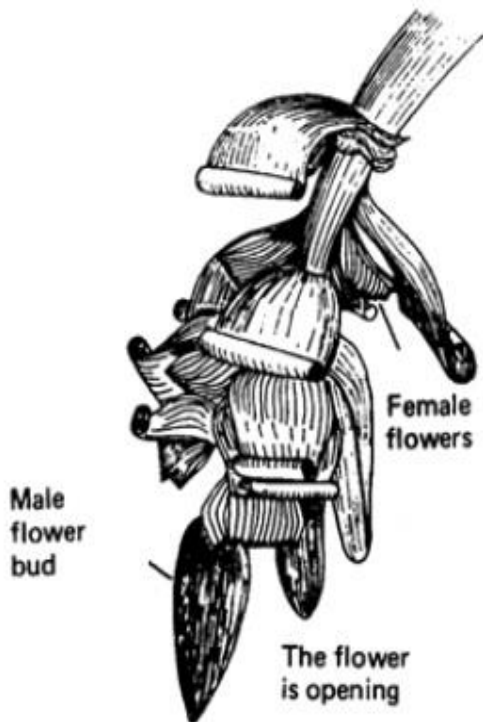
Plocha listové čepele je velká, proto je většinou poškozena větrem – trhá se v pásech až ke střední žilce. Listem prochází velké množství žilek od střední žilky k okrajům, otevřená žilnatina umožňuje roztržení listu podél těchto žilek jako přirozený jev. Mírné potrhání zlepšuje ochlazování listů v horkých podmínkách, suberizace potrhaného pletiva přitom zabraňuje nadměrnému výparu (Taylor, 1969). Fotosyntéza takto potrhaných listů je vyšší díky příznivější teplotě a lepšímu přístupu CO₂ (Taylor, Sexton, 1972). Přílišné potrhání čepele fotosyntézu inhibuje a snižuje výnos – to může být problém při pěstování ve vyšších polohách, kde se objevují prudké bouře a silný vítr (Karamura, Karamura, 1995)

Purseglove (1972) pozoroval, že množství funkčních listů na jedné rostlině je poměrně konstantní (10-15 listů), přičemž každých 7-10 dní přirůstá nový list.

Poslední vyrůstající list je výrazně menší než ostatní a jeho účelem je chránit květenství před přímým slunečním zářením (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.3.5 Květenství

Počátek kvetení je závislý na kultivaru a vnějších podmínkách a je pro něj charakteristické potlačení listové tvorby (Robinson, Galán Saúco, 2010). Růst květenství začíná vyčerpáním listových pupenů na cormu, kterých bývá v dobrých podmínkách



Obrázek 2 - Květ banánovníku (Kole, 2007)

založeno 30-40. Obvykle tvorba květenství začíná po 7-8 měsících (Pillay, Tenkouano, 2011). Posledním aktivovaným pupenem je pupen květní. Ten prorůstá středem pseudokmene podobně jako listy, dokud jej nepřeroste. Rostlina je schopná vykvést pouze jedenkrát, po odpození odumírá a z cormu vyrůstá rostlina nová.

Květenství má červenohnědou nebo hnědozelenou barvu a zpočátku roste vzpřímeně, díky vlastní váze se však záhy svěšuje dolů. Jedná se o klas se silnou stopkou, na kterém jsou květy nahloučeny v liniích a kryté listeny (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Samičí květy na bázi květenství rozkvétají nejdříve. Samčí květy se nacházejí na vrcholu květenství ve výrazném, většinou červeném pupenu. Postupně se otvírají a opadávají, čímž se časem pupen zmenšuje a vytváří se značný odstup od samičí části květenství. U pěstovaných odrůd bývá pyl neklíčivý. V květenství mohou být ve střední části zastoupeny i oboupohlavné květy (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.3.6 Plody

Plody se u pěstovaných odrůd vyvíjí partenokarpicky z neopylených samičích květů. Jednotlivé řady (tzv. ruce) se od sebe díky rychlému růstu stopky postupně vzdalují. V trsu se tvoří podle odrůdy 1-12 rukou (Pillay, Tenkouano, 2011).

Plodem banánovníku je bobule. U šlechtěných odrůd se plody vyvíjejí partenokarpicky, neobsahují tedy semena. Drobné hnědé tečky v dužnině jsou pozůstatky nevyvinutých vajíček. U botanických druhů obsahuje bobule velké množství tvrdých tmavých semen.

Plody jsou protáhlé a zahnuté, velikost a tvar se liší podle druhu a kultivaru, délka kolísá mezi 5 a více než 30 centimetry.

Dužnina je chráněna zeleně, žlutě nebo hnědočerveně zbarvenou epidermis. Pod ní se nachází vrstva parenchymu s latexovými kanálky. Dužnina je bílé až béžové barvy a je tvořena velkými buňkami vyplněnými škrobem, který je v průběhu zrání částečně přeměněn na cukr (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.4 Původ

Banánovník je jednou z nejraněji domestikovaných rostlin. Původně byl pravděpodobně pěstován pro jiné využití než pro jedlé plody, například jako zdroj vláken nebo materiálu pro krytí střech obydlí. Nejstarší důkazy o pěstování banánů pocházejí z období 1700 př. n. l., kde jsou banány spolu s dalším ovocem zmíněny v jednom ze čtyř svazků indické Vědy.

Pokládá se za jisté, že banány i planteiny pocházejí z jihovýchodní Asie a Pacifiku a odtud se rozšířily do ostatních částí světa (Nayar, 2010).

Všechny divoké banánovníky jsou diploidní. Pěstované banánovníky pocházejí především z křížení druhů *M. acuminata* Colla a *M. balbisiana* Colla, občas s menším vlivem *M. textilis* Nee nebo *M. schizocarpa* N.W.Simmonds (Simmonds, 1962).

M. acuminata Colla má své centrum původu v Malajsii. U *M. acuminata ssp. banksii* F.Muell. a *ssp. burmanica* DeLanghe byla pozorována částečná partenokarpie. (Simmonds, 1962) Zatímco od *M. acuminata ssp. banksii* F.Muell. se odvozují kultivary se spíše škrobnatými plody, *M. acuminata ssp. malaccensis* N.W.Simmonds dala vzniknout banánovníkům se sladkou dužninou (Careel *et al.*, 1994). Ke vzniku triploidů dochází zejména u *M. acuminata* Colla, u které byla pozorována produkce neredukovaných diploidních gamet, jak samčích tak samičích (Pillay, Tenkouano, 2011).

Na rozdíl od *M. acuminata* Colla u *M. balbisiana* Colla nebyl výskyt partenokarpie nikdy potvrzen, třebaže z Thajska a Filipín byl několikrát hlášen (Valmayor *et al.*, 2002). Ačkoliv *M. balbisiana* Colla nemá žádné poddruhy, byla u ní pozorována jistá variabilita

– i když se v tropických lesích vyznačuje bujným růstem, adaptovala se i na suché podmínky (Valmayor *et al.*, 2002; Uma *et al.*, 2005).

Interspecifiční kříženci mezi *M. acuminata* Colla a *M. balbisiana* Colla byli objeveni jak v centru původu, tak i v zemích, kam se odtud banánovníky rozšířily. Vznikaly tak nové genetické kombinace: AB, AAB, ABB a ABBB (A - *M. acuminata* Colla, B - *M. balbisiana* Colla), z nichž největší variabilitu vykazují typy AAB a ABB (Pillay, Tenkouano, 2011).

Většina dnes komerčně pěstovaných odrůd jsou triploidní typy (AAA) dezertních banánů odvozené od *M. acuminata* Colla. Patří mezi ně i odrůdy ‘Gros Michel’ a ‘Cavendish’, které jsou na světovém trhu nejběžnější.

3.5 Ploidie a rozdělení

Divoké banánovníky jsou diploidní, zatímco pěstované kultivary jsou převážně triploidní nebo i tetraploidní. Většina kultivarů pochází z *M. acuminata* Colla (genom A) a *M. balbisiana* Colla (genom B). Interspecifickým křížením vznikly kultivary se zastoupením jak A, tak B.

Jsou známy ještě dva další genomy zastoupené u pěstovaných kultivarů: S (*M. schizocarpa* N.W.Simmonds) a T (*Australimusa*), nejsou však příliš časté. Vyskytují se pouze u banánovníků pěstovaných na Papui Nové Guinei a tvoří skupiny AS, AAS, ABBS, AAT, AAAT a ABBT (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Ke zjištění složení genomu je používán systém Simmondse a Shepherdova (1955), kdy je patnácti vybraným morfologickým znakům přiřazena hodnota 1-5. Znaky jsou vybrány tak, aby odlišovaly *M. acuminata* Colla od *M. balbisiana* Colla. Tento systém je komplikován polyploidii a pro určení je tedy nutné znát počty chromozomů zkoumaných kultivarů. Nepočítá se u něj s charakteristikami S a T genomů.

Z moderních metod je ke zjištění genomu používána *in situ* hybridizace, průtoková cytometrie, molekulární markery a zkoumání izozymů a retrotranspozonů (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.5.1 AAA kultivary

Jedná se o nejrozšířenější skupinu polyploidních banánů, velmi důležitou pro světový trh. Dělí se dále na podskupiny Cavendish, Gros Michel, Red, Ibota a další (Pillay, Tenkouano, 2011).

‘Ibota‘ (v Brazílii nazývaný ‘Caipira‘) je kultivar s nakyslou chutí plodů, rezistentní vůči černé i žluté sigatoce a háďátkům (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Kultivary skupiny Lujugira jsou pěstovány na východě Afriky a jsou používány k vaření a k výrobě banánového piva (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.5.2 AB kultivary

Tyto diploidní banány se vyvinuly v jihovýchodní Asii, odkud se rozšířily do východní Afriky. Patří sem indické kultivary ‘Ney Poovan,’ ‘Kamaramasenge’ a ‘Kunnan’ (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.5.3 AAB kultivary

Do této skupiny se řadí planteiny a další podskupiny, jako je Silk, Mysore a Pome. Planteiny se pravděpodobně vyvinuly z křížení *M. acuminata* ssp. *banksii* F.Muell. jako mateřské rostliny s *M. balbisiana* Colla jako rostliny otcovské (Carreel *et al.*, 2002). Pocházejí zřejmě z Nové Guinei, kde je dodnes velká diverzita pěstovaných diploidních odrůd a plantainů. Za druhotné centrum výskytu je považována Indie (Pillay, Tenkouano, 2011).

Skupina Silk je populární zejména v jižní Asii, východní Africe a v zemích střední Ameriky. Na rozdíl od ostatních skupin tato zřejmě pochází z křížení *M. balbisiana* Colla s *M. acuminata* ssp. *malaccensis* N.W.Simmonds (Carreel *et al.*, 2002), která se přirozeně vyskytuje v Malajsii, Indonésii a Thajsku (Pillay, Tenkouano, 2011).

Skupina Mysore se skládá z odolných banánovníků, které se vyskytují téměř po celém světě. Jako rodiče této skupiny jsou uváděny *M. acuminata* ssp. *errans* R.V.Valmayor, *M. balbisiana* Colla a neznámý AB diploid. Pochází pravděpodobně z Filipín nebo Indie. Sem patří zvláštní kultivar ‘Pisang Kelat’, který má genom B mateřského původu a je tedy klasifikován jako BAA. Tento kultivar je významný také

z hlediska náchylnosti k chorobám, protože je imunní vůči většině listových skvrnitostí a fusariovému vadnutí (Pillay, Tenkouano, 2011).

Mezi AAB banánovníky náleží také endemická skupina Maia Maoli/Popoulu. Tyto banánovníky jsou polynéského původu a vyskytují se pouze v Oceánii. Typické jsou pro ni krátké zavalité plody (Ploetz *et al.*, 2007 in Pillay, Tenkouano, 2011).

Skupina Iholena se vyznačuje měděně zbarveným rubem listu a narůžovělou dužninou. Plody jsou zahnuté až do pravého úhlu. Tyto banánovníky jsou tradičně pěstovány v horských oblastech na Havaji. Plody se používají jak ke konzumaci za čerstva, tak k vaření. Kromě Havaje jsou banánovníky z této skupiny zastoupeny na Nové Guinei, Samoi a v Polynésii (Ploetz *et al.*, 2007 in Pillay, Tenkouano, 2011).

3.5.4 ABB kultivary

Mezi ABB banánovníky patří mnoho podskupin, ze známějších například Bluggoe, Pelipita, Pisang Awak (které bývají občas označovány jako BAB) a Bontha. Najdeme zde kultivary jak s dezertními plody, tak s plody určenými k tepelné úpravě. Většinou jsou odolné k suchu (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.5.5 *Australimusa*

Do této sekce se řadí několik kultivarů s jedlými plody, které jsou označovány jako Fe'i banány, šest divokých druhů (*M. lodonensis*, *M. peekelii*, *M. maclayi*, *M. jackeyi*, *M. bukensis* a *M. textilis*) a jeden kulturní druh – *M. fehi* (Daniells *et al.*, 2001).

Všechny banánovníky z této sekce se vyznačují mohutným vzrůstem, červenou mízou a trsy plodů, které se neohýbají k zemi a zůstávají vztyčené (Pillay, Tenkouano, 2011). Vyskytují se pouze na Nové Guinei, ve východní Indonésii, na Šalamounových ostrovech a některých dalších ostrovech Pacifiku (Nayar, 2010). *M. textilis* Nee je endemitem Filipín, vzniklo z ní však několik interspecifických kultivarů s *M. schizocarpa* N.W.Simmonds a *M. balbisiana* Colla, které jsou stále využívány.

Fe'i banány pravděpodobně vznikly mezidruhovým křížením *M. maclayi* N.W.Simmonds s dalším zástupcem sekce *Australimusa* (Carreel, 1994).

3.6 Nejvýznamnější kultivary

3.6.1 ‘Gros Michel‘

Tento kultivar se vyznačuje vysokým vzrůstem a velkými symetrickými trsy plodů atraktivního zbarvení. ‘Gros Michel‘ byl nejvýznamnějším exportním kultivarem banánů do 50. let 20. století. V této době byly plantáže, zejména v Latinské Americe, zdevastovány rychle se šířící Panamskou nemocí (fusariové vadnutí). ‘Gros Michel‘ byl v komerčním pěstování nahrazen odolnějšími kultivary skupiny Cavendish, které stejně jako on patří do skupiny AAA banánovníků odvozených od *Musa acuminata* Colla (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.6.2 ‘Dwarf Cavendish‘

Kultivar ‘Dwarf Cavendish‘ je také označován jako ‘Canary banana‘ nebo ‘Dwarf Chinese‘, v Indii jako ‘Basrai‘ a ‘Enano‘ v Latinské Americe. Je hojně pěstován ve všech oblastech. Charakteristický je pro něj nízký vzrůst, jedná se o nejnižší komerčně pěstovaný kultivar. Býval hlavním pěstovaným kultivarem v subtropických zemích (Austrálie, Kanárské ostrovy, Jižní Afrika a Izrael), kde byl považován za dobře adaptovaný, odolný vůči poškození větrem a zároveň oceňován pro dobrý výnos. Je ale naopak náchylný k poškození nízkými teplotami a proto je postupně nahrazován vyššími kultivary skupiny Cavendish. Na Kanárských ostrovech se ujalo pěstování kultivaru ‘Gruesa’, který vznikl při pokusech se šlechtěním ‘Dwarf Cavendish‘ a vyznačuje se vysokým výnosem (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.6.3 Skupina Giant Cavendish

Kultivary této skupiny se nevyznačují příliš vysokým vzrůstem, jak by napovídala název - jsou takto označovány pro lepší odlišení od ‘Dwarf Cavendish‘.

Do skupiny Giant Cavendish patří kultivar ‘Mons Mari‘ pěstovaný na severovýchodě Austrálie, ‘Williams‘ rozšířený na východě Austrálie, v Jižní Americe a získávající popularitu v tropických oblastech, ‘Grand Nain‘ ve Střední Americe, Izraeli, na Kanárských ostrovech a v Jižní Africe a také ‘Giant Governor‘ pěstovaný na západě Indie.

‘Grand Nain‘ je hlavním exportním kultivarem, může však být pěstován jen na územích bez výskytu Panamské nemoci TR4. Od roku 2005 je ‘Grand Nain‘ na mnoha plantážích v Centrální Americe a Jižní Africe nahrazován kultivarem ‘Williams‘ (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.6.4 Skupina Robusta

Hlavní kultivary této skupiny jsou ‘Tall Mons Mari‘ pěstovaný v Austrálii, ‘Poyo‘ na západě Indie a v Africe a ‘Valery‘ v Latinské Americe. Tyto kultivary jsou obvykle vyšší než odrůdy skupiny Giant Cavendish. ‘Valery‘ byl dříve jedním z hlavních exportních kultivarů, ale je příliš vzrůstný a náchylný k napadení Panamskou nemocí. Proto byl v centrální Americe z větší části nahrazen kultivary ‘Grand Nain‘ a ‘Williams’, které poskytují výhody nižších rostlin, větších trsů a kratšího životního cyklu (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.6.5 ‘Red‘ a ‘Green Red‘

Tyto kultivary nemají velký tržní význam, jsou však důležité díky jejich značnému rozšíření. Jedná se o kultivary pro domácí pěstování s poměrně nízkým výnosem. Slupka plodů kultivaru ‘Red‘ je červená. Mutací ‘Red‘ vznikl kultivar ‘Green Red‘ se zelenou slupkou (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.7 Význam

Jak bylo popsáno v úvodu, banány jsou nejvýznamnější ovocnou komoditou na světě (Pillay, Tenkouano, 2011) a 4. nejdůležitější zemědělskou plodinou po rýži, pšenici a kukuřici (Kole, 2007). Naprostá většina produkce je přitom vypěstována i spotřebována v tropech a subtropích. Roční světová produkce banánů je odhadována na 98 milionů tun, z nichž jen asi 7 milionů tun vstupuje na světový trh. Je tedy zřejmé, že banány mají větší význam pro místní spotřebu než pro export.

V tropických oblastech Afriky banány zastupují 25 % uhlovodíků ve stravě pro více než 70 milionů lidí (Robinson, 1996). Ačkoliv průměrná spotřeba banánů a planteinů je asi 5,2 kg na osobu (Nayar, 2010), například v Ugandě spotřeba dosahuje 239 kg/os/rok (FAOSTAT, 2008 in Pillay, Tenkouano, 2011).

Přestože podíl produkce, který vstupuje na světový trh, je malý, banány jsou velmi důležitou exportní plodinou v Latinské Americe a karibské oblasti, které produkují až 83 % banánů na světovém trhu (FAOSTAT, 2002 in Kole, 2007). Export z těchto oblastí umožnil až rozvoj chlazené přepravy. Většina banánů na trhu jsou triploidy dezertního typu (Kole, 2007).

Celoroční produkce plodů je významná z hlediska potravinového i finančního zabezpečení v tropických oblastech (Jones, 1999).

3.1 Produkce a trh

Přibližně se plocha využívaná k pěstování banánů a planteinů odhaduje na 10,2 milionů hektarů, přičemž více než polovina se nachází v Africe (5,8 mil. ha), poté v Asii a Pacifické oblasti (2,04 mil. ha) a Latinské Americe (1,31 mil. ha). Tyto plochy se nadále pomalu rozrůstají, zejména v Africe, kde dramaticky stoupá i produktivita banánových plantáží. Světová roční produkce banánů v roce 2009 byla 125,04 milionů tun, z čehož 34,3 milionů tun připadá na planteiny (FAOSTAT, 2009 in Pillay, Tenkouano, 2011).

Největšími producenty banánů jsou Indie, Čína, Filipíny, Brazílie a Ekvádor. Nejlepší produktivity dosahuje Costa Rica s produkcí 52,54 t.ha⁻¹. Mezi hlavní exportéry banánů patří Ekvádor, Filipíny, Čína, Costa Rica, Kolumbie, Panama a Honduras (FAOSTAT, 2008 in Pillay, Tenkouano, 2011).

3.1.1 Trh banánů exportovaných z tropických oblastí

Banány vypěstované v tropických oblastech mají dvě hlavní odbytiště: Evropskou Unii a Severní Ameriku. Část produkce je vyvážena i do Japonska a Ruska, malé objemy také do Argentiny, Chile a Uruguaye.

Ceny banánů v zemích EU vykazují v průběhu let postupný nárůst, zvyšuje se také spotřeba na osobu. V USA sice spotřeba a import banánů také nadále stoupá, u ceny banánů na rozdíl od EU však došlo k redukci až na úroveň nejlevnějšího ovoce na trhu (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Japonský trh je až z 90% zásoben produkcí z Filipín. Rusko se stalo jedním z významných importérů banánů a spotřeba zde stále roste. Dovoz banánů předčil

objemem i množstvím importovaných jablek a citrusových plodů (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.1.2 Trh banánů ze subtropických oblastí

Až na výjimky (Kanárské ostrovy, Madeira) většina subtropických zemí banány nevyváží, spíše pokrývá svou produkcí spotřebu vlastních obyvatel. Kanárské ostrovy svou produkcí zásobují pevninské Španělsko (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.1.3 Lokální trh

Většina zemí v tropických oblastech zásobuje především vlastní trh a vyváží jen malou část produkce. Lze to nejlépe pozorovat u planteinů, u nichž je z celkové produkce k exportu určeno pouze 1,62% (Robinson, Galán Saúco, 2010).

3.2 Využití

Banánovníky se pěstují převážně pro čerstvé plody, nicméně i květy a vnitřní část pseudokmene je v některých zemích využívána jako zelenina.

Kromě produkce pro konzum za čerstva jsou banány zpracovávány na džemy, šťávy a sušené banánové chipsy (Thompson, 1995). Sušením a mletím vzniká banánová mouka a banánový prášek, využíván je i banánový škrob (Kole, 2007). Především v Africe z banánů vyrábějí i pivo a destiláty (Olaoye *et al.*, 2006).

Některé odrůdy jsou využívány pro získávání léčivých látek nebo barviv. V Indii a Číně jsou banány využívány v tradiční medicíně pro zachování mládí. Nízký obsah tuků a zároveň vysoká výživová hodnota dělá z banánů vhodnou potravinu pro celiaky, geriatriky a pacienty trpící obezitou (Gasster, 1963).

Banány jsou také doporučovány při vysokém krevním tlaku a při dětských průjmech. Mají schopnost stimulovat tvorbu hemoglobinu a jsou proto vhodné také pro lidi s anémií. Díky vysokému obsahu tryptofanu napomáhají banány udržet vyrovnaný stav mysli. Také uklidňují podrážděný žaludek a mají pozitivní vliv na ledvinové kameny (Pillay, Tenkouano, 2011).

Na jihu Indie a v Africe jsou banánovníkové listy používány jako jednorázové talíře a balicí materiál. Podzemní část rostliny může sloužit jako hodnotné krmivo pro zvířata. Pseudokmen banánovníku je dobrým substrátem pro pěstování hub.

Banánová vlákna jsou zpracovávána na mnoho různých výrobků. Pro využití v textilním průmyslu je pěstován druh *Musa textilis* Nee (Pillay, Tenkouano, 2011).

Semena divokých banánů jsou na ostrovech v Pacifiku používána jako korálky k výrobě náhrdelníků a ozdob. Květy některých druhů a kultivarů banánovníků jsou v některých částech světa považovány za atraktivní pro aranžování a používají se ve floristice (Janick, Paull, 2008).

3.3 Banán jako potravina

Banány jsou významným zdrojem sacharidů a vlákniny (Pillay, Tenkouano, 2011). Skládají se kromě vody z 35 % cukrů, 6-7 % vlákniny a 1-2 % proteinů a tuků. Obsahují také značné množství draslíku, hořčíku, fosforu, vápníku, železa (Robinson, 1996) a vitamínů A₁, B₁, B₂ a C. Planteiny mají větší obsah vitamínu A a C než banány (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.4 Množení

Banány jsou množeny vegetativně – dělením cormu, dceřinými rostlinami nebo pomocí explantátových kultur. Tradiční způsoby jsou poměrně pomalé a málo efektivní. Mikropropagace je v současnosti nejpoužívanějším způsobem množení pro komerční výsadby. Vzhledem k tomu, že pěstování banánů je v mnoha zemích vážně ohrožováno houbovými, bakteriálními a virovými chorobami, získalo *in vitro* množení rychle popularitu. Jeho výhodou je především rychlost a produkce zdravého materiálu.

Množení banánovníků *in vitro* je věnována samostatná kapitola.

3.5 Sterilita a šlechtění

Většina známých kultivarů je charakteristická buď nízkou samčí a samičí plodností nebo úplnou sterilitou (Pillay *et al.*, 2002). Vysoký stupeň sterility je zapříčiněn produkcí gamet s nestejným počtem chromozomů. Zvláště triploidy vykazují velmi nízkou fertilitu pylu (Pillay, Tenkouano, 2011).

Původně byly rostliny vybírány pro svůj vzrůst, produktivitu a odolnost, tedy znaky úzce spojené s vyšší ploidií (Simmonds, 1962). Zatímco u triploidních kultivarů je vysoký výskyt sterility (zvláště samičí), tetraploidy nejsou žádoucí díky brzkému stárnutí rostlin, slabému pseudokmeni, opadávání a krátké skladovatelnosti ovoce (Pillay *et al.*, 2002). Téměř všechny pěstované banánovníky jsou interspecifické nebo intraspecifické triploidy se všemi kombinacemi A a B genomů. Triploidy byly vybírány nejen kvůli růstovým charakteristikám, ale především kvůli bezsemenným plodům (Pillay, Tenkouano, 2011).

Hybridizace diploidních banánovníků, při níž docházelo k rekombinacím a mutacím, vytvořila dostatečnou genetickou diverzitu pro vznik diploidních partenokarpických kultivarů (Simmonds, 1962).

3.6 Choroby a škůdci

Oblast tropů, která je ideální k pěstování banánů, je zároveň oblastí s vysokým tlakem chorob a škůdců. Získání rezistentních kultivarů je momentálně ve šlechtění prioritou. Banánovníky jsou ohrožovány celou řadou houbových, bakteriálních a virových chorob. Z nejvýznamnějších houbových chorob jsou to sigatoka a fusariové vadnutí (Panamská nemoc), z bakteriálních se stává závažnou hrozbou bakterie rodu *Xanthomonas*, která působí škody zejména na východě Afriky (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.6.1 Sigatoka

Existují dva druhy sigatoky - čená sigatoka, způsobovaná houbou *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, a žlutá sigatoka, zapříčiněná *M. musicola* Leach. Tato houbová choroba pochází z Jáv, své jméno však dostala podle údolí Sigatoka na Fiji, kde žlutá sigatoka propukla v epidemii v roce 1903. Zde byla také poprvé zaznamenána černá sigatoka (Rhodes, 1964). Od té doby černá i žlutá sigatoka přerostla v pandemii. Černá sigatoka

se stala nejvýznamnější listovou chorobou banánovníku v Latinské Americe, Asii, Africe a ostrovech Pacifiku (Pillay, Tenkouano, 2011).

Obě sigatoky jsou si navzájem velmi podobné a často je problém je rozeznat. Obě tvoří čárkovité hnědé skvrny nejprve na rubové straně listových čepelí mladých svinutých listů, skvrny se postupně zvětšují, tmavnou, objevují se i na líci listů a nekrotizují (Mourichon *et al.*, 1997). Černá a žlutá sigatoka se rozeznávají podle houbového mycelia a spor. Sigatoka se nejlépe šíří při krátkých intenzivních deštích oddělených slunečným počasím. Askospory se uvolňují 2-4 týdny po objevení prvních skvrn na listech, klíčí ve vlhku do 6 hodin v závislosti na teplotě (Stover, 1962).

Ochrana proti chorobě se skládá z preventivních opatření, pracovních postupů, chemické a biologické ochrany. Jako slibné se jeví šlechtění na rezistenci banánovníků proti sigatoce – většinou se jedná o pokusy s hybridizací rezistentních AA diploidních kultivarů s triploidy za účelem získání tetraploidů, které by kombinovaly dobré agronomické znaky s rezistencí (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.6.2 Panamská nemoc

Fusariové vadnutí, někdy označované jako Panamská nemoc, je jedna z nejzávažnějších chorob banánovníku a zároveň je řazena mezi šest světově nejdůležitějších chorob rostlin vůbec (Pillay, Tenkouano, 2011). Fusariové vadnutí pravděpodobně pochází z jihovýchodní Asie, dnes je však rozšířeno ve všech oblastech pěstování banánovníku kromě několika ostrovů. Tato choroba ve střední Americe znemožnila pěstování do té doby nejdůležitějšího kultivaru ‘Gros Michel‘ (Stover, 1962), který byl nahrazen rezistentním kultivarem ‘Cavendish’. Jeho rezistence však byla zanedlouho v mnoha zemích prolomena (Stover, Malo, 1972) a nyní je Panamská nemoc významnou hrozbou.

Fusariové vadnutí způsobuje houba *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *cubense*, jejíž spory přežívají v půdě i několik desítek let (Ploetz, 2005). Choroba napadá kořeny rostliny a šíří se do cévních svazků a do pseudokmene. Charakteristické vadnutí rostlin způsobené ucpáním svazků lze pozorovat 5-6 týdnů po zasazení. Prvními symptomy je žloutnutí starších listů od okraje, postupně žloutne celý list, hnědne a odumírá. Odumřelé listy neopadávají, ale svěsí se a postupně vytvářejí suknicí kolem pseudokmene. Nově rostoucí listy bývají světlejší, menší a často zvlněné. Rostlina také vytváří velké množství

odnoží předtím, než zcela odumře. Z odumřelé rostliny se rozkladem dostávají spory houby zpět do půdy (Pillay, Tenkouano, 2011).

Fusariové vadnutí napadá také některé další rody – *Paspalum*, *Panicum*, *Ixophorus*, *Commelina* a *Choris*, které však většinou zůstávají bez symptomů jako hostitelé (Sun, 1977). Patogen přežívá déle v lehkých půdách. Šíří se nakaženým rostlinným materiálem, infikovanou půdou, vodou a částečně také větrem (Pillay, Tenkouano, 2011).

K účinné ochraně je třeba použít vždy kombinaci několika strategií. Rostlinná karanténa dohlíží a omezuje pohyb množitelského materiálu a půdy z nakažených oblastí. Poměrně účinným opatřením je vytvoření anaerobních podmínek dočasným zaplavením půdy nebo ošetření půdy vápenatými a fosforečnými solemi. Kromě použití fungicidů je také možná biologická ochrana – použití *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* nebo nepatogenního *Fusaria* (Weller *et al.*, 2002).

V současnosti se jeví jako nejlepší dlouhodobé řešení šlechtění rezistentních kultivarů. Ačkoliv dnes existuje celá řada kultivarů s různými stupni rezistence vůči různým rasám patogena, zatím žádný z nich nemá velký tržní význam (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.6.3 Bakteriální vadnutí

Bakteriální vadnutí je způsobené komplexem různých patogenů, z nichž nejdůležitějším co do současného významu je *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. Až do roku 2000 byl patogen omezen na oblasti svého původu v Etiopii, poté se ale rychle rozšířil po východní Africe a nyní patří k nejvýznamnějším hrozbám v této oblasti (Tushemereirwe *et al.*, 2003).

K infekci bakteriemi může dojít na kterékoliv části rostliny. Dříve se patogen často šířil díky používání nedezinfikovaných nástrojů. Bakterie se šíří také s opylovači a půdou. Může docházet i k přenosu vodou při zaplavení plantáže (Pillay, Tenkouano, 2011).

Z infikované části se infekce nejprve šíří do cormu a odtud se poté patogen dostává do všech ostatních orgánů i dceřiných rostlin. K prvním symptomům patří žloutnutí a ochablost nejstarších listů, které postupně nekrotizují a odumírají. Světlezelené, žluté nebo bílé, postupně nekrotizující skvrny se objevují i na nejmladších listech. Vývoj plodů

je zpomalený, některé plody v trsu mohou dozrávat předčasně nebo praskat. Pokud k primární infekci dojde v květenství, dochází k černání samčího pupenu a může docházet k nekrotám v trsu (Pillay, Tenkouano, 2011).

Bakteriální vadnutí se na velkých pěstebních plochách podařilo brzy dostat pod kontrolu, ačkoliv stále způsobuje citelné ekonomické ztráty (Stover, 1972). Hlavním riziko představuje pro drobné zemědělce, kteří používají staré pěstební postupy.

Ochrana před bakteriálním vadnutím spočívá především v prevenci – kontrole rostlinného materiálu a dezinfekci nástrojů při práci. Ačkoliv zatím nejsou žádné kultivary banánovníků vůči bakteriálnímu vadnutí rezistentní, některé jsou alespoň tolerantní nebo vykazují menší náchylnost k infekci v květenství, např. skupina Cavendish (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.6.4 Virové choroby

Virových chorob banánovníku existuje celá řada. Vzhledem k tomu, že rostliny jsou množeny vegetativně, ať už tradičně nebo tkáňovými kulturami, choroba se šíří namnoženým materiálem. Proto je nutné matečné rostliny testovat na virová onemocnění.

Mezi nejdůležitější virové choroby banánovníku patří BSV (banana streak virus), BBTV (banana bunchy top virus), BBMV (banana bract mosaic virus) a CMV (cucumber mosaic virus). Virová onemocnění výrazně ovlivňují výnos. Při napadení dochází ke změnám zbarvení i charakteru růstu rostlin, deformacím a poruchám zrání.

Jedinou účinnou ochranou proti virovým chorobám je zdravý množitelský materiál. Dopěstovat bezvirózní rostliny je také možné použitím speciálních technik a ozdravování *in vitro* (Pillay, Tenkouano, 2011).

3.6.5 Škůdci

Banánovníky jsou rozšířeny v tropickém i subtropickém pásmu a přitahují tak širokou škálu škůdců. Ti se mohou lišit v závislosti na geografické poloze a kultivaru. K nejdůležitějším škůdcům banánovníku všeobecně patří hlístice a brouk *Cosmopolites sordidus* Germar.

Z hlístic se jedná zejména o druhy *Helicotylenchus multicinctus* Golden, *Meloidogyne* ssp., *Pratylenchus coffeae* Sher and Allen a *Radopholus similis*. Poslední zmíněná je považována celosvětově za nejškodlivější hlístici napadající banánovníky, rozšířená je zejména v tropických nížinách. V zemích, kde jsou banánovníky pěstovány ve vyšších polohách (Kanárské ostrovy, Taiwan), proto nepředstavuje významné riziko (Pillay, Tenkouano, 2011).

Hlístice poškozují kořeny banánovníků, čímž omezují jejich příjem vody a živin. Výsledkem je menší vzrůst rostlin, slabý pseudokmen, špatné vybarvení listů a zpomalený vývoj plodů. Účinnou ochranou je vysazování zdravých rostlin a střídání plodin.

Cosmopolites sordidus Germar je brouk živící se výhradně na rostlinách banánovníku. Je aktivní převážně v noci. Vzhledem k tomu, že brouk létá spíše výjimečně, dochází k jeho šíření zejména spolu s nakaženým rostlinným materiálem. *Cosmopolites sordidus* Germar žije déle než rok a klade přibližně 1 vajíčko za týden. Škody způsobují především larvy, které se krmí na kořenech a pseudokmeni banánovníku. Vývoj brouka závisí zejména na teplotě, v tropických podmínkách trvá 5-7 týdnů. Vajíčka se nevyvíjejí při teplotách nižších než 12 °C, což omezuje rozšíření tohoto škůdce do chladnějších oblastí (Gold *et al.*, 2001).

Cosmopolites sordidus Germar napadá všechny kultivary banánovníků a je celkově považován za nejzávažnějšího hmyzího škůdce těchto rostlin (Jones, 2009 in Pillay, Tenkouano, 2011). Nejnáchylnější k napadení se ukazují být kultivary banánů sloužících k tepelné úpravě a k výrobě piva. Napadení snižuje vitalitu rostlin, dochází při něm k redukci váhy trsů a může vést až k úhynu rostlin. Nejzávažnější následky má napadení u mladých rostlin. Zatím jediným způsobem ochrany proti *Cosmopolites sordidus* Germar je ošetření insekticidy (Pillay, Tenkouano, 2011).

4. BANÁNOVNÍK *IN VITRO*

4.1 Embryokultury

Kultury embryí hrají významnou roli ve šlechtění banánovníků. Pro tento účel jsou odebírána nevyzrálá embrya z vyvíjejících se semen a kultivována v laboratoři. Jsou používány pro dopěstování embryí vzniklých z křížení, která neposkytují dostatečně životaschopná semena (Hu a Wang, 1986 in Pillay, Tenkouano, 2011). Embryokultury mají uplatnění při interspecifických hybridizacích a pro překonání dormance a sterility semen.

In vitro kultivace banánovníkových embryí zahrnuje povrchovou sterilizaci semen, jejich narušení ve sterilních podmínkách pro odebrání embryí a kultivaci takto získaných embryí na živném médiu v přiměřených podmínkách pro indukci klíčení.

Média pro embryokultury obsahují nízkou koncentraci živin. Používána jsou média Knudson (1950) nebo MS o poloviční koncentraci (Afele, De Langhe, 1991 in Pillay, Tenkouano, 2011). Média byla různě modifikována pro zlepšení klíčení, například přidáním BA nebo IAA.

Klíčení také může být podpořeno několikadenním nabobtnáním ve vodě. Tento proces ovšem zvyšuje riziko infekce různými patogeny. Pro snížení tohoto rizika je možné semena sterilizovat ještě před vložením do vody a poté znovu před samotným odběrem embrya.

Embrya jsou kultivována při 25-32 °C (tato teplota simuluje přirozené tropické prostředí) a ve tmě. Po vyklíčení jsou rostliny vystaveny světlu jako klasické *in vitro* kultury.

Embrya klíčí obvykle během 1-2 týdnů, tato doba se však může někdy prodloužit až na 6 týdnů. Po vyklíčení jsou ještě 2 měsíce kultivována, než jsou připravena k hrnkování. Pokud je třeba více rostlin, může být kultura kombinována s mikropropagací (Pillay, Tenkouano, 2011).

4.2 Somatická embryogeneze

Somatická embryogeneze, především za použití suspenzních kultur, je považována za nejslibnější metodu množení do budoucna. Její předností je zejména možnost získání velkého množství rostlin. Úspěšnost regenerace se pohybuje okolo 81,5 % (Daniels *et al.*, 2002). Tento proces byl zkoumán pro svůj potenciál v masové produkci (Pillay, Tenkouano, 2011).

4.3 Kultury prašníků

Prašníkové kultury jsou často používány pro produkci F1 hybridních kultivarů. Prvním krokem pro pěstování těchto odrůd je získání inbreedních rodičovských linií.

Dosáhnout čisté linie opakovaným samosprášením může být u banánovníku velmi dlouhý proces. Pěstováním rostlin z pylových zrn lze získat haploidní rostliny, u kterých je možné pomocí chemikálií zdvojnásobit počet chromozomů. Získáme tak rostliny se dvěma identickými sadami chromozomů. Tento postup je obzvláště výhodný pro získání recesivních homozygotů (Pillay, Tenkouano, 2011).

Assani *et al.* (2003) zkoumal prašníkové kultury u *M. balbisiana* Colla (BB). V 77 % případů kultivované prašníky vytvořily kalus, v 8 % došlo k vytvoření androgenních embryí. Ze 147 získaných rostlin bylo 41 haploidních ($n = x = 11$).

4.4 Uchování kolekcí

Vzhledem k tomu, že většina kultivarů banánovníků je bezsemenná, jsou tkáňové kultury velmi užitečné pro uchování genetických zdrojů. Polní kolekce jsou náročné na pracovní sílu a prostor, a proto jsou drahé. Při venkovním pěstování jsou také rostliny ohrožovány chorobami a škůdci a mohou být zničeny.

Oproti polním kolekcím je úchova kultivarů *in vitro* levnější a bezpečnější alternativou. Navíc *in vitro* kultury mohou být předmětem mezinárodní výměny – snadno se převážejí a karanténní opatření nejsou v tomto případě tak přísná, protože kultury jsou sterilní. Nevýhodou je častý výskyt somaklonálních variací (Pillay, Tenkouano, 2011).

Za jediný účinný způsob dlouhodobého uchování vzorků je považována kryoprezervace (Pillay, Tenkouano, 2011). U banánovníků je pomalé snižování teploty a

vitifikace neúčinné, metoda enkapsulace dosáhla pouze 8,1% úspěšnosti (Panis *et al.*, 2007). Jako poměrně efektivní se ukázala být kryoprezervace meristémů, které jsou nejprve kultivovány na médiu s vysokým obsahem sacharózy a poté rychle zmrazeny. Tato metoda byla testována na sedmi různých kultivarech banánovníku a dosáhla 12-72% míry životaschopnosti kultur v závislosti na kultivaru.

4.5 Mikropropagace

Přibližně od roku 1985 bylo *in vitro* množení banánovníku používáno komerčně ve většině zemí jako alternativa ke konvenčním metodám (Robinson, Galán Saúco, 2010). Je široce využíváno jako rychlý a efektivní způsob množení. U banánovníků umožnilo rychlé zavedení nových kultivarů a zároveň získání zdravého materiálu (Lamhanedi *et al.*, 2003 in Pillay, Tenkouano, 2011). *In vitro* kultivace protoplastů, prašníků, vajíček a embryí je používána pro vytvoření nových genetických kombinací, často pomocí produkce haploidů. Kultivace jednotlivých buněk a meristémů poskytuje možnost eliminovat veškeré patogeny včetně virů z rostlinného materiálu a dopěstovat zdravé sazenice, což významně zvyšuje výnos (Pillay, Tenkouano, 2011).

Množení *in vitro* má mnoho výhod. Především jde o možnost doručit velké množství materiálu rychle, bezpečně a hygienicky do všech částí světa (Robinson, Galán Saúco, 2010). Při mikropropagaci lze za 8 týdnů získat kolem 125-144 nových rostlin, na rozdíl od konvenčního množení, kdy to bývá 10 sazenic za rok.

Rostliny vzniklé mikropropagací mají vysokou ujímatelnost dosahující až 100 %, nutné je pouze nahradit rostliny odchylující se díky somaklonální variabilitě. Na rozdíl od konvenčního materiálu rostliny z *in vitro* podmínek začínají růst okamžitě po vysazení, je možné je vysazovat kdykoliv během roku a vykazují vysokou míru uniformity, což umožňuje načasování operací (zejména sklizně, která díky uniformnímu vývoji zabírá jen krátké časové období). Další výhodou je větší výnos a vitalita rostlin. Při pěstování rostlin získaných mikropropagací byl pozorován bujnější růst a těžší trsy plodů oproti rostlinám z konvenčního množení. Množené rostliny jsou také prosté škůdců, bakteriálních a houbových chorob, což zvyšuje výnos a snižuje náklady na ochranu (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Nevýhodou rostlin získaných mikropropagací je bezesporu vyšší cena. Drobní zemědělci si často nemohou tyto sazenice dovolit a uchylují se ke konvenčním způsobům

množení (Pillay, Tenkouano, 2011). Nutná je také zvýšená péče po výsadbě, jelikož mladé rostliny jsou vysoce citlivé na stres a nemají žádné energetické rezervy. Teprve po 5 měsících mohou být ošetřovány stejně jako rostliny z konvenčního množení. Problémem je také vysoký výskyt somaklonálních variací. Ačkoliv mikropropagace eliminuje všechny živočišné škůdce a bakteriální a houbové patogeny, virová onemocnění se šíří s množným materiálem i do původně nezasažených oblastí. Za účelem omezení této hrozby jsou mateřské rostliny přechovávány v podmínkách bránících napadení viry a jsou pravidelně testovány na virová onemocnění. Rostliny z *in vitro* množení jsou také méně stabilní – díky rychlému růstu je báze stonku často vytlačena nad povrch půdy a rostlinám hrozí vyvrácení větrem (Robinson, Galán Saúco, 2010).

4.5.1 Média

Nejpoužívanějším médiem pro banánovníky je Murashige a Skoog (1962) s 2-3 % sacharózy, ačkoliv Folliot a Marchal (1992 in Litz, 2005) navrhli zvýšit obsah cukru na 7-8 % pro optimalizaci růstu. Využít se dají i další typy cukrů (glukóza, fruktóza, dextróza nebo manitol).

Jednotlivé kultivary mohou mít rozdílné požadavky na obsah živin. Zvlášť významnou roli pro růst rostlin banánovníku *in vitro* hraje draslík a fosfor.

Z růstových regulátorů je často používán cytokinin benzyladenin (BA) ke stimulaci proliferace. Koncentrace se pohybuje od 2,3 do 5,6 mg.l⁻¹ [10-25 μM]. Obvykle je BA jediným růstovým regulátorem. Kořeny rostliny ochotně tvoří i na médiu bez hormonů, tento proces však může být podpořen přidáním kyseliny indolylmásečné (IBA) (Litz, 2005).

4.5.2 Založení kultury

Pro založení kultury jsou odebírány růstové vrcholy z výhonů bujně rostoucích rostlin (Robinson, Galán Saúco, 2010). Po vyjmutí ze země musí být výhony s částí cormu důkladně opláchnuty a seříznuty na přiměřenou velikost. Poté je třeba provést povrchovou dezinfekci materiálu. Jako účinná se ukázala být všechna dezinfekční činidla, vnitřní pletiva nebývají (pokud nedojde k systémové infekci) osídlena mikroorganismy (Bajaj, 1997).

S dezinfikovaným materiálem je dále pracováno už ve sterilních podmínkách laminárního boxu. Výhony jsou seříznuty na kostičky o straně 5 mm (Robinson, Galán Saúco, 2010) tak, by byla zachována část cormu a báze listů. Přebytečný corm a čepele jsou odříznuty. Explantáty jsou poté přeneseny na kultivační médium. Kultivace probíhá při teplotě 28 °C a 16hodinovém světelném cyklu. Kultivace trvá 4-6 týdnů (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Alternativně mohou být pro založení kultury odebírány růstové vrcholy i z květenství nebo mohou být použity jednotlivé části cormu (Pillay, Tenkouano, 2011).

4.5.3 Multiplikace a zakořenění

Z jednoho explantátu je možné získat až 2000 rostlin za rok. Laboratoře však často produkují pouze 1000 nebo i méně rostlin z jednoho explantátu. Při příliš častém přemnožování totiž dochází ke zvýšenému výskytu somaklonálních variací (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Při multiplikaci je doba kultivace 4-6 týdnů, výhony jsou umístěny na médium obohacené o cytokinininy. Zakořeňování probíhá na médiu s auxiny a sníženým obsahem cytokininů, trvá 6-8 týdnů. Pro převedení do nesterilních podmínek by rostliny měly být alespoň 5 cm vysoké, se čtyřmi až pěti listy a dobře vyvinutým kořenovým systémem (Robinson, Galán Saúco, 2010).

Množství nových výhonů vzniklých při multiplikaci se velmi různí, závisí na koncentraci BA v médiu a především na konkrétním kultivaru. Proliferace může být zlepšena poškozením nebo odstraněním meristému, výhony poté prorůstají z nově vzniklých pupenů. Arinaitwe (1999 in Robinson, Galán Saúco, 2010) také zjistil, že množství výhonů je větší na médiu, které kromě cytokininů obsahuje také malé množství auxinu (IBA).

4.5.4 Převedení do nesterilních podmínek

Před výsadbou musí rostliny přivyknout *ex vitro* podmínkám. Po vyjmutí z kultivačního média jsou zasazeny do sadbovačů s vysterilizovaným pěstebním substrátem a umístěny do plastových tunelů. Důležité je v této fázi udržování optimální

teploty (25-32 °C), snížená světelná intenzita a vysoká vzdušná vlhkost (nad 90 %). V prvních 7-10 dnech je prospěšné mlžení, může být aplikována také listová výživa.

Po 5-6 týdnech jsou rostliny přesazeny do polyetylenových sáčků o objemu 1-5 l s pěstebním substrátem a umístěny do školky pro otužení. Je nutné školku zpočátku stínit a odstraňovat netypické rostliny. Při optimálních podmínkách jsou sazenice po 6-8 týdnech 30-40 cm vysoké a připravené k výsadbě (Robinson, Galán Saúco, 2010).

4.6 Somaklonální variace

Stejně jako u jiných druhů i u banánovníku vznikají při *in vitro* množení genetické odchylky. Variace se projevují na fenotypu nejčastěji změnami ve velikosti rostliny, v morfologii květenství a listovými abnormalitami. Většinou jde o změny nežádoucí.

Somaklonální variabilita je nejzávažnějším handicapem *in vitro* množení banánovníku. Zřídka se však může vyskytnout i variace s agronomickým významem, například zakrslý typ kultivaru ‘Cavendish‘ (Bajaj, 1997).

5. MATERIÁL A METODIKA

Cílem experimentu bylo zjistit, jak rozdílná koncentrace cytokininů a pevnost média ovlivňují multiplikaci tří vybraných kultivarů banánovníku. Podle množství, délky a šířky nových výhonů bylo vybráno nejefektivnější médium pro každý kultivar. Výsledky jsou zpracovány do tabulek a grafů s komentáři.

5.1 Pracoviště

Pokus byl proveden pod vedením Dr. Shermarl Wongchaochant Ph.D. v laboratoři s názvem Breeding and Bio-Technology Laboratory 1 na Kasetsart University v Thajsku. Tato laboratoř slouží především k pokusům Department of Horticulture.

V laboratoři se nachází místnost pro přípravu médií, místnost s laminárními boxy a kultivační místnost.

5.2 Rostlinný materiál

Pro pokus byly vybrány tři thajské odrůdy banánovníku, které náleží do skupiny Kluai Namwa. Ačkoliv nejsou vhodné k exportu, jejich význam pro samotné Thajsko a další země jihovýchodní Asie je značný.

5.2.1 Kluai Namwa

Skupina Kluai Namwa je známá také pod názvem Pisang Awak. Patří mezi ABB banánovníky a vyznačuje se menší velikostí plodů. Banánovníky této skupiny bývají odolné vůči suchu a některým chorobám. Naopak jsou náchylné k infekci fusariovým vadnutím. Tato skupina banánů je v Thajsku velmi populární, nejčastěji jsou pěstovány kultivary 'Kluai Hom', 'Kluai Khai', 'Kluai Namwa' a 'Kluai Hakmuk' (Molina *et al.*, 2003).

5.2.2 ‘Namwa Tanaosri‘

Tento kultivar pochází ze západního Thajska, z pralesů v pohoří Tenasserim, které je v thajštině nazýváno Tanaosri. ‘Namwa Tanaosri‘ je úzce příbuzný s ‘Namwa Pakchong 50‘. Rostliny dorůstají 3,5-4,5 metrů výšky. Plody jsou nejprve zelené, v průběhu zrání zcela zežloutnou. Dužnina je nažloutlá, sladká, někdy může obsahovat semena (Wongchaochant, e-mailová korespondence, 9. 3. 2016).

5.2.3 ‘Namwa Choke Wichian‘

Tento kultivar vznikl výběrem při šlechtění a zatím nebyl definitivně zařazen do ABB skupiny. Vyznačuje se vysokým výnosem, dobrým tvarem plodů a kompaktním růstem. Vyžaduje vyšší množství světla (Wongchaochant, e-mailová korespondence, 9. 3. 2016).

5.2.4 ‘Namwa Kab Khao‘

Kultivar ‘Namwa Kab Khao‘ je často pěstován ve středním Thajsku. Rostlina dorůstá 3 m výšky a má vysoký výnos. Plody jsou malé (kolem 15 cm), velmi sladké, dobrého tvaru se žlutou slupkou. Tyto banány jsou vhodné jak k přímému konzumu, tak k tepelné úpravě (Wongchaochant, e-mailová korespondence, 9. 3. 2016).

5.3 Průběh experimentu

Bylo zkoušeno tekuté a pevné multiplikační médium s 3 a 5 mg.l⁻¹ BA. Pro každý kultivar byla tedy připravena 4 různá média – pevné se 3 a 5 mg.l⁻¹ BA a tekuté se 3 a 5 mg.l⁻¹ BA. Do každé lahvičky s médiem byl umístěn jeden explantát. Po 30 dnech kultivace byly nově narostlé rostliny vyjmuty, aby bylo možné spočítat množství výhonů a změřit jejich délku a šířku. Poté byly tyto rostliny použity pro založení druhé série pokusu, která by potvrdila výsledky prvního experimentu.

Vzhledem k tomu, že pro založení pokusu bylo třeba 40 ks explantátů od každého kultivaru, bylo někdy nutné použít i netypické, deformované rostliny, a pravděpodobně došlo i k založení několika kultur obsahujících část kalusu. Z tabulek jednotlivých měření (viz přílohy) je patrné, že první série pokusu poskytla méně vyrovnané výsledky, některé rostliny se vyznačují neúměrně vysokým počtem výhonů. Pro založení druhé série pokusu už bylo možné vybírat typické rostliny a výsledky jsou proto vyrovnanější.

5.3.1 Příprava médií

Jako médium bylo použito klasické MS médium bez modifikací, s 30 g.l⁻¹ sacharózy a BA (3 a 5 mg.l⁻¹), pH bylo upraveno na 5,7. Pro pevné médium bylo přidáno 2,5 g.l⁻¹ Kelcogelu ke ztužení. Připravená média byla rozpipetována po 15 ml do čistých skleněných lahviček o objemu 120 ml, uzavřena plastovým šroubovacím uzávěrem a sterilizována v laboratorním tlakovém hrnci.

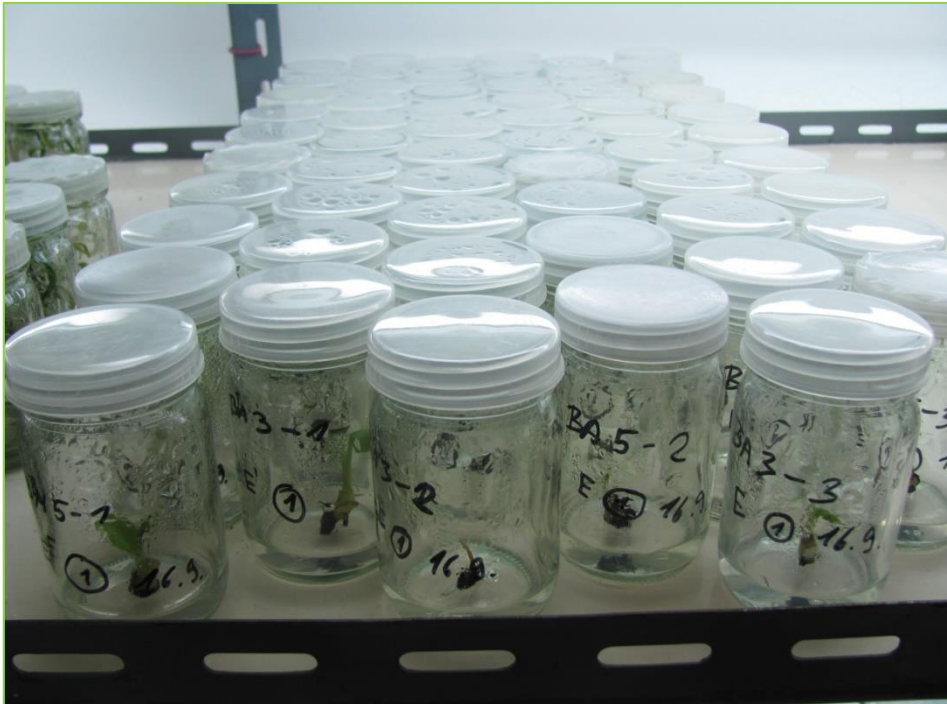
5.3.2 Založení kultury

Pro multiplikaci byl použit rostlinný materiál z už založených kultur pěstovaných na pevném médiu. Lahvičky s médiem a kulturami byly očištěny lihovým roztokem a přeneseny do laminárního boxu, kde probíhalo pasážování na nové, multiplikační médium.

Kultury byly rozděleny na jednotlivé rostliny, každé byly odřezány listy a část báze na výslednou velikost explantátu přibližně 0,5-1 cm. Tyto explantáty byly přeneseny na médium, po jednom do každé lahvičky. Pro každé médium a kultivar bylo založeno 10 lahviček, dohromady 120 lahviček na celý pokus. Po uzavření víčkem a označení byly lahvičky umístěny v kultivační místnosti, kde byly kultivovány při 25 °C a 16hodinovém

světelném cyklu. Kultury na tekutých médiích byly umístěny ve stejných podmínkách na třepačku při 50 rpm.

Po 30 dnech byly nové rostliny vyjmuty pro získání potřebných dat a použity pro založení nové kultury stejným způsobem.

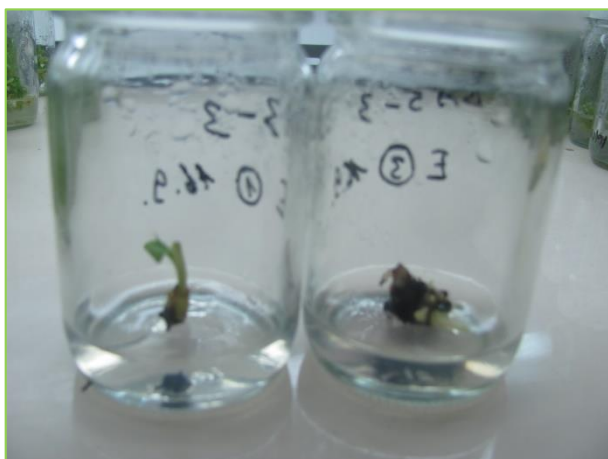


Obrázek 3 - Lahvičky s kulturami na pevném médiu v kultivační místnosti

5.3.3 Typické kultury po 30 dnech



Obrázek 4 - Kultivar 'Namwa Choke Wichean' na pevném médiu (BA 5 mg.l⁻¹, uprostřed BA 3 mg.l⁻¹)



Obrázek 5 - 'Namwa Tanaosri' na pevném MS médiu, BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 6 – 'Namwa Choke Wichian' na tekutém médiu (vlevo BA 3 mg.l⁻¹, vpravo BA 5 mg.l⁻¹)



Obrázek 7 – 'Namwa Kab Khao' na pevném médiu (vlevo BA 3 mg.l⁻¹, vpravo BA 5 mg.l⁻¹)

5.4 Měření hodnot

Výsledky byly získávány z 1. a 2. série pokusů po 30 dnech kultivace. Po vyjmutí rostlin z lahvíček byl zaznamenán počet výhonů v každé lahvíčce a na sterilním milimetrovém papíře byly výhony změřeny na délku a šířku. Kompletní tabulky naměřených hodnot jsou vloženy v příloze. Rostliny z prvního pokusu byly poté použity pro založení druhého experimentu. Po jeho skončení byly kultury opět přepasážovány na médium bez cytokininů k dalšímu uchování.

Pro několik takto získaných vzorků bylo vyřízeno povolení k vývozu a fyto-sanitární certifikát, aby mohly být převezeny a dále kultivovány v ČR.

Následující obrázky dokumentují typický vzhled rostlin jednotlivých kultivarů získaných 30denní kultivací explantátů na zkoušených médiích.

5.4.1 Tekuté médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 8 - 'Namwa Choke Wichean',
tekuté MS + BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 9 - 'Namwa Choke Wichean',
tekuté MS + BA 3 mg.l⁻¹

5.4.2 Tekuté médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 10 - 'Namwa Choke Wichean',
tekuté MS + BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 11 - 'Namwa Choke Wichean',
tekuté MS + BA 5 mg.l⁻¹

5.4.3 Tekuté médium, 'Namwa Kab Khao', BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 12 - 'Namwa Kab Khao',
tekuté MS+ BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 13 - 'Namwa Kab Khao',
tekuté MS+ BA 3 mg.l⁻¹

5.4.4 Tekuté médium, 'Namwa Kab Khao', BA 5 mg.l⁻¹

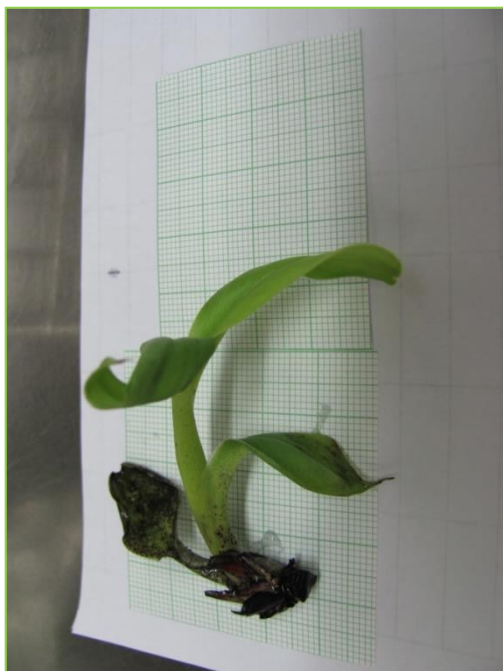


Obrázek 14 - 'Namwa Kab Khao',
tekuté MS+ BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 15 - 'Namwa Kab Khao',
tekuté MS + BA 5 mg.l⁻¹

5.4.5 Tekuté médium, 'Namwa Tanaosri', BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 16 - 'Namwa Tanaosri',
tekuté MS + BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 17 - 'Namwa Tanaosri',
tekuté MS + BA 3 mg.l⁻¹

5.4.6 Tekuté médium, 'Namwa Tanaosri', BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 18 - 'Namwa Tanaosri',
tekuté MS + BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 19 - 'Namwa Tanaosri',
tekuté MS + BA 5 mg.l⁻¹

5.4.7 Pevné médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 3 mg.l⁻¹



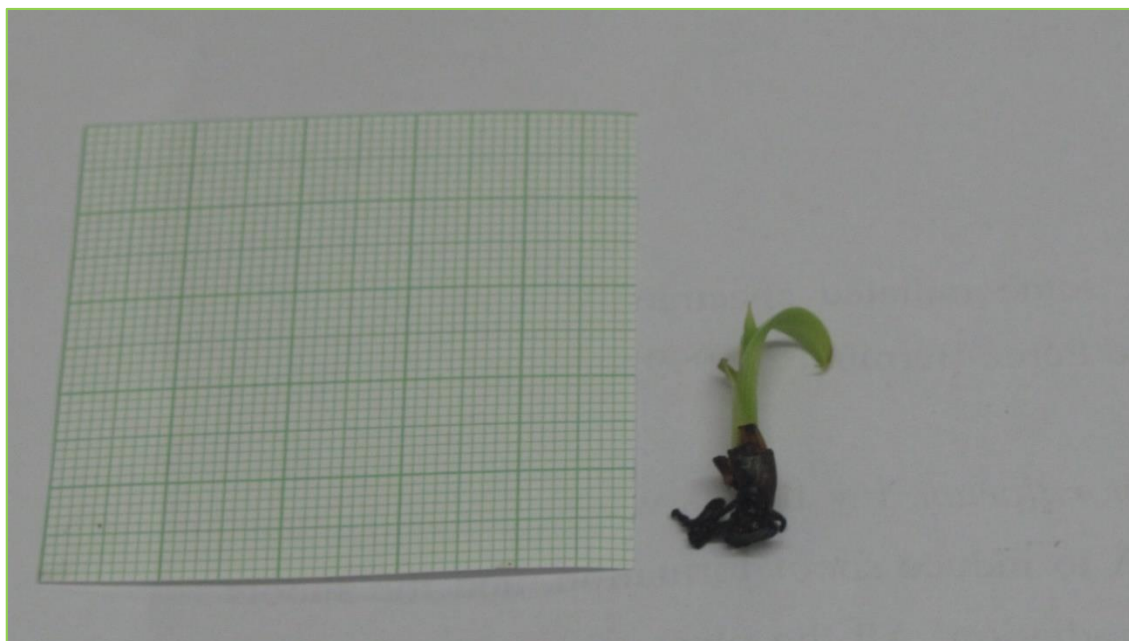
Obrázek 20 - 'Namwa Choke Wichean', pevné MS médium + BA 3 mg.l⁻¹

5.4.8 Pevné médium, 'Namwa Choke Wichean', BA 5 mg.l⁻¹



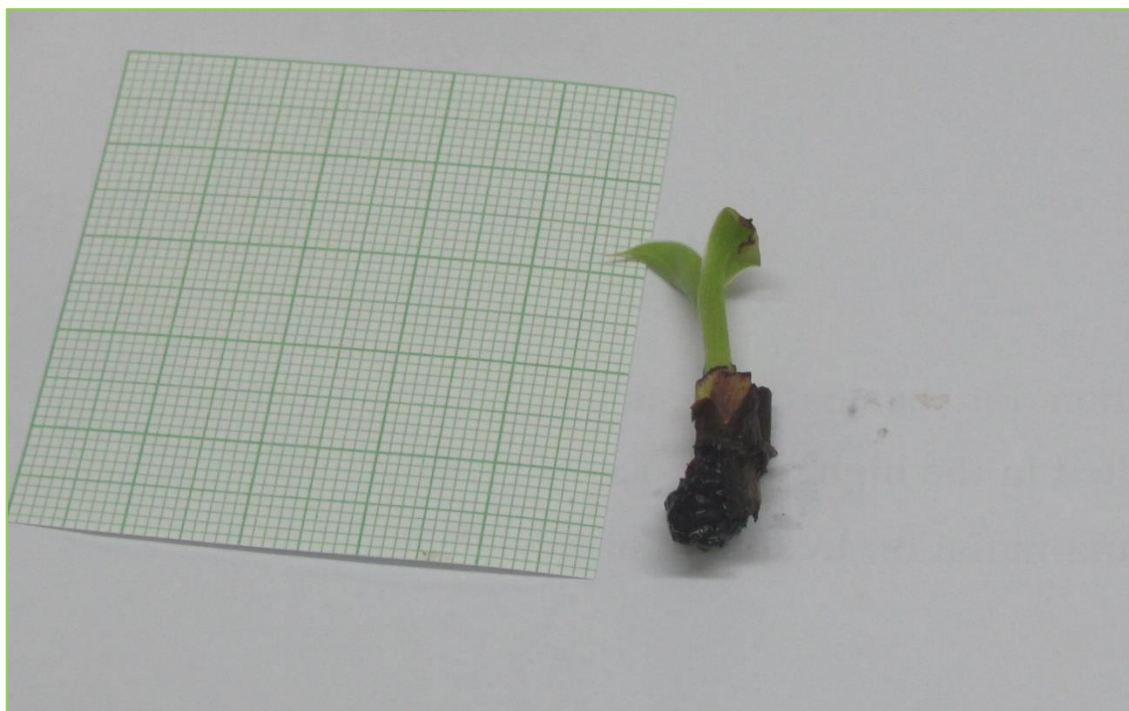
Obrázek 21 - 'Namwa Choke Wichean', pevné MS médium + BA 5 mg.l⁻¹

5.4.9 Pevné médium, 'Namwa Kab Khao', BA 3 mg.l⁻¹



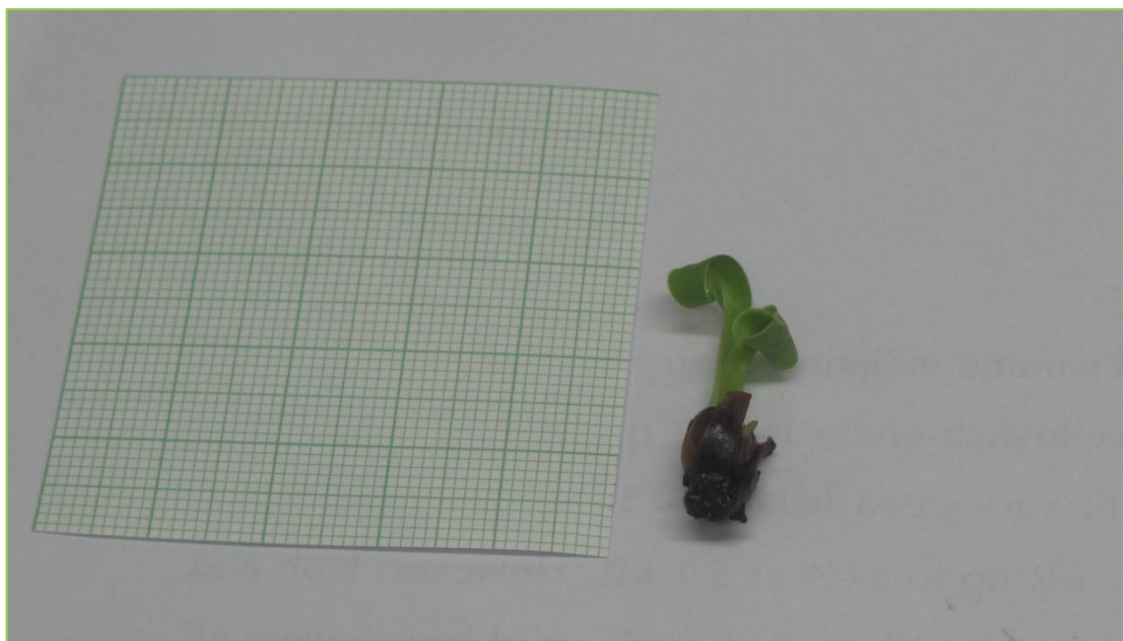
Obrázek 22 - 'Namwa Kab Khao', pevné MS médium + BA 3 mg.l⁻¹

5.4.10 Pevné médium, 'Namwa Kab Khao', BA 5 mg.l⁻¹



Obrázek 23 - 'Namwa Kab Khao', pevné MS médium + BA 5 mg.l⁻¹

5.4.11 Pevné médium, 'Namwa Tanaosri', BA 3 mg.l⁻¹



Obrázek 24 - 'Namwa Tanaosri', pevné MS médium + BA 3 mg.l⁻¹

5.4.12 Pevné médium, 'Namwa Tanaosri', BA 5 mg.l⁻¹



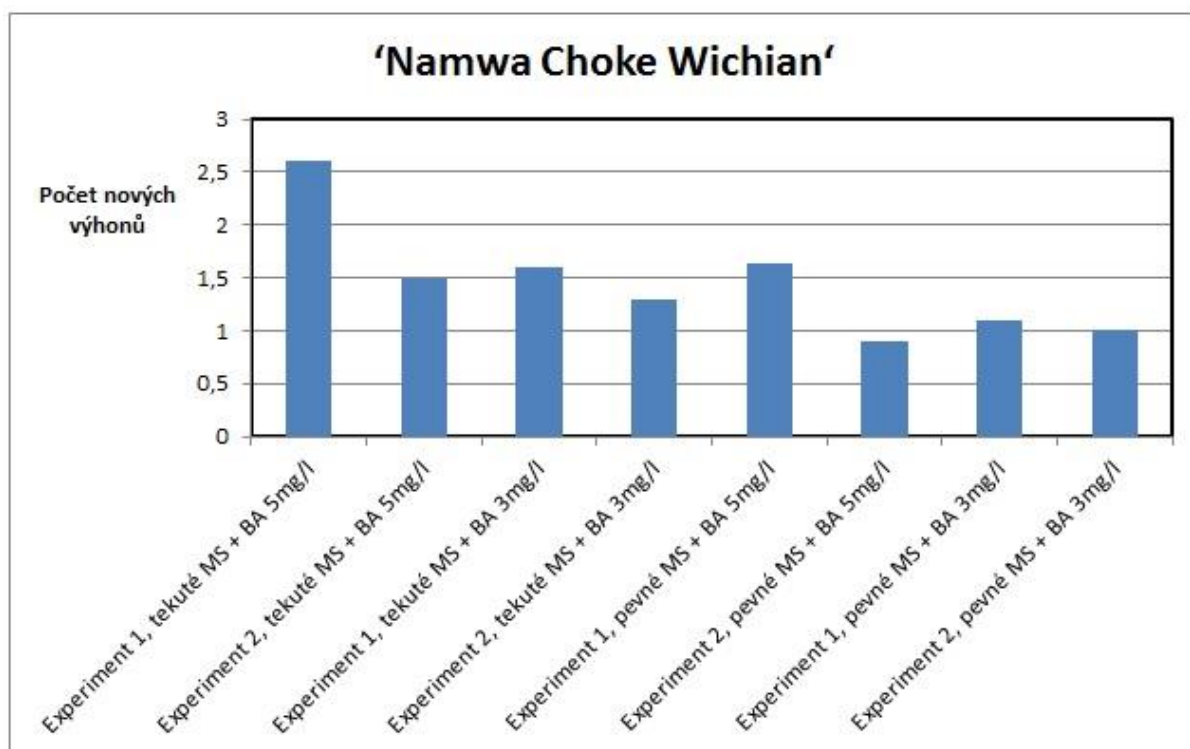
Obrázek 25 - 'Namwa Tanaosri', pevné MS médium + BA 5 mg.l⁻¹

6. VÝSLEDKY

6.1 'Namwa Choke Wichian'

Tabulka 1 - Souhrn výsledků multiplikace pro 'Namwa Choke Wichian' na různých médiích

'Namwa Choke Wichian'					
Experiment	Médium	BA (mg.l ⁻¹)	Průměrný počet nových výhonů na explantát	průměrná délka výhonů (cm)	průměrná šířka výhonů (cm)
1.	tekuté	5	2,6	4,82	0,5
2.	tekuté	5	1,5	5,13	0,9
1.	tekuté	3	1,6	7,59	0,6
2.	tekuté	3	1,3	6,45	0,71
1.	pevné	5	1,64	3,36	0,38
2.	pevné	5	0,9	3,81	0,49
1.	pevné	3	1,1	3,52	0,35
2.	pevné	3	1	5,51	0,4



Graf 1 – Počet výhonů u 'Namwa Choke Wichian' na různých multiplikačních médiích

Kultivar ‘Namwa Choke Wichian‘ neměl vysoký množitel'ský koeficient, docházelo spíš k bujnému růstu do délky a šířky. Ze všech tří testovaných kultivarů dosahoval jak na tekutém, tak na pevném médiu největších přírůstků.

Ačkoliv tekuté médium vykazovalo lepší výsledky, odlišnost od pevných médií nebyla příliš velká. Nejlépe se osvědčilo tekuté MS médium s koncentrací BA 5 mg.l⁻¹. Výsledky na tomto médiu jsou velmi podobné s ‘Namwa Tanaosri’.

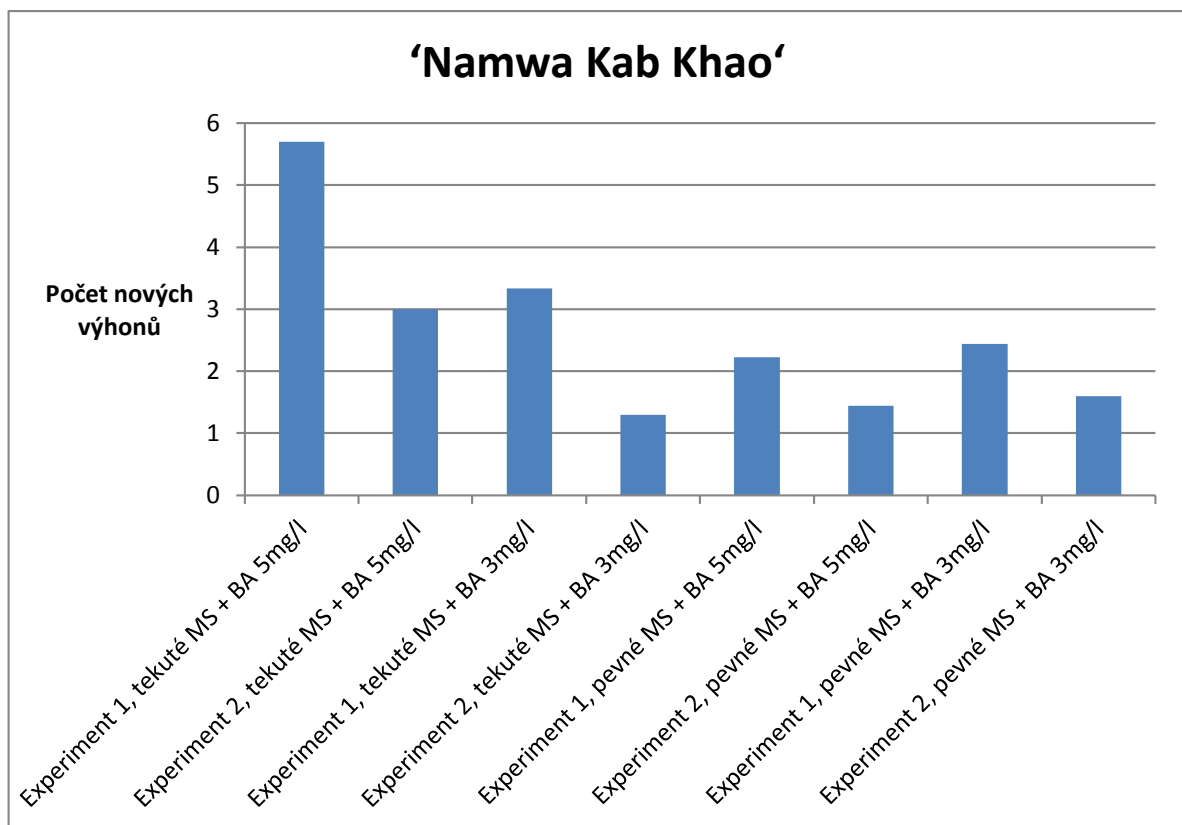
Atypický je výsledek prvního pokusu s pevným médiem (BA 5 mg.l⁻¹), kdy bylo průměrné množství výhonů na pevném médiu mírně vyšší než na tekutém médiu s koncentrací BA 3 mg.l⁻¹. Druhý pokus, který lze díky vyrovnanějšímu počátečnímu materiálu považovat za směrodatnější, však toto médium ukazuje jako nejméně vhodné.

Ačkoliv množství nových výhonů na tekutých médiích nebylo o mnoho vyšší než na médiích pevných, velký rozdíl lze pozorovat v délce a tloušťce výhonů. Na tekutých médiích byla u všech pokusů naměřena větší délka a šířka výhonů než na pevných. Největších délkových přírůstků přitom dosahovalo tekuté médium s 3 mg.l⁻¹ BA.

6.2 ‘Namwa Kab Khao‘

Tabulka 2 - Souhrn výsledků multiplikace pro 'Namwa Kab Khao' na různých médiích

‘Namwa Kab Khao‘					
Experiment	Médium	BA (mg.l ⁻¹)	Průměrný počet nových výhonů na explantát	průměrná délka výhonů (cm)	průměrná šířka výhonů (cm)
1.	tekuté	5	5,7	1,45	0,27
2.	tekuté	5	3	3,43	0,57
1.	tekuté	3	3,33	2,87	0,43
2.	tekuté	3	1,3	5,52	1,04
1.	pevné	5	2,22	1,25	0,34
2.	pevné	5	1,44	1,84	0,31
1.	pevné	3	2,44	1,75	0,32
2.	pevné	3	1,6	2,55	0,38



Graf 2 – Počet výhonů u 'Namwa Kab Khao' na různých multiplikačních médiích

Kultivar ‘Namwa Kab Khao‘ dosahoval ze zkoušených kultivarů nejlepších množitelských koeficientů. Překonán byl jen na pevném médiu s BA 5 mg.l⁻¹ kultivarem ‘Namwa Tanaosri’.

Největší množství nových výhonů bylo u ‘Namwa Kab Khao‘ zjištěno na tekutých médiích, zejména na médiu s BA 5 mg.l⁻¹. Výhony byly na tekutých médiích také vesměs mohutnější než na pevných médiích.

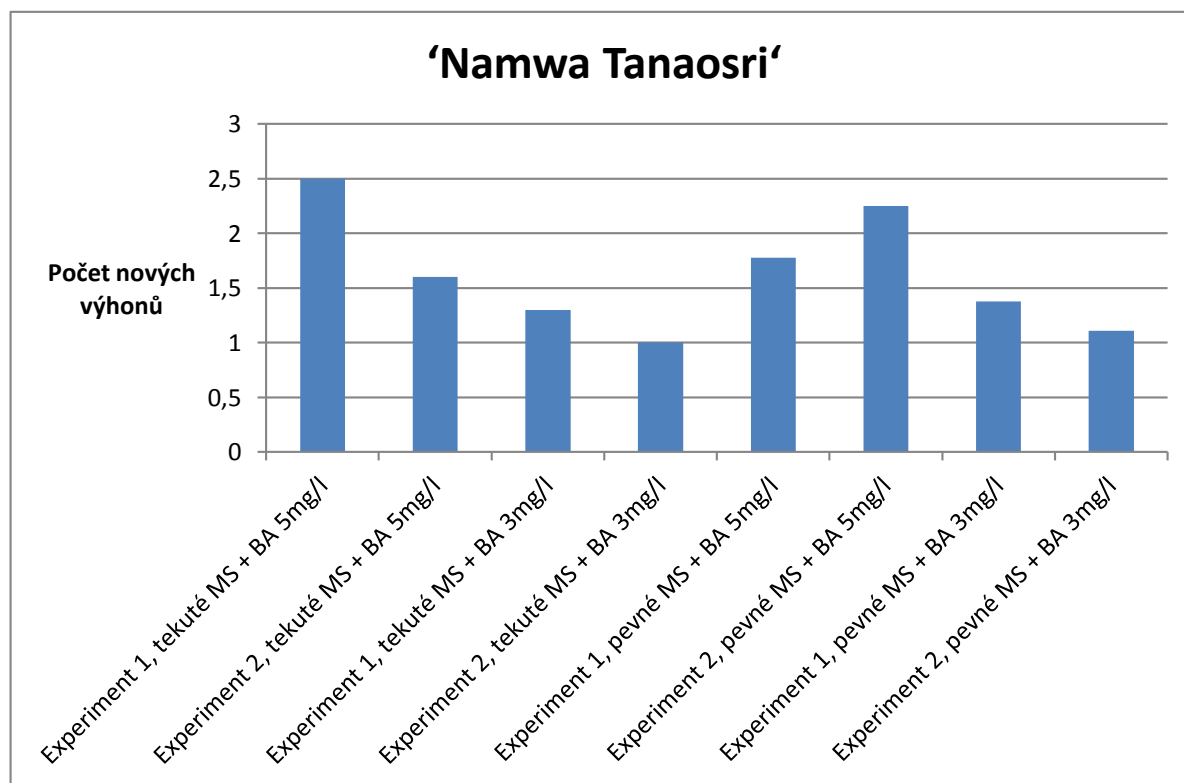
Při porovnání s dalšími dvěma kultivary tvoří sice ‘Namwa Kab Khao‘ nejochotněji nové výhony, ty jsou však kratší a tenčí než u ‘Namwa Choke Wichian‘ a ‘Namwa Tanaosri’. Nejdelší a nejširší výhony byly pozorovány u tekutého média s BA 3 mg.l⁻¹.

Velký propad u 2. experimentu s médiem MS + BA 3 mg.l⁻¹ byl způsoben tím, že v jedné z lahvíček nedošlo vůbec k růstu nových výhonů, ačkoliv nebyla kontaminována a kultura nejevila známky nekrózy.

6.3 'Namwa Tanaosri'

Tabulka 3 - Souhrn výsledků multiplikace pro 'Namwa Tanaosri' na různých médiích

'Namwa Tanaosri'					
Experiment	Médium	BA (mg.l ⁻¹)	Průměrný počet nových výhonů na explantát	průměrná délka výhonů (cm)	průměrná šířka výhonů (cm)
1	tekuté	5	2,5	3,41	0,39
2	tekuté	5	1,6	4,76	0,63
1	tekuté	3	1,3	3,48	0,33
2	tekuté	3	1	5,59	0,46
1	pevné	5	1,78	1,22	0,3
2	pevné	5	2,25	1,37	0,27
1	pevné	3	1,38	1,89	0,25
2	pevné	3	1,11	1,91	0,31



Graf 3 – Počet výhonů u 'Namwa Tanaosri' na různých multiplikačních médiích

Kultivar ‘Namwa Tanaosri’ neměl, podobně jako ‘Namwa Choke Wichian’, vysoký množitel'ský koeficient. Stejně jako u předešlých dvou kultivarů se jako nejúspěšnější jeví tekuté médium s 5 mg.l⁻¹ BA, zároveň však velmi podobných výsledků dosáhlo i pevné médium s 5 mg.l⁻¹ BA. Přitom toto pevné médium při prvním i druhém pokusu překonalo hodnoty dosažené při druhém pokusu na tekutém médiu s BA 5 mg.l⁻¹.

Průměrné hodnoty na pevném médiu jsou ovšem značně ovlivněny jednotlivými odchylkami - při prvním pokusu z jednoho explantátu prorostlo 6 nových výhonů, zatímco v ostatních lahvičkách vzniklo po 1 nebo 2 výhonech, při druhém experimentu bylo ve dvou lahvičkách napočítáno 8 a 5 nových výhonů, zatímco v ostatních pouze jeden nebo i žádný (viz přílohy). Kultura na pevném médiu měla tedy značně nevyrovnané výsledky.

Jako nejméně vhodné se ukázalo být médium s 3 mg.l⁻¹ BA.

6.4 Statistické závislosti

Tabulka 4 - Tabulka statistických závislostí

Experiment	médium	BA	Kultivar	Počet výhonů	Délka výhonů (koeficient korelace)	Závislost délky výhonů na jejich počtu	Šířka výhonů (koeficient korelace)	Závislost šířky výhonů na jejich počtu
1	Tekuté	5 mg/l	‘Namwa Choke Wichian’	2,6	-0,49	střední	-0,49	střední
		3mg/l	‘Namwa Choke Wichian’	1,6	-0,81	silná	-0,73	silná
		5 mg/l	‘Namwa Kab Khao’	5,7	-0,73	silná	-0,62	silná
		3mg/l	‘Namwa Kab Khao’	3,33	0,13	slabá	-0,31	slabá
		5 mg/l	‘Namwa Tanaosri’	2,5	-0,69	střední	-0,54	střední
		3mg/l	‘Namwa Tanaosri’	1,3	-0,69	střední	-0,29	slabá
	Pevné	5 mg/l	‘Namwa Choke Wichian’	1,63636	-0,66	střední	-0,60	střední
		3mg/l	‘Namwa Choke Wichian’	1,1	-0,25	slabá	-0,23	slabá
		5 mg/l	‘Namwa Kab Khao’	2,22	-0,22	slabá	-0,08	slabá
		3mg/l	‘Namwa Kab Khao’	2,44	-0,28	slabá	0,13	slabá
		5 mg/l	‘Namwa Tanaosri’	1,77	-0,31	slabá	0,02	slabá
		3mg/l	‘Namwa Tanaosri’	1,38	-0,47	střední	-0,10	slabá

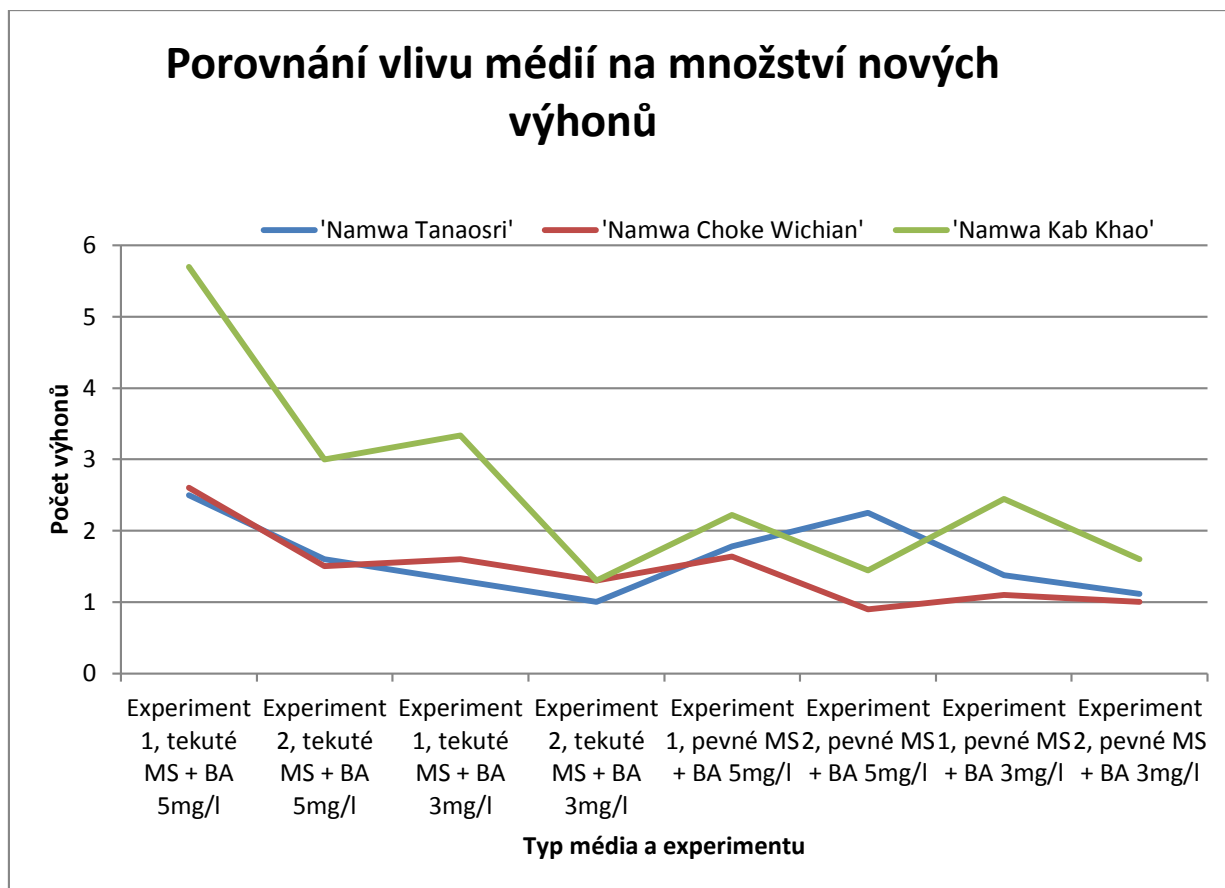
2	Tekuté	5 mg/l	'Namwa Choke Wichian'	1,5	-0,67	střední	-0,28	slabá
		3mg/l	'Namwa Choke Wichian'	1,3	-0,42	střední	-0,32	slabá
		5 mg/l	'Namwa Kab Khao'	3	-0,46	střední	-0,48	střední
		3mg/l	'Namwa Kab Khao'	1,3	-0,24	slabá	-0,71	silná
		5 mg/l	'Namwa Tanaosri'	1,6	-0,86	silná	-0,56	střední
		3mg/l	'Namwa Tanaosri'	1	X	X	X	X
	Pevné	5 mg/l	'Namwa Choke Wichian'	0,9	X	X	X	X
		3mg/l	'Namwa Choke Wichian'	1	X	X	X	X
		5 mg/l	'Namwa Kab Khao'	1,44	-0,35	slabá	0,26	slabá
		3mg/l	'Namwa Kab Khao'	1,6	-0,32	slabá	-0,48	střední
		5 mg/l	'Namwa Tanaosri'	2,25	-0,28	slabá	0,28	slabá
		3mg/l	'Namwa Tanaosri'	1,11	-0,15	slabá	0,16	slabá

Tabulka je sestavená z výsledků korelačních matic vytvořených softwarem Gretl. Vztahy jsou zkoumané při hladině významnosti 0,05. Daná tabulka představuje závislost mezi počtem nových výhonů a jejich délkou a šířkou.

Silná negativní závislost byla zjištěna u kultivaru 'Namwa Choke Wichian' na tekutém médiu s 3 mg.l⁻¹ BA a u 'Namwa Kab Khao' na tekutém médiu s 5 mg.l⁻¹ BA – v těchto případech se s rostoucím množstvím výhonů z explantátu výrazně snižovala jejich délka a tloušťka. U kultivaru 'Namwa Tanaosri' na tekutém médiu s BA 5 mg.l⁻¹ docházelo k negativnímu ovlivnění zejména délky výhonů, jejich šířka byla rostoucím množstvím ovlivněna jen středně. Na pevných médiích byla obecně délka a šířka výhonů jejich množstvím ovlivněna minimálně.

U některých kombinací nebylo možné korelační závislost určit, protože množství výhonů bylo příliš nízké – k tomu došlo v několika případech na pevných médiích.

6.5 Porovnání kultivarů a médií



Graf 4 - Porovnání vlivu jednotlivých médií na množství nových výhonů u jednotlivých kultivarů

Jak je možné vidět z Grafu 4, 'Namwa Kab Khao' dosahoval ze zkoušených kultivarů nejlepších množitelenských koeficientů. Překonán byl jen na pevném médiu s BA 5 mg.l⁻¹ kultivarem 'Namwa Tanaosri'.

Kultivary 'Namwa Tanaosri' a 'Namwa Choke Wichian' vykazovaly velmi podobné výsledky, pouze na pevném médiu MS + BA 5 mg.l⁻¹ se 'Namwa Tanaosri' odlišuje výrazně vyšším průměrným množstvím nových výhonů.

Celkově bylo nejlepších výsledků dosaženo na tekutém médiu MS + 5 mg.l⁻¹, a to pro všechny kultivary. U 'Namwa Tanaosri' dosahuje srovnatelných výsledků množení také pevné médium se stejnou koncentrací BA, jak je ale vidět z tabulek, výsledky na tomto médiu jsou velmi nevyrovnané (viz str. 48).

6.6 Souhrn výsledků

Jak je patrné z výsledků výzkumu, první a druhý experiment vykazují odlišné hodnoty. Všeobecně až na výjimky bylo při prvním experimentu zaznamenáno větší množství nově vzniklých výhonů než při druhém.

Po dobu experimentu došlo pouze k několika úhynům kultur a kontaminacím, tyto případy nejsou zahrnuty do průměrů ve výsledných tabulkách.

Nejlépe množitelným kultivarem z daných tří byl 'Namwa Kab Khao', který dosahoval na tekutých médiích dobrých výsledků – při prvním pokusu 3,33-5,7 nových výhonů na explantát, při druhém 1,3-3 výhony (u 'Namwa Choke Wichean' se výsledky pohybovaly mezi 1,3-2,6 a u 'Namwa Tanaosri' mezi 1-2,5 výhony). Byla u něj však prokázána vysoká záporná korelační závislost mezi počtem výhonů a jejich délkou a šířkou (viz Tabulka 4 – Tabulka statistických závislostí, str. 49-50). Se vzrůstajícím množstvím výhonů se tedy výrazně zmenšovala jejich délka a šířka

Pro všechny tři testované kultivary vykazovalo nejlepší výsledky multiplikace tekuté MS médium s 5 mg.l⁻¹ BA. Přesto toto médium neumožňuje příliš velký výnos nových rostlin (viz Graf 4 - Porovnání vlivu jednotlivých médií na množství nových výhonů u jednotlivých kultivarů, str. 51).

Na tekutých médiích docházelo při pokusu k většímu počtu růstových anomálií. Rostliny kultivované na pevných médiích tvořily většinou pouze jeden výhon a vykazovaly menší vitalitu, byly však vzhledově typické a i na médiu s vyšším obsahem cytokininů často kořenily.

7. DISKUZE

Příčinou rozdílných hodnot získaných při prvním a druhém experimentu mohl být použitý rostlinný materiál - pro zakládání prvního pokusu byly použity již dlouho přechovávané kultury, které byly značně nevyrovnané. Zároveň nebylo rostlinného materiálu dostatek pro výběr pouze typických vitálních rostlin pro odběr explantátů. Také se zde mohly vyskytnout i části kalusů a produkovat tedy větší množství výhonů. Pro druhý experiment byly použity kultury z prvního pokusu a bylo možné vybírat pouze standardní rostliny, proto lze výsledky druhého pokusu považovat za věrohodnější.

Kultury dovezené z thajské laboratoře se nepodařilo v našich podmínkách udržet. Pravděpodobnou příčinou bylo podchlazení při převozu v zimním období.

Au Vun Hui *et al.* (2012) zkoumal využití různých typů kultur pro množení čtyř různých kultivarů ABB banánovníků pěstovaných v jihovýchodní Asii, přičemž nejlepších výsledků dosáhl při použití TIS (temporary immersion system) – v průměru 5,6 výhonů na explantát. Přitom bylo použito právě tekuté MS médium s 5 mg.l⁻¹ BA.

Pevná média ani kultury v tekutých médiích umístěných na třepačce při 120 rpm samy o sobě nedosahovaly takových výsledků.

Culture system	No. of shoot/ explant ± se	Fresh biomass ± se (g)	Shoot height ± se (cm)	Shoot diameter ± se (mm)	Number of roots/explant ± s.e
Gelled medium	3.4 ± 0.2 a	1.06 ± 0.06 c	2.3 ± 0.1 f	5.4 ± 0.2 h	0.4 ± 0.2 j
Shake flask	2.9 ± 0.3 a	2.94 ± 0.23 d	4.1 ± 0.2 g	7.6 ± 0.3 i	0 ± 0 j
TIS	5.6 ± 0.2 b	2.13 ± 0.12 e	2.6 ± 0.1 f	5.9 ± 0.2 h	1.2 ± 0.2 k

Mean values within the same column with different alphabets were significantly different according to DMRT, p ≤ 0.05

Tabulka 5 - Porovnání kultur na pevném a tekutém médiu s TIS po 5 týdnech kultivace (Au Vun Hui *et al.*, 2012)

Vysokou úspěšnost multiplikace s použitím TIS (viz obr. 26, Přílohy) u banánovníku popsal už Alvard *et al.* (1993), když testoval šest různých systémů kultivace: tuhé médium, tekuté médium se zapláváním rostlin, tekuté médium s celulózní podporou, tekuté médium s částečným zapláváním rostlin, tekuté médium provzdušňované probubláváním a tekuté médium s dočasným zapláváním rostlin (20 minut každé 2 hodiny).

Po 20 dnech kultivace bylo pozorováno, že kultury na tekutých médiích a médiích s celulózní oporou nevytvářely nové výhony vůbec nebo jen málo, kultury na tuhém

médiu, provzdušňovaném médiu a kultury částečně zaplavované vykazovaly množitelský koeficient 2,2-3,1 a nejlepších výsledků dosahoval systém dočasného zaplavování s množitelským koeficientem >5. Kultury na provzdušňovaném médiu dosahovaly největšího nárůstu biomasy, na druhou stranu také vykazovaly sklony k hyperhydricitě. Hyperhydricita se u explantátů v systému dočasného zaplavování nevyskytovala.

Agrawal *et al.* (2014) úspěšně použili pro kultivaci banánovníku ‘Karpura Chakkarakeli’ náležejícího do skupiny Pisang Awak (Kluai Namwa) médium P5 – modifikaci MS média s 2,3 mg.l⁻¹ [10 μM] BA, 0,2 mg.l⁻¹ [1 μM] IBA, 10 mg.l⁻¹ kyseliny askorbové, 3 % sacharózy a 0,25 % Phytagelu. Na tomto médiu nedocházelo k multiplikaci, byly získány pouze jednotlivé silné výhony.

Pro přípravu mnou zkoušených médií byla jako zdroj energie použita sacharóza běžné potravinářské kvality. Waman *et al.* (2014) uvádějí, že pro multiplikaci *in vitro* kultur banánovníku byla nejvhodnějším zdrojem energie shledána fruktóza, jako druhá nejlepší poté sacharóza. Pro další parametry (např. tloušťku výhonů) se také jeví fruktóza jako nejvhodnější. Na médiích obsahujících glukózu byla multiplikace málo efektivní, nicméně délka a šířka výhonů byla větší než při použití sacharózy.

Při sterilizaci média v autoklávu se velká část sacharózy rozpadá na glukózu a fruktózu. Z výzkumu Saraswathi *et al.* (2016), který se zabývá cenově efektivní mikropropagací banánovníku, vyplývá, že použití běžné sacharózy potravinářské kvality jako zdroje energie je téměř stejně efektivní jako použití čisté laboratorní sacharózy a přináší 95% snížení ceny. Tento pokus byl prováděn na třech kultivarech banánovníku, mimo jiné i na kultivaru ‘Udhayam’ náležejícímu do skupiny ABB banánovníků.

8. ZÁVĚR

Na pevných médiích se při pokusu obvykle tvořil pouze jeden výhon, nelze je tedy pro multiplikaci odrůd 'Namwa Choke Wichian', 'Namwa Kab Khao' a 'Namwa Tanaosri' doporučit. Rostliny na pevných médiích rostou málo bujně a dochází i k úhynům. Tato média by ovšem mohla být využita pro dopěstování rostlin získaných mikropropagací. Banánovníky rostoucí na těchto médiích měly typický vzhled bez deformací a i přes vysoký obsah cytokininů často tvořily kořeny.

Naproti tomu k množení se pro dané odrůdy nejlépe osvědčilo tekuté MS médium s 5 mg.l⁻¹ BA. Toto médium by mohlo být dále využito pro efektivnější množení odrůd v systémech s dočasným zaplavováním rostlin (TIS), které se jeví jako perspektivní pro kultivaci ABB banánovníků. Tato technologie by umožnila efektivnější využití prostor kultivační místnosti a snížila pracnost spojenou s *in vitro* pěstováním, protože kultury v TIS není nutné pasážovat na nová média.

Sacharóza běžné potravinářské kvality se jako zdroj energie pro tyto odrůdy banánovníku ukázala být dostatečnou, ačkoliv použití glukózy namísto sacharózy by mohlo mít pozitivní efekt na proliferaci výhonů.

9. SHRNU TÍ

VYUŽITÍ KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ PRO MNOŽENÍ BANÁNOVNÍKU METODOU *IN VITRO*

Tato práce je zaměřena na charakteristiku rodu *Musa*, *in vitro* kultivaci banánovníku a mikropropagaci tří vybraných kultivarů skupiny Klwai Namwa.

Rešeršní část obsahuje botanické zařazení rodu *Musa* a jednotlivé skupiny spadající pod tento rod, dále popis všech částí rostliny banánovníku, jeho původ, vznik a rozdělení kultivarů. Jsou zde popsány dnes nejvýznamnější pěstované kultivary spolu s jejich rozšířením, význam a využití banánovníku a rozebrána situace banánů jako ovocné komodity na světovém trhu. Práce obsahuje také přehled nejdůležitějších chorob a škůdců ohrožujících v současnosti produkci banánů, možnosti množení banánovníků a přínosy i obtíže šlechtění.

Část nazvaná „Banánovník *in vitro*“ se zabývá konkrétním využitím různých typů aseptických kultur banánovníku, popisuje některé používané postupy a s nimi spojená rizika. Tato kapitola je zaměřena zejména na mikropropagaci banánovníku, od založení kultury po převedení do nesterilních podmínek až po výsadbu.

Třetí, experimentální část práce popisuje pokus s množením tří kultivarů banánovníku skupiny Klwai Namwa (ABB). Tento experiment byl proveden v roce 2015 na univerzitě v Thajsku a jeho cílem bylo vyhodnotit vhodnost čtyř typů kultivačního média pro jednotlivé kultivary a navrhnout nejlepší médium pro multiplikaci. Testována byla dvě pevná MS média (jedno s koncentrací BA 3 mg.l⁻¹, druhé s koncentrací 5 mg.l⁻¹ BA) a dvě tekutá MS média se stejnými dvěma koncentracemi BA.

Jako nejvhodnější pro všechny tři kultivary se ukázalo být tekuté médium s 5 mg.l⁻¹ BA. I při jeho použití ale kultury nevykazovaly příliš vysoký množitelský koeficient. Jako řešení bylo navrženo použití fruktózy jako zdroje energie a multiplikace v TIS.

Klíčová slova: *Musa*, banánovník, banány, *in vitro*, mikropropagace, médium, Klwai Namwa, Pisang Awak, ABB

10. RESUMÉ

APPLICATIONS OF CULTIVATION MEDIA FOR *IN VITRO* MULTIPLICATION OF BANANA PLANT

This work deals with characterization of *Musa* genus, *in vitro* cultivation of banana plants and micropropagation of three chosen Kluai Namwa cultivars.

Theoretical part comprises of genus *Musa* taxonomy and particular groups in this genus, then description of all the parts of banana plant, origin of banana growing and cultivars. The world most important cultivars were chosen and described together with their occurrence. This chapter includes description of importance and different usage of bananas and world banana trade, too. There can be found overview of the most important pests and diseases of banana plants, ways of multiplication and advantages and difficulties of breeding.

The part named „Banana plant *in vitro*“ deals with specific uses of different aseptic cultures of bananas, it describes some of used practises and their risks. This chapter focuses mostly on micropropagation of banana plants, from establishing the culture to weaning and planting to the field.

Third and last part describes the experiment with multiplication of three banana cultivars from Kluai Namwa group (ABB). This experiment took place at Thai university in the year 2015. The goal was to evaluate the suitability of four different cultivation media for individual cultivars and to suggest the best medium for multiplication. Two solid MS media were tested (one with the BA concentration 3 mg.l⁻¹, the second with 5 mg.l⁻¹ BA) and two liquid MS media with the same concentrations of BA.

As the best medium for all three cultivars it turned out to be the liquid one with 5 mg/l BA. But even when this media was used the proliferation of new shoots was low. As the solution the use of fructose as source of energy and multiplication in TIS were suggested.

Keywords: *Musa*, banana plant, bananas, *in vitro*, micropropagation, media, Kluai Namwa, Pisang Awak, ABB

POUŽITÉ ZDROJE

1. AGRAWAL, Anuradha, Rajkumari SANAYAIMA, Rakesh SINGH, Rajesh TANDON, Smriti VERMA a R. K. TYAGI. Phenotypic and molecular studies for genetic stability assessment of cryopreserved banana meristems derived from field and in vitro explant sources. *In Vitro Cellular* [online]. 2014, **50**(3), 345-356 [cit. 2016-04-12]. DOI: 10.1007/s11627-014-9606-4. ISSN 1054-5476. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11627-014-9606-4>
2. ALVARD, D., F. COTE a C. TEISSON. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation: Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1993, **32**(1), 55-60.
3. ASSANI, A, F BAKRY, F KERBELLEC, R HAICOUR, G WENZEL a B FOROUGH-WEHR. Production of haploids from anther culture of banana [(Musa balbisiana (BB)]. *Plant Cell Reports* [online]. Springer-Verlag, 2003,**21**(6), 511-516 [cit. 2016-04-19]. DOI: 10.1007/s00299-002-0557-6. ISSN 0721-7714. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00299-002-0557-6>
4. BAJAJ, Y. *High-tech and micropropagation V*. New York: Springer, 1997. ISBN 35-406-1606-3.
5. *Banana breeding: progress and challenges*. Editor Michael PILLAY, editor Abdou TENKOUANO. Boca Raton, Fla.: Taylor & Francis, 2011. ISBN 9781439800188.
6. Bananas and Plantains: Future challenges in Musa Breeding. PILLAY, M, A TENKOUANO a J HARTMAN. *Crop Improvement: Challenges in the Twenty-First Century*. 1. New York, USA: Haworth Press, Inc., 2002, s. 223-252. ISBN 1560229055.
7. CARREEL, F, D GONZÁLEZ DE LEÓN, P LAGODA, C LANAUD, C JENNY, P HARRY a H TEZENAS DU MONTCEL. Ascertaining maternal and paternal lineage within Musa by chloroplast and mitochondrial DNA RFLP analyses. *Genome*. 2002, (45), 679-692.
8. CARREEL, F. *Etude de la diversité des bananiers (genre Musa) al aide des marqueurs RFLP*. Paris-Grignon: Institut National Agronomiques, 1994.
9. DANIELLS, J., JENNY, C., KARAMURA, D., TOMEKPE, K. *Musalogue: a catalogue of Musa germplasm*. Diversity in the genus Musa. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France, 2001.

10. ELWYNN TAYLOR, S. TATTERED BANANA LEAVES. *Missouri Botanical Garden Bulletin* [online]. 1970, **58**(5), 14-17 [cit. 2016-04-19]. Dostupné z: <http://www.missouribotanicalgarden.org/>
11. E-mailová korespondence s Dr. Shermarl Wongchaochant Ph.D. [online], 9. 3. 2016.
12. GASSTER, M. The banana in geriatric and low-calorie diets. *Geriatrics*. 1963, **18**, 782-786. ISSN 0016-867X.
13. GOLD, Clifford S., J.E. PEÑA a E.B. KARAMURA. Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews* [online]. 2001, **6**(2), 79-155 [cit. 2016-04-19]. DOI: 10.1023/A:1023330900707. ISSN 13535226. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1023330900707>
14. HUI, A.V., A. BHATT a C. L. KENG. Micropropagation of *musa acuminata* X *M. balbisiana* CV. Pisang Awak (ABB genome) and three other cultivars. *Pakistan Journal of Botany*. 2012, **44**(2), 777-780.
15. JANICK, Jules a Robert E PAULL. *The encyclopedia of fruit & nuts*. Cambridge, MA: CABI North American Office, c2008. ISBN 9780851996387.
16. JONES, D. *Diseases of banana, abacá, and enset*. 1. New York: CABI Pub., 1999. ISBN 0851993559.
17. KARAMURA, E.B. and D.A. KARAMURA. *Banana morphology. Part 2: The aerial shoot*. London: Chapman and Hall, 1995.
18. KOLE, Chittaranjan. *Fruits and nuts*. New York: Springer, 2007. ISBN 9783540345312.
19. LITZ, Richard E. *Biotechnology of fruit and nut crops*. Cambridge, MA: CABI Pub., 2005. Biotechnology in agriculture series, 29.
20. MOLINA, A.B., V.N. ROA, I. VAN DER BERGH a M.A. MAGHUYOP. *Advancing banana and plantain R & D in Asia and the Pacific: Vol. 12* [online]. Montpellier (France): INIBAP, 2003 [cit. 2016-04-18]. ISBN 1729-0805. Dostupné z: <http://www.bioversityinternational.org>
21. MURASHIGE, T a F SKOOG. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiology of Plant*. 1962, **15**(3), 473-497.
22. NAYAR, N. M. The Bananas: Botany, Origin, Dispersal. *Horticultural Reviews* [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2010, **2010**(36), 117-164 [cit. 2016-04-18]. DOI: 10.1002/9780470527238.ch2. ISBN 9780470527238. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470527238.ch2>

23. PANIS, B, I VAN DEN HOUWE, B PIETTE a R SWENNEN. Cryopreservation of the banana germplasm collection at the International Transit Centre-Biodiversity International. *Advances in Horticultural Science*[online]. 2007, **21**(4), 235– 238 [cit. 2016-04-19]. Dostupné z: <http://www.jstor.org/stable/42883542>
24. PLOETZ, C.P., A.K. KEPLER, J DANIELLS a S.C. NELSON. Banana and plantain— an overview with emphasis on Pacific island cultivars Musaceae (banana family). In: *Agroforestry* [online]. Holualoa, Hawai: Permanent Agriculture Resources, 2007 [cit. 2016-04-19]. Dostupné z: www.traditionaltree.org
25. PLOETZ, R.C. Panama disease, an old enemy rears its ugly head. *Plant health progress* [online]. APSnet, 2005 [cit. 2016-04-19]. DOI: 10.1094/PHP-2005– 1221– 01-RV. Dostupné z: <https://www.plantmanagementnetwork.org>
26. PURSEGLOVE, J.W. *Tropical crops: Monocotyledons. Vol. 2*. London: Longmans, 1972.
27. ROBINSON, J a Víctor GALÁN SAÚCO. *Bananas and plantains*. 2nd ed. Cambridge, MA: CABI, 2010. Crop production science in horticulture, 19. ISBN 978-184-5936-587.
28. ROBINSON, J. *Bananas and plantains*. 1. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, 1996. Crop production science in horticulture, 5. ISBN 08-519-8985-3.
29. SARASWATHI, M.S., S. UMA, G. KANNAN, M. SELVASUMATHI, M.M. MUSTAFFA a S. BACKIYARANI. Cost-effective tissue culture media for large-scale propagation of three commercial banana (*Musa* spp.) varieties. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* [online]. 2016, **91**(1), 23-29 [cit. 2016-04-12]. DOI: 10.1080/14620316.2015.1117227. ISSN 14620316. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com>
30. Sigatoka leaf spot diseases. MOURICHON, X, J CARLIER a E FOURE. *Musa disease fact sheet no. 8*. Montpellier, France: INIBAP, 1997.
31. SIMMONDS, N. W. a K. SHEPHERD. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*. 1955, **55**(359), 302-312. DOI: 10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x. ISSN 03682927. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1095-8339.1955.tb00015.x>
32. SIMMONDS, Norman Willison. *The evolution of the bananas*. London: Longmans, 1962.

33. STOVER, R.H. a S.E. MALO. The occurrence of fusarial wilt in normally resistant 'Dwarf Cavendish' banana. *Plant Disease Reporter*. Washington, D.C.: Bureau of Plant Industry, U.S. Dept. of Agriculture, 1972, **11**, 1000-1003.
34. STOVER, R.H. *Fusarial wilt (panama disease) of bananas and other Musa species*. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute, 1962.
35. SUN, E.J. *Survival of race 4 of Fusarium oxysporum f. sp. cubense in the soil*. Taipei, 1977. Diplomová práce. National Taiwan University.
36. TAYLOR, S. Elwynn a Owen J. SEXTON. Some Implications of Leaf Tearing in Musaceae. *Ecology*. 1972, **53**(1), 143-149. DOI: 10.2307/1935720. ISSN 00129658. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.2307/1935720>
37. THOMPSON, A. K. Banana processing. *Bananas and Plantains*[online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995, s. 481 [cit. 2016-04-19]. DOI: 10.1007/978-94-011-0737-2_17. ISBN 978-94-010-4317-5. Dostupné z: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-94-011-0737-2_17
38. TUSHEMEREIRWE, W, A KANGIRE, J SMITH, F SSEKIWOKO, M NAKYANZI a D KATAAMA. Outbreak of bacterial wilt on banana in Uganda. *InfoMusa*. 2003, **12**(2), 6-8.
39. UMA, S., S. SATHIAMOORTHY, and P. DURAI. *Banana— Indian genetic resources and catalogue*. Tiruchirapalli, 2005.
40. VALMAYOR, R.V., R.R.C. ESPINO, and O.C. PASCUA. *The wild and cultivated bananas of the Philippines*. Los Banos, 2002
41. WAMAN, Ajit Arun, Pooja BOHRA a B. N. SATHYANARAYANA. Not all sugars are sweet for banana multiplication. In vitro multiplication, rooting, and acclimatization of banana as influenced by carbon source-concentration interactions. *In Vitro Cellular* [online]. 2014, **50**(5), 552-560 [cit. 2016-04-12]. DOI: 10.1007/s11627-014-9623-3. ISSN 1054-5476. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11627-014-9623-3>
42. WELLER, D.M., J.M. RAAIJMAKERS, B. GARDENER a L.S. THOMASHOW. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens 1. *Annual Review of Phytopathology*. 2002, **40**(1), 309-348. DOI: 10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010. ISSN 0066-4286. Dostupné také z: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>