

## OPTIMALIZACE MIKROPROPAGACE JEŘÁBU BŘEKU

### OPTIMALIZATION OF WILD SERVICE TREE MICROPROPAGATION

PAVLÍNA MÁCHOVÁ - JANA MALÁ - HELENA CVRČKOVÁ - JAROSLAV DOSTÁL  
 Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Strnady

#### ABSTRACT

For long-term sustainability of wild service tree genetic resources, micropropagation technologies could prove to be useful (DUJÍČKOVÁ et al. 1992, CHALUPA 1992, MALÁ et al. 2005). For standardized wild service tree procedures of micropropagation and for its effective exploitation in the forestry, some difficulties during rooting stage of organogenesis remain to be solved. In this study we compared the influences of three different aromatic cytokinins BAP, mT, and MeoBAPr on the multiplication of explants and the rooting of microcuttings of the wild service tree. The highest multiplication rate shows using of multiplication medium supplemented with BAP. Only 55 - 60 % of multiplication rate with BAP was observed in media containing MeoBAPr and mT. Numbers of successfully rooted plantlets were determined after 6 weeks of cultivation in the rooting medium. The highest numbers of rooted plantlets were achieved after transferring of the microcuttings from medium with MeoBAPr into one-third MS medium with NAA. We studied the influence of cold treatment during multiplication, 85 % of rooting rate of microcuttings of the wild service tree in this condition were reached.

**Klíčová slova:** jeřáb břek, mikropropagace, zakořeňování, cytokininy  
**Key words:** wild service tree, micropropagation, rooting, cytokinins

#### ÚVOD

Jeřáb břek (*Sorbus torminalis* (L.) CRANTZ) se řadí mezi vzácné druhy lesních dřevin. V lesních společenstvech se vyskytuje jen vtroušeně, netvoří čisté porosty, má malou konkurenční schopnost, plody jsou oblíbenou potravou zvěře (HEJNÝ, SLAVÍK 1992). Optimum výskytu leží v oblasti doubrav, v nichž zaujímá nejteplejší polohy. Jedná se o pomalu rostoucí strom, který může v 80 - 100 letech dosáhnout až výšky 20 - 25 m. Patří mezi také nejvíce ceněné druhy v dřevařském průmyslu (DEMASURE et al. 2000).

Pro dlouhodobé uchování genových zdrojů jeřábu břeku lze s úspěchem použít metodu mikropropagace (DUJÍČKOVÁ et al. 1992, CHALUPA 1992). V genové bance Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., je v současné době uchováváno 95 klonů jeřábu břeku. Metoda mikropropagace dospělých stromů jeřábu břeku byla popsána, např. MALÁ et al. (2005), avšak u některých klonů se objevují problémy spojené se zakořeňovací fází a následnou aklimatizací výpěstků *in vitro*.

Je obecně známo, že morforegulační procesy jsou u explantátových kultur ovlivněny především cytokininy a auxiny. Nejrozšířenějším a účinným cytokininem při mikropropagaci je syntetický cytokinin 6-benzylaminopurine (BAP). U některých rostlinných druhů včetně jeřábu břeku však byla po jeho použití pozorována inhibice tvorby kořenů nebo jejich nerovnoměrný růst (WERBROUCK et al. 1995, 1996), s největší pravděpodobností způsobený metabolity syntetizovanými v průběhu kultivace, a proto jsou testovány i další cytokininy, které by neměly při dlouhodobé aplikaci inhibiční účinky.

Cytokininy, purinové deriváty substituované na aminokyselině v poloze 6 (N<sup>6</sup>) se podílejí na regulaci mnoha fyziologických a vývojových procesů v rostlinách (LETHAM, PALNI 1983). Endo-

genní cytokininy se mohou vyskytovat v různých metabolických formách, např. ve formě volných bází, ribozidů (R), N-glukozidů (G), O-glukozidů (OG) a nukleotidů (5'MP) (LETHAM, PALNI 1983). V závislosti na charakteru substituce se mohou vyskytovat isoprenoidní nebo aromatické formy cytokininů. Mezi aromatické cytokininy patří 6-benzylaminopurine (BAP), meta- a ortho-topolin a jejich metabolity. Isoprenoidní formy jsou reprezentovány cytokininy odvozenými od bázi N<sup>6</sup>- ( $\Delta^2$  - isopentenyl) adenin, dihydrozeatin a zeatin (STRNAD 1997). V naší práci jsme také sledovali vliv 3 rozdílných cytokininů BAP (6-benzylaminopurine), mT (6-(3-hydroxybenzylamino)purine) a MeoBAPr (6-(3-methoxybenzylamino) purine-9- $\beta$ -D-ribofuranoside) na multiplikaci explantátů a na následné zakořeňování mikrořízků jeřábu břeku. Cytokininy mT a MeoBAPr byly získány z Laboratoře růstových látek Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v. v. i. Charakteristiku testovaných cytokininů uvádí ve své práci NOVÁK et al. (2008).

#### MATERIÁL A METODY

##### Indukce organogeneze

Primární kultury klonů jeřábu břeku byly založeny ze zimních pupenů (sběr koncem února) odebraných z dospělých rodičovských stromů a jiných kvalitních jedinců evidovaných ve Výzkumném ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. Od každého klonu bylo izolováno 30 pupenů, které byly po sterilizaci v 1% roztoku SAVO (Bochemie, ČR) třikrát promyty sterilizovanou vodou. Ve sterilním prostředí byly odstraněny vnější šupiny pupenů a extirpované vzrostné vrcholy byly umístěny na indukční agarové živné médium MS (MURASHIGE, SKOOG 1962) s obsahem 0,5 mg.l<sup>-1</sup> BAP

(6-benzylaminopurine), 0,1 mg.l<sup>-1</sup> IBA ( $\beta$ -indolylbutyric acid), glutamin 10 mg.l<sup>-1</sup>, glycin 2 mg.l<sup>-1</sup>, sacharóza 30 g.l<sup>-1</sup>, agar (ČL 97, Dr. Kulich Pharma, s. r. o., ČR) 6 g.l<sup>-1</sup>, pH 5,8 (50 ml média v Erlenmeyerově 100ml baňce). Kultivace probíhala v klimatizovaných podmínkách při teplotě 24 °C, 16hodinové světelné fotoperiodě a s osvětlením o intenzitě 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Proliferace nasazených explantátů v průběhu trvala přibližně 4 - 6 týdnů.

### Multiplikace

Multiplikační fáze probíhala na živném médiu MS s obsahem BAP 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, IBA 0,1 mg.l<sup>-1</sup>, glutamin 100 mg.l<sup>-1</sup>, glycin 2 mg.l<sup>-1</sup>, sacharóza 30 g.l<sup>-1</sup>, agar 6 g.l<sup>-1</sup>, pH 5,8. Explantáty byly kultivované při 24 °C a 12hodinové světelné periodě (36W/33 Philips tubes, Eindhoven, the Netherlands; intenzita osvětlení 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) (obr. 1).



**Obr. 1.**

Vícevrcholová kultura jeřábu břeku kultivovaná na médiu s cytokininem BAP

Explants culture of wild service tree multiplied on medium with BAP

### Zakořeňování

K zakořeňování explantátových kultur jeřábu břeku se použilo médium (1/3 koncentrované MS médium) bez cytokininů a s obsahem 14 mg.l<sup>-1</sup> NAA ( $\alpha$ -naphthylacetic acid), výhony byly kultivovány ve tmě při 25 °C, po týdnu byly přesazeny na čerstvé médium se stejným složením a kultivovány na světle (36W/33 Philips Tubes, The Netherlands) s 12hodinovou světelnou periodou a intenzitou osvětlení 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Pro zefektivnění indukce rhizogeneze byla část výhonů vystavena chladové expozici. Explantátové kultury ve stadiu multiplikace byly přesazeny na čerstvé standardní multiplikační živné médium a 14 dní kultivovány ve standardních kultivačních podmínkách, tj. v klimatizované místnosti při teplotě 24 °C, 16hodinové světelné fotoperiodě a s osvětlením o intenzitě 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Poté byly kultury přeneseny do chladové místnosti a vystaveny po dobu 7 měsíců teplotě 5 °C a snížené intenzitě osvětlení 10  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Po přenesení zpět do standardních kultivačních podmínek a přesazení na čerstvé multiplikační médium došlo k regeneraci kultur, které byly následně přesazeny na zakořeňovací médium a proběhlo standardní výše popsané zakořeňování. Jako kontrolní materiál byly použity výhony stejných klonů kultivované bez chladové expozice. V každém experimentu bylo zakořeňováno nejméně 30 výhonů a pokus byl dvakrát opakován.

### Testování cytokininů

#### a) multiplikace

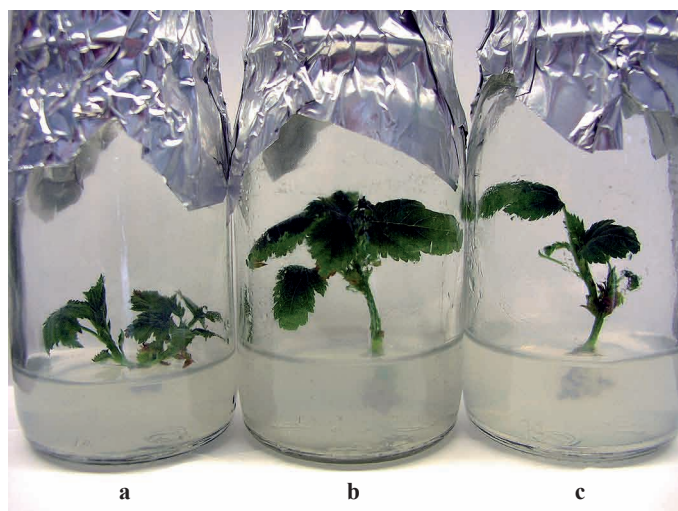
Pro testování vlivu cytokininů byly vybrány 3 klony jeřábu břeku kultivované 12 měsíců na multiplikačním médiu. Od každého klonu bylo odebráno 30 výhonů. Výhony byly rozděleny do 3 skupin a kultivovány na multiplikačním médiu s 3 testovanými cytokininy (BAP v koncentraci 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, mT v koncentraci 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, MeoBAPr v koncentraci 0,125 mg.l<sup>-1</sup>). Experiment probíhal po dobu 12 týdnů, s 4týdenním intervalem pasážování explantátů na čerstvá živná média se stejným složením, poté bylo provedeno zhodnocení morfologické kvality a rychlosti růstu (počet nově vzniklých výhonů a jejich průměrná délka) na testovaných typech kultivačních médií. Experiment byl 3x opakován a získaná data byla vyhodnocena pomocí testu ANOVA a Duncanovým mnohonásobným pořadovým testem (DUNCAN 1995).

#### b) zakořeňování

Namnožené výhony po 3měsíční kultivaci na příslušných multiplikačních médiích s různými cytokininy (BAP v koncentraci 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, mT v koncentraci 0,2 mg.l<sup>-1</sup>, MeoBAPr v koncentraci 0,125 mg.l<sup>-1</sup>) byly využity k dopěstování kompletních rostlin. Pro indukci zakořeňování bylo 20 výhonů (od jednoho klonu) z každé testované skupiny umístěno na standardní zakořeňovací médium (1/3 koncentrované MS médium) bez cytokininů a s obsahem NAA (14 mg.l<sup>-1</sup>), výhony byly kultivovány za standardních podmínek, viz výše. Hodnocení efektivnosti zakořeňování bylo provedeno po 6 týdnech kultivace na zakořeňovacím médiu. Experiment byl 3x opakován a získaná data byla vyhodnocena pomocí testu ANOVA a Duncanovým mnohonásobným pořadovým testem (DUNCAN 1995).

### Aklimatizace a dopěstování výsadbyschopných sazenic

Ve fázi aklimatizace byly rostliny s vyvinutým kořenovým systémem přesazeny do agoperlitu a jedenkrát denně zalévány základním roztokem MS ředěným 1 : 10 destilovanou vodou. Aklimatizace probíhala v klimatizované místnosti při teplotě 24 °C a 24hodinové světelné fotoperiodě, s osvětlením o intenzitě 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a při 90% relativní vzdušné vlhkosti. Po 14 dnech byly rostliny přesazeny do nesterilního substrátu tvořeného směsí zeminy, rašeliny, perlitu a poté byly přeneseny do skleníku, kde byly postupně adaptovány na 70% relativní vzdušnou vlhkost. Pro dopěstování byly použity obaly BBC Growing trays, které nebrání rozvoji kvalitního kořenového systému. Výpěstky in vitro byly dopěstovány do výsadbyschopných sazenic na venkovních záhonech v Experimentální školce Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., na Baních.



Obr. 2.

Explantátové kultury jeřábu břeku kultivované na médiu s cytokininy BAP (a), MeoBAPr (b) a mT (c)  
Explant cultures of wild service tree multiplied on medium with BAP (a), MeoBAPr (b) and mT (c)

## VÝSLEDKY

### Vliv chladové expozice na zakořeňovací fázi

Po přenesení explantátových kultur kultivovaných 7 měsíců v chladové místnosti zpět do standardních kultivačních podmínek a přesazení na čerstvé multiplikační médium došlo k jejich regeneraci. Po druhé pasáži byly namnožené adventivní výhony přesazeny na zakořeňovací médium. Při zakořeňování výhonů z vícevrcholových kultur vystavených chladové expozici došlo k významnému nárůstu počtu zakořeněných výhonů (85% úspěšnost zakořenění) ve srovnání s kontrolním materiálem (35% úspěšnost zakořenění).

### Experiment s cytokininy

#### a) multiplikace

Pro indukci adventivních i axilárních pupenů byl mezi testovanými cytokininy nejefektivnější BAP. Nejvyšší multiplikační rychlost, při hodnocení počtu nově vzniklých výhonů na explantátovou kulturu, byla dosažena na médiu doplněném cytokininem BAP ( $24 \pm 4$  výhony). Na médiu s MeoBAPrem a mT bylo dosaženo pouze 55 - 60% účinnosti (tab. 1, obr. 2). Klonové rozdíly u explantátů jeřábu břeku nebyly pozorovány a použití rozdílných cytokininů nemělo vliv na morfologickou kvalitu a délku výhonů ( $3,2 \pm 0,6$  cm u všech klonů).

#### b) zakořeňování

Počet zakořeněných rostlin byl hodnocen po 6 týdnech kultivace na zakořeňovacím médiu. V tabulce 2 jsou uvedeny počty kořenících výpěstků *in vitro*, nejvyšší počet ( $15 \pm 2,5$ ) byl získán u explantátů kultivovaných nejdříve na médiu s MeoBAPrem a poté na 1/3 koncentrovaném MS médiu s obsahem NAA.

### Aklimatizace a dopěstování výsadby schopných sazenic

V průběhu aklimatizace nebyl mezi sledovanými skupinami výpěstků *in vitro* (chladová expozice, použití různých typů cyto-

kininů ve fázi multiplikace) shledán rozdíl v mortalitě, případně morfologii výpěstků. Mortalita se pohybovala kolem 5 % u všech skupin. Růstové charakteristiky výpěstků odpovídaly parametrům 2letých semenáčků uvedených v ČSN 48 2115, změna Z1.

## DISKUSE A ZÁVĚR

V současné době se jeřáb břek řadí k cenným listnáčům s velkým potenciálem pro případné využití v lesnictví a lesnické ekologii (DEMASURE et al. 2000). Přestože metodika mikropropagace byla již popsána (DUJÍČKOVÁ et al. 1992, CHALUPA 1992, BATTUT et al. 1993), existují velké klonové rozdíly zejména ve schopnosti rhizogeneze multiplikovaných výhonů. Jednou z hlavních příčin, které brání širšímu využití mikropropagačních technik u mnoha dřevin, je problém se zakořeňováním adventivních nebo axilárních výhonů. (COELHO et al. 2005, MALÁ et al. 2000). Mikropropagace jako vegetativní reprodukce představuje komplexní proces sestávající se z rozdílných vývojových stádií, které jsou ovlivňované rozdílnými endo a exogenními podněty. Tyto podněty regulují také růstové procesy *in vitro* (CENTENO et al. 1996). Dosud nebyl plně prostudován vliv auxinů, cytokininů a ostatních aktivních látek jako polyaminů nebo derivátů fenolických kyselin na morfogenetické procesy probíhající při diferenciaci rostlinných pletiv (ALTAMURA et al. 1993, SCHOLTEN 1998, CVIKROVÁ, HRUBCOVÁ 1999). Bylo např. prokázáno, že formování kořenů probíhá v několika fázích, ve kterých byl v pletivech stanoven vysoký obsah endogenních auxinů a především IAA (NAG et al. 2001). Přítomnost cytokininů je nezbytná i pro indukci buněčného dělení na počátku formování kořenů (DE KLERK et al. 2001), ale na rozdíl od auxinů vyšší obsah cytokininů potlačuje adventivní zakořeňování (BOLLMARK et al. 1988).

V rámci popsaných experimentů byl testován vliv rozdílných derivátů aromatických cytokininů, které se vyznačují silnou organogenní aktivitou a zároveň minimálně inhibují následné zakořeňování explantátů, na multiplikaci a zakořeňování výpěstků *in vitro* jeřábu břeku, a byla porovnávána jejich účinnost s obecně používaným cytokininem BAP. Pro indukci adventivních i axilárních pupenů a pro následnou multiplikaci byl nejefektivnější cytokinin BAP (tab. 1). U explantátů kultivovaných na multiplikačním médiu s BAP bylo po následné 6týdenní kultivaci na zakořeňovacím médiu naopak pozorováno nejmenší procento zakořenění (35% úspěšnost zakořenění). Nejlepších výsledků bylo dosaženo po kultivaci na médiu s MeoBAPrem (75% úspěšnost zakořenění).

Tab. 1.

Srovnání průměrných počtů nově vytvořených výhonů v multiplikační fázi jeřábu břeku na rozdílných typech cytokininů  
Comparison of the average numbers of new shoots influenced by different cytokinins (values coupled from 3 experiments)

Cytokinin/ Cytokinin	Průměrný počet nových výhonů $\pm$ SD/ No. of new shoots $\pm$ SD	mT	MeoBAPr	BAP
mT	$14,2 \pm 4,96$	-	N. S.	*
MeoBAPr	$13,3 \pm 4,76$	N. S.	-	*
BAP	$24,3 \pm 4,41$	*	*	-

\*) rozdíly na 0,05 hladině významnosti na základě Duncanovu testu/significant according to the Duncan's multiple range test at the 0.05 level  
N. S. – not significant; SD – standard deviation

**Tab. 2.**

Počet kořenících výhonů *in vitro* jeřábu břeku z celkového počtu 20 mikrořízků v závislosti na kultivaci na rozdílných typech cytokininů v průběhu multiplikační fáze (průměr a směrodatná odchylka ze tří opakování)

Comparison of the average number of rooted plantlets from 20 microcuttings (values coupled from 3 experiments)

Cytokinin	Počet zakořeněných mikrořízků ± SD/Number of rooted plantlets ± SD	MeoBAPr	mT	BAP
MeoBAPr	15,3 ± 2,52	-	*	*
mT	8,7 ± 3,51	*	-	N. S.
BAP	7,0 ± 3,00	*	N. S.	-

\*) rozdíl na 0,05 hladině významnosti na základě Duncanovu testu/significant according to the Duncan's multiple range test at the 0.05 level

N. S. – not significant; SD – standard deviation

Srovnatelného výsledku při zakořeňování namnožených *in vitro* výhonů jeřábu břeku bylo dosaženo i po chladové expozici zdrojového materiálu (vícevrcholových kultur). Z hlediska efektivity (zkrácení doby nezbytné pro navození indukce rhizogeneze i ekonomická úspora s ohledem na nutnost pořízení chladové místnosti) je však výhodnější využití nového cytokininu MeoBAPr.

Aplikace poznatků o optimální koncentraci endogenních fytohormonů a o vlivu rozdílných exogenních cytokininů používaných v kultivačních médiích při mikropropagaci jeřábu břeku by mohla zlepšit účinnost zakořeňování *in vitro* nejen u jeřábu břeku, ale také u ostatních obtížně kořenících lesních dřevin.

Získané poznatky mohou přispět ke zlepšení účinnosti mikropropagace jeřábu břeku, využívaných při zachování genových zdrojů a u šlechtitelských programů zaměřených např. na zvýšení produkce a kvality dřevní hmoty.

#### Poděkování:

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného záměru č. MZE0002070203.

## LITERATURA

- ALTAMURA M. M., TORRIGIANI P., FALASCA G., ROSSINI P., BAGNI N. 1993. Morpho-functional gradients in superficial and deep tissues along tobacco stem: polyamine levels, biosynthesis and oxidation and organogenesis *in vitro*. *J. Plant Physiol.*, 142: 543-551.
- BATTUT A., GRENIER E., MARCH G. 1993. Micropropagation de *Sorbus torminalis* L. CRANTZ. *Rev. For. Fr.*, XLV: 284-288.
- BOLLMARK M., KUBÁT B., ELIASSON L. 1988. Variation in endogenous cytokinin content during adventitious root formation in pea cuttings. *J. Plant Physiol.*, 132: 262-265.
- CENTENO M. L., RODRÍGUEZ I., FEITO I., FERNÁNDEZ B. 1996. Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and morphogenic responses in *Actinia deliciosa* tissue cultures. *Plant Cell Rep.*, 16: 58-62.
- COELHO M. T., GRACA DIOGO M., CONSCIENCIA M., MARQUES F., GONCALVES J. C. 2005. Estudos na Fase de Rhizogénese de *Sorbus torminalis* (L.) CRANTZ Micropropagando. 5 congresso florestal Pascoa, Actas das Comunicacoes: 1-8.
- CVIKROVÁ M., HRUBCOVÁ M. 1999. The role of phenolic substances in the processes of differentiation and morphogenesis. In: Strnad M., Peč P., Beck E. (eds.): *Advances in Regulation of Plant Development*. Prague, Peres Publications: 213-220.
- DE KLERK G. J., HANEČÁKOVÁ J., JASIK J. 2001. The role of cytokinins in rooting of stem slices cut from apple microcuttings. *Plant Biosystems*, 135: 79-84.
- DEMESURE B., LEGUERROUÉ B., LUCCHI G., PRAT D., PETIT R. J. 2000. Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (CRANTZ). *Ann. For. Sci.*, 57: 63-71.
- DUIJČKOVÁ M., MALÁ J., CHALUPA V. 1992. Vegetativní rozmnožování břeku (*Sorbus torminalis* L. CRANTZ) a oskeruše (*Sorbus domestica* L.) *in vitro*. [Vegetative reproduction of *Sorbus torminalis* L. CRANTZ and *Sorbus domestica* L. *in vitro*.] *Práce VÚLHM*, 77: 27-48.
- DUNCAN D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1-42.
- HEJNÝ S., SLAVÍK B. 1992. Květena České republiky. Praha, Academia.
- CHALUPA V. 1992. Micropropagation of European mountain-ash (*Sorbus aucuparia* L.) and wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) Cr.). In: Bajaj Y. P. S. (ed.): *High-Tech and Micropropagation. II. Biotechnology in Agriculture and Forestry 18*. Berlin, Springer-Verlag: 211-226.
- LETHAM D. S., PALNI L. M. S. 1983. The biosynthesis and metabolism of cytokinins. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 34: 163-197.
- MALÁ J., KÁLAL J., CVRČKOVÁ H., CVIKROVÁ M., EDER J. 2000. The effect of reduction of exuded phenolic substances level on rooting of oak microcuttings. In: Cassels A. C., Doyle B. M., Curry P. F. (eds.): *Proc. Int. Symp. Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation*. Acta Hort, 530: 353-360.
- MALÁ J., MÁCHOVÁ P., CVRČKOVÁ H., ČÍŽKOVÁ L. 2005. Využití mikropropagace pro reprodukci genových zdrojů vybraných ušlechtilých listnatých dřevin (*Malus sylvestris*, *Pyrus pyraeaster*, *Sorbus torminalis*, *S. aucuparia* a *Prunus avium*). *Zprávy lesnického výzkumu*, 50: 219-224.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
- NAG S., SAHA K., CHOUDHURI M. A. 2001. Role of auxin and polyamines in adventitious root formation in relation to changes in compounds involved in rooting. *J. Plant Growth Regul.*, 20: 182-194.
- NOVÁK O., HAUSEROVÁ E., AMAKOROVÁ E., DOLEŽAL K., STRNAD M. 2008. Cytokinin profiling in plant tissues using ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*, 69: 2214-2224.
- SCHOLTEN H. J. 1998. Effect of polyamines on the growth and development of some horticultural crops in micropropagation. *Sci. Hort.*, 77: 83-88.
- STRNAD M. 1997. The aromatic cytokinins. *Physiol. Plant*, 101: 674-688.
- WERBROUCK S. P. O., VAN DER JEUGT B., DEWITTE W., PRINSEN E., VAN ONCKELEEN H. A. 1995. The metabolism of benzyladenine in *S. floribundum* SCHOTT 'Petite' in relation to acclimatization problems. *Plant Cell Rep.*, 14: 662-665.
- WERBROUCK S. P. O., STRNAD M., VAN ONCKELEEN H. A., DEBERGH P. C. 1996. Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture? *Physiol. Plant*, 98: 291-297.

## OPTIMALIZATION OF WILD SERVICE TREE MICROPROPAGATION

### SUMMARY

The wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) CRANTZ) is one of a scarce species among forest trees and occurs in scattered populations at low density in Central Europe. For long-term sustainability of wild service tree genetic resources, micropropagation technologies could prove to be useful. In micropropagation technology, 6-benzylaminopurine (BAP) is widely used as one of the most effective and affordable cytokinins. Nevertheless, it often induces disproportional growth or inhibition of rooting in a number of plant species (WERBROUCK et al. 1995, 1996) including the wild service tree.

The influence of three different aromatic cytokinin derivatives (6-benzylaminopurine, meta-topolin and 6-(3-methoxybenzylamino) purine-9- $\beta$ -D-ribofuranoside (MeoBAPr)) on *in vitro* multiplication and rhizogenesis of the wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) CRANTZ) was compared. The highest micropropagation rate (24 new shoots per explant after 3 months of cultivation) was achieved on media containing BAP. On the other hand, the best rooting microcuttings were those multiplied on a medium containing MeoBAPr. The lowest percentages of rooted plantlets 6 weeks after transferring shoots on rooting medium were found on explants multiplied on BAP. 85% of rooting rate of microcuttings of the wild service tree was achieved under the cold treatment during multiplication phase.

Recenzováno

---

#### ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

Ing. Pavlína Máchová, Ph.D., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.  
Strnady 136, 252 02 Jiloviště, Česká republika  
tel.: 257 892 268; e-mail: machova@vulhm.cz