

MNOŽENÍ TISU ČERVENÉHO (*TAXUS BACCATA* L.) IN VITRO JAKO MOŽNÝ PŘÍSPĚVEK K ZÁCHRANĚ A REPRODUKCI GENETICKÝCH ZDROJŮ TÉTO DŘEVINY V ČR

THE IN VITRO PROPAGATION OF COMMON YEW (*TAXUS BACCATA* L.) AS A POTENTIAL CONTRIBUTION TO PRESERVATION AND REPRODUCTION OF GENETIC RESOURCES OF THIS SPECIES IN THE CZECH REPUBLIC

PETR NOVOTNÝ - HELENA CVRČKOVÁ - PAVLÍNA MÁCHOVÁ - JANA MALÁ

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.

ABSTRACT

This contribution deals with possibility to preserve genetic resources of common yew (*Taxus baccata* L.) based on use of micropropagation methods of organogenesis in the Czech Republic. Methodology and microbiological methods for common yew are described including experimentally determined optimal composition of inductive, multiplied and rooted nutrient medium. Use of raised plant is demonstrated on concrete examples.

Klíčová slova: tis červený (*Taxus baccata* L.), mikropropagace, organogeneze, kultury in vitro, záchrana genetických zdrojů

Key words: common yew (*Taxus baccata* L.), micropropagation, organogenesis, in vitro cultures, genetic resources preservation

ÚVOD A CÍL PRÁCE

Tis červený (*Taxus baccata* L.) patří v České republice mezi chráněné dřeviny (vyhláška MŽP č. 395/1992 Sb.) v kategorii ohrožený druh. Vyskytuje se v několika zbytkových různě početných a navzájem víceméně izolovaných populacích. Zachování tohoto druhu v stanovištně odpovídajících lesních porostech má význam pro udržení druhové diverzity.

V potenciální přirozené vegetaci ČR (NEUHÄUSLOVÁ et al. 1998) je tis uváděn ve svazu suťových lesů (*Tilio-Acerion*). Ten je tvořen trvalými společenstvy listnatých, zřídka smíšených lesů s tisem nebo jedlí na sutích a balvanitých rozpadech s nevyzrálými půdami v kolinním až montánním stupni. MORAVEC et al. (2000) jej uvádějí konkrétně z asociace *Aceri-Carpinetum*, která má centrum rozšíření v Křivoklátské vrchovině a Karlštejnské pahorkatině. Dále postupuje údolím Vltavy do předhoří Šumavy, proniká do údolí Sázavy, Lužnice a Otavy, na západ pak podél Berounky, Střely a jejich přítoků až k Plzni. Souvislejší lokality se nacházejí ještě v pásu amfibolitů Chudenické vrchoviny, malá arela pak na minerálně bohatých vyvělinách Českého středohoří a fragmenty ještě po okraj Lužických hor a do předhoří Orlických hor. Na Moravě jsou hlavní centra v členitých údolích Brněnské vrchoviny (Moravský kras, Adamovská vrchovina). Fragmenty vápnomilného křídla asociace zasahují až do Pavlovských vrchů (MORAVEC et al. l. c.). Tyto oblasti lze tedy považovat za hlavní zájmové území případných repatriačních prací s tisem.

Vedle konzervace existujících populací in situ je cílem záchranu genofondu lesních dřevin zajistit generativní i vegetativní reprodukci u těch populací, u nichž z různých důvodů (v případě tisů zejména škody spárkatou zvěří) nedochází k přirozené obnově. Jednou z možností vegetativní reprodukce je stále více se uplatňující využití biotechnologických postupů in vitro, kterými lze rychle a ekonomicky

výhodně namnožit kvalitní sadební materiál z vybraných donorových jedinců a zároveň zakládat explantátové banky, v nichž je původní sadební materiál uchovávan pro další účely (klonové archivy, semenné sady, analýzy genetické variability, výsadby do porostů aj.). Další z nepřehlédnutelných výhod mikropropagačních postupů je možnost namnožení vysokého počtu identických jedinců z jediného kvalitního dárce v relativně krátkém časovém období, přičemž množství odebíraného materiálu pro založení primárních kultur (většinou meristemická pletiva zimních pupenů) je minimální a odběr dárcovský strom nepoškozuje. Dostatečná genetická variabilita je zaručena vhodným klonovým složením výchozí in vitro množitelské populace. Tento způsob množení je u tisů, jakožto dvoudomé dřeviny, navíc výhodný v tom, že lze do rozmnožování zapojit jedince obou pohlaví, kteří „neplodí“ např. z důvodu nízkého věku, izolace, případně vysokého stupně zastínění aj.

Nejúspěšnější metodou, která se osvědčila pro klonové množení zejména listnatých dřevin, je organogeneze. Klonové množení jehličnatých a listnatých dřevin z primárních explantátů je podmíněno vypracováním vhodných technologických postupů umožňujících indukci organogeneze, která musí být následována úspěšnou regenerací v kompletní rostlinu. Základními mechanismy uplatňujícími se při růstových pochodech jsou dereprese meristémů výhonů (axilárních pupenů) a reorganizace meristémů výhonů (adventivních pupenů). Široké využití má tato metoda právě v případech, kdy je nutné získat klony vyselektovaných dílčích populací stromů při nedostatečné fruktifikaci, zničení semen hmyzem, selhání jiných způsobů vegetativní reprodukce (řízkování, roubování) aj. Hlavním předpokladem úspěšné organogeneze je zajištění vhodných kultivačních podmínek. Neméně významně ovlivňují úspěšnost organogeneze i takové faktory, jako je stáří a fyziologický stav dárcovského jedince (MALÁ 2000a).

Systematická práce s druhem tis červený (*Taxus baccata* L.) na útvaru biologie a šlechtění lesních dřevin začala v letech 1996 a 1997, kdy byly společně pro tis červený, hrušeň polničku (*Pyrus pyraeaster* /L./ BURGSDORF) a jeřáb sudetský (*Sorbus sudetica* /TAUSCH/ BLUFF, NEES et SCHAUER) experimentálně stanovovány podmínky pro založení kultur in vitro z dospělých stromů (proces rejuvencizace), které tehdy nebyly v odborné literatuře popsány. Byly vyhledány a zaevidovány populace vhodné k odběru výchozího materiálu pro založení primárních explantátových kultur. Práce byly navíc rozšířeny o další druhy dřevin – jeřáb břek (*Sorbus torminalis* /L./ CRANTZ), jeřáb oskeruší (*Sorbus domestica* L.) a třešeň ptačí (*Prunus avium* /L./ L.). Jednotlivé klony byly namnoženy s využitím metodiky indukce organogeneze na zimních pupenech. Předmětem studia bylo zjištění vhodných kultivačních podmínek, zejména chemického složení živného média, teploty, vlhkosti a světla, dále vhodná doba sběru materiálu, skladování, povrchová sterilizace, preparace explantátu z dárce, vliv věku a fyziologického stavu donorového jedince (MALÁ 1997).

Cílem tohoto příspěvku je podat informaci o některých výsledcích, týkajících se tisů červeného, kterých bylo dosaženo v útvaru biologie a šlechtění lesních dřevin Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. Jde především o výsledky projektu, který se zabýval zakládáním množitelských populací okrajových a ohrožených lesních dřevin in vitro, jejich uchováním a evidencí, včetně vypracování standardních postupů pro dopěstování kompletních rostlin za účelem repatriace a získání reprodukčního materiálu pro další šlechtitelské záměry.

MATERIÁL A METODIKA

Pro *Taxus baccata* L. byl rostlinný materiál (zimní pupeny) sbírán v přírodní lesní oblasti 10 – Středočeská pahorkatina na lokalitách Drbákov a Štěchovice. Na obou lokalitách bylo za účelem zjištění schopnosti mikropropagace dospělých stromů sebráno po deseti klonech, které jsou v evidenci Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i. Pro založení primárních kultur ze zimních pupenů dospělých stromů tisů bylo v březnu 1997 od každého klonu izolováno 30 pupenů, které byly po sterilizaci v roztoku 0,01% HgCl₂ a v 1% roztoku SAVO třikrát promyty sterilizovanou vodou a umístěny na živná média. K indukci organogeneze byla testována modifikovaná média WPM₁, WPM₂ a MS (tab. 1). Kultivace probíhala v klimatizovaných podmínkách při 24 °C, bílém fluorescenčním světle (30 μmol.m⁻².s⁻¹) a 16hodinové fotoperiodě.

Po indukční fázi (3 až 6 týdnů) byly kultury přesazeny na modifikovaná multiplikační média (tab. 2), na kterých byl experimentálně ověřován jejich vliv na velikost množitelského koeficientu výhonů. Po 3 až 4 pasážích se vytvořila vícevrcholová kultura, ze které byl odebrán materiál do explantátové banky a materiál pro dopěstování kompletních rostlin (MALÁ 2000a).

Pro tento účel byla vypracována metodika, kdy pro indukci rhizogeneze adventivních výhonů (obr. 1) byla testována média se zvýšeným obsahem auxinů, sníženým obsahem sacharosu a sníženou koncentrací makro- a mikroelementů (tab. 3). Zakořeňování probíhala za stejných kultivačních podmínek jako indukce organogeneze a multiplikace. Pro zvýšení procenta zakořeňování probíhala jeho první

Tab. 1.

Složení testovaných modifikovaných médií k indukci organogeneze
Composition of tested modified mediums for induction of organogenesis

Médium/ Medium	BAP [mg.l ⁻¹]	IBA [mg.l ⁻¹]	Glutamin [mg.l ⁻¹]	Glycin [mg.l ⁻¹]	Casein [mg.l ⁻¹]	Agar [g.l ⁻¹]	Sacharosa [g.l ⁻¹]	Úprava/ Adjustment pH
WPM ₁	0,2	0,1	0	2	200	6	30	5,8
WPM ₂	0,6	0,2	0	2	200	6	30	5,8
MS	0,6	0,2	0	2	200	6	30	5,8

WPM médium (Woody Plant Medium) podle LLOYD, MCCOWN (1981)

MS médium podle MURASHIGE, SKOOG (1962)

BAP 6-benzylaminopurin

IBA kyselina β-indolylmásečná

Tab. 2.

Složení testovaných modifikovaných multiplikačních médií
Composition of tested modified multiplication mediums

Médium/ Medium	BAP [mg . l ⁻¹]	IBA [mg . l ⁻¹]	Glutamin [mg . l ⁻¹]	Glycin [mg . l ⁻¹]	Casein [mg . l ⁻¹]	Agar [g . l ⁻¹]	Sacharosa [g . l ⁻¹]	Úprava/ Adjustment pH
WPM ₁	0,2	0,1	200	2	200	6	30	5,8
WPM ₂	0,4	0,1	400	2	0	6	30	5,8
WPM ₃	0,2	0,1	400	2	400	6	30	5,8

fáze (7 dnů) ve tmě. Následně byly mikrořízky přesazeny na světlo na médium identického složení bez fytohormonu.

Rostliny s vyvinutým kořenovým systémem byly přesazeny do agropertlitu a jednou denně zalévány bazálním médiem MS ředěným 1 : 10 destilovanou vodou. Aklimatizace probíhala ve stejných kultivačních podmínkách jako předchozí fáze, pouze s tou změnou, že výpěstky byly osvětlovány bez přerušování. Po čtrnácti dnech byly rostliny přesazeny do nesterilního substrátu (obr. 2) a poté převezeny do skleníku Experimentální školky Baně, detašovaného pracoviště útvaru biologie a šlechtění lesních dřevin, kde byly postupně adaptovány na 70% relativní vzdušnou vlhkost. Pro dopěstování byly použity obaly BCC Growing trays. Po aklimatizaci byly výpěstky vysazeny na přistíněné venkovní záhony školky (MALÁ 2000a).

VÝSLEDKY

Na základě experimentálního testování chemického složení živných médií pro kultivaci tisů červeného v podmínkách in vitro se nejlépe osvědčilo indukční médium WPM₁, pro namnožení adventivních výhonů pak multiplikační médium WPM₁. Růstové médium MS se pro indukční fázi růstu neosvědčilo (MALÁ 2000a). Pro rhizogenezi rostlin *Taxus baccata* L. se experimentálně osvědčilo zakořeňovací médium MS₂.

Při ověřování vypracovaného postupu na konkrétních klonech ve spolupráci se zainteresovanými organizacemi ochrany přírody a krajiny se podařilo z lokality Štěchovice stabilizovat explantátové kultury u 8 klonů, z Drbákova u 5 klonů, tj. 65 % z celkového počtu sebraných klonů. Za stabilizované kultury se považují ty, které rostly a vytvářely další adventivní výhony. V případě tisů je růst výhonů pomalý (průměrně 2 cm za 6 týdnů) a počet nových adventivních výhonů představuje 2 až 3 výhony na kulturu. Rychlost růstu i počet výhonů na kulturu je ve srovnání s jinými druhy nízký, zřejmě souvisí s fyziologickými vlastnostmi této dřeviny (MALÁ 1997). Průměrný počet výhonů ve fázi multiplikace pro postupně rozšířený počet klonů tisů byl ještě nižší (1,5), šlo o nejnižší počet ze všech sledovaných dřevin (MALÁ 2000a).

Celkově byl odebrán explantátový materiál z 59 jedinců *Taxus baccata*, z nichž rostlo v explantátové bance ve Strnadlech 32 klonů, tj. 54 % (MALÁ 2000a). Úspěšnost zakořeňování a aklimatizace se pohybovala mezi 80 až 90 %. Na zvýšení počtu zakořeňovaných rostlin (téměř o 20 %) se kladně podílela iniciace kořenění ve tmě. Aklimatizace probíhala bez komplikací, úhyn nepřesahoval 2 %. Veliká pozornost byla věnována vhodným typům sadbovačů pro dopěstování

kválení kvalitního kořenového systému. Osvědčily se sadbovače firmy BCC Growing trays, které nebrání rozvoji kořenů. Jejich předností je zejména to, že nemají pevné dno a kořeny rostlin se mohou řádně vyvíjet. Dalšími výhodami jsou rozměr a kónický tvar sadbovačů, které jsou ideální pro růst kosterních kořenů a dále rozmístění podélných náliček na vnitřních stěnách sadbovačů, které rovněž napomáhají správnému vývoji kořenového systému.

V roce 2000 byl podle požadavků správy CHKO Slavkovský les připraven materiál pro repatriční účely. Byly vybrány klony uchovávané v explantátové bance Výzkumného ústavu ve Strnadlech, jejichž donorové jedinci pocházeli ze Středočeské pahorkatiny (lokality Štěchovice – Bojovský potok). Započalo se s přípravou materiálu z kultur in vitro těchto klonů, tj. s jejich zakořeňováním, aklimatizací a výsadbou na venkovní záhony (MALÁ 2000b, 2001). V roce 2003 bylo předáno 40 ks výpěstků in vitro (10 klonů po 4 exemplářích) k repatriaci na lokalitu dřívějšího předpokládaného výskytu, kde měly být individuálně chráněny (MALÁ 2003).

Pro rozšíření množitelské populace tisů na lokalitě v CHKO Slavkovský les (zvýšení genetické variability repatriované populace) byly v březnu 2004 odebrány dormantní pupeny z 10 tisů z Křivoklátska. Proběhlo rovněž šetření na lokalitě Štěchovice – Bojovský potok s ohledem na zjištění poměru pohlaví. Bylo sledováno ca 50 náhodně zvolených stromů, u kterých byl zjištěn poměr samičích a samičích rostlin přibližně 1 : 1. Cílem projektů na repatriaci vegetativně namnoženého materiálu by mělo být i zachování tohoto poměru v syntetické populaci. Z nově odebraných stromů byly založeny primární kultury. Po sterilizaci materiálu se extirpované pupeny umístily na indukční médium. Po 8 týdnech byly prorostlé vzrostné vrcholy přesazeny na multiplikační médium. Na venkovních záhonech byly současně dopěstovávány sazenice generativního původu z Křivoklátska v počtu ca 100 ks (MALÁ 2004). Část tohoto materiálu byla předána pracovníkům ochrany přírody.

DISKUSE

Mikropropagační technologie lze s úspěchem využít u řady druhů listnatých dřevin (LIBBY, AHUJA 1993). Od zahájení intenzivního výzkumu mikropropagačních technologií lesních dřevin bylo o vývoji výpěstků in vitro ve venkovních podmínkách dosaženo významných poznatků a bylo prokázáno, že rychlost a jiné parametry růstu jsou srovnatelné se sazenicemi generativního původu (BOULAY, FRANCLLET 1977, CORNU, CHAIX 1981, HAMMATT 1999, JURÁSEK, MALÁ 2000). V laboratoři Výzkumného ústavu lesního

Tab. 3.

Složení testovaných modifikovaných zakořeňovacích médií
Composition of tested modified rooting mediums

Médium/Medium	IBA [mg.l ⁻¹]	Agar [g.l ⁻¹]	Sacharosa [g.l ⁻¹]	Úprava/Adjustment pH
MS ₁ (1/3 koncentrace)	0,5	6	10	5,8
MS ₂ (1/4 koncentrace)	0,5	6	10	5,8
MS ₃ (1/4 koncentrace)	5,5	6	10	5,8
WPM ₁ (1/4 koncentrace)	3,0	6	10	5,8
WPM ₂ (1/4 koncentrace)	5,5	6	10	5,8

hospodářství a myslivosti, v. v. i., se podařila indukce organogeneze z meristému zimních pupenů u všech v úvodu zmíněných druhů dřevin, přičemž pro endemité druhy jeřábů *S. bohemica*, *S. sudeutica*, *S. eximia* a pro břízu trpasličí *Betula nana* byly vypracovány původní postupy. Úspěšnost při zakládání primárních kultur, rychlost multiplikace a zakořeňování se u jednotlivých druhů i klonů lišily, avšak u všech druhů se podařilo dopěstovat kompletní rostliny, které úspěšně pokračují v růstu na venkovních záhonech nebo již na demonstračních objektech. Úspěšnost při zakládání primárních kultur je závislá vedle vitality pupenů, stáří donorového jedince, doby odběru apod. i na možnostech sterilizace primárních explantátů. Nedostatečná sterilizace rostlinného materiálu je nejčastější příčinou odumření explantátů. Ztráty při zakládání primárních kultur mohou však být způsobeny i poškozením odebíraného výchozího materiálu suchem, mrazem nebo sekundárními parazitickými houbami.

V roce 1998 byla uzavřena dohoda s LČR, s. p., o vypěstování sazenic tisů červeného ze semene dodaného lesní správou Křivoklát v počtu ca 2 000 ks s předpokládaným množstvím 400 ks vypěstovaných sazenic. Semena tisů byla vyseta, avšak během zimy došlo k totálnímu zničení výsevu myšovitými hlodavci.

Rovněž na základě požadavků CHKO Beskydy bylo započato s přípravnými pracemi zamýšleného projektu záchraně beskydského tisů s využitím biotechnologických postupů. Šlo o návrh opatření k zajištění uchování genofondu tisů přežívajících na předmětných lokalitách. Návrh měl zahrnovat asanaci stávajících lokalit, využití vegetativních metod při reprodukci zachovaných jedinců a návrh na založení klonového archivu a semenného sadu (MALÁ 2001). Na tento projekt se však bohužel nepodařilo zajistit finanční prostředky.

V roce 2005 byla metodika reprodukce tisů in vitro ověřena na biologickém materiálu pocházejícího se severních Čech, kde v současné době probíhá spolupráce Výzkumného ústavu se správou CHKO Lužické hory při výzkumu tamní populace a jejím posilování repatriačními výsadbami (NOVOTNÝ et al. 2007).

ZÁVĚR

Zárukami genetické kvality mikropropagovaných výpěstků je sběr zdrojového rostlinného materiálu z kvalitních dárců, což nelze u zbytkových populací tisů červeného vždy dodržet. V každém případě je však nutno snažit se o dodržení vhodného počtu klonů při vytváření syntetické populace. Za situace, kdy někteří jedinci zbytkové populace neplodí a rovněž v případě samčích exemplářů, je možno počet klonů syntetické populace pro repatriační účely o tento zdrojový materiál navýšit pouze jeho vegetativním rozmnožením. Výhodou sazenic in vitro původu oproti řízkovancům je jejich normální morfologický vývoj a tudíž i správné plnění ekologického postavení v lesním porostu. Morfologická kvalita výpěstků je zaručena dodržováním technologických postupů při dopěstování sazenic, včetně volby vhodné obalové techniky. Vzhledem k nadějným výsledkům by další experimenty měly být směřovány na rozšíření počtu stabilizovaných klonů a optimalizaci multiplikační fáze.

Poznámka:

Problematika byla postupně řešena v rámci trvalého pověření MZe, výzkumného projektu NAZV č. QC1277, a výzkumného záměru MZe č. 0002070202.



Obr. 1.

Explantát tisů červeného s primárními kořínky vyvinutými v agarovém médiu

Explant of common yew with primary roots developed in agar medium



Obr. 2.

Tis červený in vitro původu s již plně funkčním kořenovým systémem po přesazení do nesterilního substrátu

Common yew of in vitro origin with already fully function rooting system after transferring into non-sterile substrate

LITERATURA

- BOULAY, M., FRANCLLET, A. Recherches sur la propagation vegetative de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO. Possibilités d'obtention de plante viables a partir de la culture in vitro de bourgeons de pieds – meres juveniles. CR Acad. Sci., 1977, vol. 284, s. 1405-1407.
- CORNU, D., CHAIX, C. Multiplication par culture in vitro de merisiers adultes (*Prunus avium*). In Proc. IUFRO Sect S2 01. 5th Int. Workshop „In vitro“ Cultivation for Tree Species, Fontainebleu, France, 1981. s. 71-79.
- HAMMATT, T. Delayed flowering and reduced branching in micropropagated mature wild cherry (*Prunus avium* L.) compared with rooted cuttings and seedlings. Plant Cell Rep., 1999, vol. 18, s. 478-484.
- JURÁSEK, A., MALÁ, J. Zkušenosti s kvalitou sadebního materiálu z autovegetativního množení při pěstování ve školce a při obnově lesa. In Kontrola kvality reprodukčního materiálu lesních dřevin. Sborník, Opočno 7. – 8. 3. 2000. s. 81-90.
- LIBBY, W. J., AHUJA, M. R. Micropropagation and clonal options in forestry. In Ahuja, M. R. (ed.): Micropropagation of Woody Plants. Kluwer Acad. Publishers, 1993. s. 425-442.
- LLOYD, G., MCCOWN, H. B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. Proc. Intern. Plant. Propag. Soc., 1981, vol. 30, s. 421-427.
- MALÁ, J. Zachování a reprodukce genových zdrojů okrajových a ohrožených lesních dřevin s využitím moderních biotechnologických metod. Výroční zpráva projektu NAZV QC1277. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 1997. 14 s.
- MALÁ, J. Zachování a reprodukce genových zdrojů okrajových a ohrožených lesních dřevin s využitím postupů moderních biotechnologických metod. Výroční zpráva projektu NAZV QC1277. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 1999. 14 s.
- MALÁ, J. Zachování a reprodukce genových zdrojů okrajových a ohrožených lesních dřevin s využitím moderních biotechnologických metod. Závěrečná zpráva projektu NAZV QC1277. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 2000a. 19 s.
- MALÁ, J. Expertní a poradenská činnost pro vlastníky lesa v oboru biotechnologií. Výroční zpráva trvalého pověření MZe. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 2000b. 7 s., přílohy.
- MALÁ, J. Expertní a poradenská činnost pro vlastníky lesa v oboru biotechnologií. Výroční zpráva trvalého pověření MZe. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 2001. 8 s., přílohy.
- MALÁ, J. Expertní a poradenská činnost pro vlastníky v oboru biotechnologií. Výroční zpráva trvalého pověření MZe. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 2003. 15 s., přílohy.
- MALÁ, J. Expertní a poradenská činnost pro vlastníky v oboru biotechnologií. Výroční zpráva trvalého pověření MZe. Jíloviště-Strnady: VÚLHM, 2004. 11 s., přílohy.
- MORAVEC, J., HUSOVÁ, M., NEUHÄUSLOVÁ, Z. Hygrofilní, mezofilní a xerofilní opadavé lesy. In Moravec, J.: Přehled vegetace České republiky. Svazek 2. Praha: Academia, 2000. 319 s.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plants., 1962, vol. 15, s. 473-479.
- NEUHÄUSLOVÁ, Z., BLÁŽKOVÁ, D., GRULICH, V., CHYTRÝ, M., JENÍK, J., JIRÁSEK, J., KOLBEK, J., KROPÁČ, Z., LOŽEK, V., MORAVEC, J., PRACH, K., RYBNÍČEK, K., RYBNÍČKOVÁ, E., SÁDLO, J. Mapa potenciální přirozené vegetace České republiky. Textová část. Praha: Academia, 1998. 341 s.
- NOVOTNÝ, P., HROZEK, A., IVANEK, O., HLAVÁČEK, J., FRÝDL, J. Opatření k záchraně a reprodukci genetických zdrojů tisů červeného (*Taxus baccata* L.) na území CHKO Lužické hory. Dílčí závěrečná zpráva výzkumného záměru č. MZe 0002070202. Strnady: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., 2007. 96 s., přílohy.
- Vyhláška č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona České národní rady č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny. Sbírka zákonů Česká republika, 1992, č. 80, s. 2212-2246.

THE IN VITRO PROPAGATION OF COMMON YEW (*TAXUS BACCATA* L.) AS A POTENTIAL CONTRIBUTION TO PRESERVATION AND REPRODUCTION OF GENETIC RESOURCES OF THIS SPECIES IN THE CZECH REPUBLIC

SUMMARY

In the Czech Republic common yew (*Taxus baccata* L.) belongs to the preserved tree species (Decree no. 395/1992 Coll.) classified into the category endangered tree species. It occurs in a few residual populations varying in number of individuals and isolated more or less one from another. Preservation of this species in forest stands with sites suitable for common yew is important for maintenance of species diversity.

Besides conservation of existed populations in situ the preservation of forest trees species gene pool is aimed at ensuring the generative and vegetative reproduction for the populations in which, from many reasons, the natural regeneration fails. Biotechnological method in vitro is one of the possibilities of vegetative reproduction still more applied. The most successful method is organogenesis proving its suitability for clonal regeneration above all of deciduous tree species. Ensuring of suitable conditions for cultivation is principal for successful organogenesis.

This work focuses on development of methodology for successful cultivation of common yew in vitro, i. e. induction of organogenesis, multiplication, induction of rhizogenesis finished by cultivation of plantable material corresponding with repatriation demands.

Chemical composition of nutrient media for in vitro common yew cultivation was tested proving that the most suitable is modified induction medium WPM₁; for reproduction of adventitious shoots it is modified induction medium WPM₁. Rhizogenesis of *Taxus baccata* L. plants is the best with modified rooted medium MS₂.

These results were verified on the concrete clones on some localities in the Czech Republic in cooperation with concerned organizations dealing with protected nature and landscape. Establishment of primary common yew culture was successful in 54 %; rooting and acclimatization were ranging between 80 to 90 %. In 2003, 40 cultivars were given for repatriation in the Protected Landscape Area Slavkovský les. In 2005 methodology for common yew in vitro reproduction was verified on biological material originated from the northern Bohemia (Protected Landscape Area Lužické hory Mts.).

When a synthetic population is bred, it is necessary to ensure a certain minimal amount of clones. In case that some individuals within the residual population do not produce or in case of male specimens, number of clones within the synthetic population can be enhanced only by its vegetative regeneration. Unlike the cuttings advantage of plants of in vitro origin is their normal morphological development and thus the appropriate fulfilling of ecological position in forest stand. Morphological quality of cultivars is ensured by keeping technological processes during finishing of plants breeding including option of suitable container technique. With regard to good results further experiments should be oriented onto extension of stabilized clones and optimalization of multiplication phase.

Recenzováno

ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

Ing. Petr Novotný, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.
Strnady 136, 252 02 Jíloviště, Česká republika
tel.: 257 892 228; e-mail: pnovotny@vulhm.cz