

POROVNÁNÍ RŮSTOVÝCH SCHOPNOSTÍ *IN VITRO* SAZENIC RŮZNÝCH DRUHŮ DŘEVIN NA PLOŠE „POLNÁ II“

COMPARISON OF *IN VITRO* PLANTS WITH GENERATIVE PLANTS ON THE DEMONSTRATION PLOT „POLNÁ II“

JAROSLAV DOSTÁL - HELENA CVRČKOVÁ - PETR NOVOTNÝ

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

ABSTRACT

Growth and development of *in vitro* plants in wild pear, crab apple, small-leaved linden, European aspen, European white elm and wych elm were investigated on research plot Polná II for four years. Every *in vitro* plants grew in the same environmental conditions. Growth and development parameters of plantlets were compared and calculated by analysis of variance (ANOVA). There are differences between *in vitro* plants but no differences are between small-leaved linden - European white elm, European white elm - wych elm on 95% significance level. Increased mortality of seedlings, caused by rodents, was observed in some years.

Klíčová slova: mikropropagace, hrušeň polnička (*Pyrus pyrastrer*), jabloň lesní (*Malus sylvestris*), lípa srdčitá (*Tilia cordata*), topol osika (*Populus tremula*), jilm vaz (*Ulmus laevis*), jilm horský (*Ulmus glabra*), růst

Key words: micropropagation, wild pear (*Pyrus pyrastrer*), crab apple (*Malus sylvestris*), small-leaved linden (*Tilia cordata*), European aspen (*Populus tremula*), European white elm (*Ulmus laevis*), wych elm (*Ulmus glabra*), growth

ÚVOD A CÍL PRÁCE

Nutnost zachování genetických zdrojů lesních dřevin a současně rychlého klonového množení vhodných produktivních a rezistentních variant vedou šlechtitelská pracoviště k orientaci výzkumu na využití moderních biotechnologických metod, které doplňují běžné šlechtitelské postupy. Navíc umožňují rychlé klonové množení vyselektovaných genotypů a překonání fyziologických bariér (např. dlouhověkost, prodlužující se mnohaleté intervaly mezi semennými roky nebo pozdní nástup reprodukce).

Vedle konzervace existujících populací *in situ* je jedním z cílů lesnického šlechtitelství zajistit generativní i vegetativní reprodukci u těch populací, u nichž, ať už z důvodů průmyslových imisí, poškození hmyzem, houbovými chorobami nebo nepřiměřené těžby, 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 vypěstovat kvalitní sadební materiál z vybraných dárcovských jedinců a zároveň zakládat explantátové banky, v nichž lze původní materiál uchovávat pro další účely (zakládání klonových archivů, semenných sadů, studium genetické variability, venkovní výsadby aj.) (MALÁ et al. 1999).

Ačkoliv zachování, stabilizace a obnova původních reziduálních populací lesních dřevin a udržení druhové rozmanitosti lesních porostů patří k hlavním úkolům současného lesnictví, nelze na druhé straně opomíjet nezanedbatelnou vlastnost lesa, tj. schopnost poskytovat obnovitelným způsobem materiál, resp. energii. Současným trendem, který má zajistit dostatečnou produkci dřevní hmoty, je „klonové lesnictví“, tedy pěstování elitních genotypů namnožených biotechnologickými postupy. U jehličnatých dřevin je s tímto cílem intenzivně studována především somatická embryogeneze. Lignikultury s krátkou dobou obměty, založené z několika málo klonů, jsou běžně pěstovány na Novém Zélandu, v Austrálii, ve Spojených státech, Japonsku,

v Evropě pak především ve Francii.

Mikropropagační postupy umožňují namnožení v podstatě neomezeného počtu identických jedinců z jediného kvalitního dárce, přičemž množství odebíraného rostlinného materiálu pro založení primárních kultur (většinou meristematického pletiva zimních pupenů) je minimální a dárcovský strom neohrožuje. Zárukou genetické kvality mikropropagovaných výpěstků je sběr rostlinného materiálu ze stromů uznaných jako kvalifikovaný zdroj reprodukčního materiálu (zákon č. 149/2003 Sb.) nebo dalších kvalitních stromů s význačnými cenovými znaky a rovněž dodržení vhodného počtu klonů při přípravě syntetické směsi. Pro lesnické účely je nezbytné, aby regenerované potomstvo bylo geneticky totožné s donorovým stromem, tzv. „true-to-type“ (AHUJA 1987).

Sledování růstu a vývoje lesních dřevin namnožených mikropropagací probíhá ve venkovních podmínkách s ohledem na dlouhověkost těchto organismů teprve relativně krátkou dobu (20 – 30 let). V České republice započalo sledování vývoje a růstu výpěstků *in vitro* v roce 1994 v rámci výzkumných projektů VÚLHM Jíloviště-Strnady na výsadbách venkovních ploch lokalizovaných na školním poli VOŠL a SLŠ Bedřicha Schwarzenberga v Písku (výpěstky *in vitro* smrku ztepilého a douglasky tisolisté). Další výsadby materiálu *in vitro* původu byly následně uskutečněny v různých částech ČR i pro další druhy dřevin (dub letní, třešeň ptačí, jeřáb oskeruše, jeřáb břek, jeřáb ptačí, lípa srdčitá, topol osika aj.).

Cílem tohoto příspěvku je vyhodnocení biometrických měření hrušně polničky, jabloně lesní, lípy srdčité, topolu osiky, jilmu vaz a jilmu horského ve věku 5 – 6 let na pokusné výsadbě Polná II, statistické vyhodnocení výsledků a jejich porovnání s předchozími sadami měření v mladším věku. Důraz je kladen na zhodnocení proměnlivosti zjišťovaných veličin ve vztahu k druhu dřeviny.

MATERIÁL A METODIKA

Výzkumná plocha se nachází v přírodní lesní oblasti 16 – Českomoravská vrchovina na lokalitě Březina, která spadá do polesi lesního družstva Polná. Nachází se v porostu 536 J15, hospodářském souboru 53 – kyselá stanoviště vyšších poloh, lesním typu 5S1. Geologický podklad tvoří biotitické pararuly, půda patří k mezotrofním až oligotrofním hnědým půdám. Nadmořská výška činí 550 – 560 m n. m., expozice je jihovýchodní, sklon do 10 %. Průměrná roční teplota je 7 °C, průměrné roční srážky dosahují 650 – 700 mm, výzkumná plocha se nachází v klimatické oblasti mírně teplé, v okrsku vlhkém, průměrná délka vegetační doby je 153 dní.

Výsadba byla provedena do pruhů. Použitý spon výsadby byl 1,5 × 1,5 m, u topolu osiky 1,5 × 2,0 m. Vysazeno bylo 300 ks výpěstků *in vitro* hrušně polničky, 316 ks výpěstků *in vitro* jabloně lesní, 499 ks výpěstků *in vitro* lípy srdčité, 42 ks výpěstků *in vitro* jilmu vazy, 15 ks výpěstků *in vitro* jilmu horského a 219 ks výpěstků *in vitro* topolu osiky. Plocha je pravidelně jednou ročně měřena (výška).

Pro získání sazenic původu *in vitro* byly vybrány mikropropagované klony výše uvedených dřevin z archivu explantátů Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., ve Strnadlech. Na úspěšné dopěstování výsadbyschopných výpěstků *in vitro* byl použit dříve již rozpracovaný systém, který spočívá v indukci rhizogeneze u mikrořízků v agarovém médiu, dále v přesazení zakořeněných mikrořízků do sadbovačů s perlitem (kde již dochází k funkční strukturalizaci kořenového systému) a v přesazení sazenic do zahradnického substrátu. Současně je snižována vzdušná vlhkost na 70 %. Pro tuto vývojovou fázi výpěstků je nejvhodnější konstantní teplota 22 °C a vysoká intenzita osvětlení (24hodinové osvětlení bílým fluorescenčním světlem 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) (MALÁ 2001).

Pro vytvoření kvalitního kořenového systému sazenice je nutné použít vhodný typ sadbovačů. Byly použity osvědčené sadbovače kónického tvaru bez pevného dna s podélnými nálitky na vnitřní straně, které napomáhají správnému vývoji kořenové soustavy.

Některé klony výpěstků *in vitro* jilmu habrolistého byly rovněž napěstovány v provozních podmínkách Laboratoře Olešná z kultur *in vitro*,



Obr. 1.
Pohled na část výzkumné plochy Polná II po výsadbě (rok 2007)
Part of research plot Polná II after outplanting (2007)



Obr. 3.
Pohled na část výzkumné plochy Polná II v roce 2009
Part of research plot Polná II in 2009



Obr. 2.
Pohled na část výzkumné plochy Polná II v roce 2008
Part of research plot Polná II in 2008



Obr. 4.
Pohled na část výzkumné plochy Polná II v roce 2009
Part of research plot Polná II in 2009

dodaných tomuto pracovišti z archivu explantátů VÚLHM Jíloviště-Strnady. Všechny výpěstky *in vitro* pak byly dopěstovány a adaptovány na venkovní prostředí ve školce Olešná. Kvalita sadebního materiálu byla hodnocena na základě stejných kritérií, jaká jsou požadována u sadebního materiálu generativního původu (ČSN 48 2115).

Výsadba 2 – 3letých výpěstků *in vitro* dřevin byla provedena na jaře v roce 2006. Rozmístění klonů na ploše bylo po výsadbě zaznamenáno do schématického plánu výsadby. Demonstrační plocha je dosud oplocena. Výpěstky *in vitro* jsou hodnoceny z hlediska jejich růstových a morfologických parametrů.

U všech stromů na ploše byla měřena výška měřickou latí s přesností na 1 cm. Rozdíly mezi přírůstem sazenic jednotlivých dřevin byly hodnoceny metodou analýzy variance (ANOVA) a Scheffého metodou pomocí statistického programu QC Expert 3.1.

VÝSLEDKY

Na demonstrační ploše Polná II byl v letech 2007 až 2009 pravidelně sledován růst a vývoj výpěstků, byla zjišťována míra přežívání a probíhalo měření výšek.

Růstové charakteristiky za jednotlivé roky pro *in vitro* výpěstky na demonstrační ploše Polná II jsou uvedeny v tabulce 1 a znázorněny v grafu 1. Podle zjištěných hodnot lze konstatovat, že podzimní ztráty výpěstků *in vitro* v roce výsadby (2007) činily 35 % u hrušně polničky, 8,9 % u jabloně lesní, 7,6 % u lípy srdčité, 24,2 % u topolu osiky, 19 % u jilmu vazu a 0 % u jilmu horského. V následujícím roce (2008) byly u výpěstků *in vitro* ztráty 0,5 % u hrušně polničky, 3,8 % u jabloně lesní, 0,7 % u lípy srdčité, 2,4 % u topolu osiky, 0 % u jilmu vazu a 0 % u jilmu horského. V roce 2009 byly u výpěstků *in vitro* ztráty 1,0 % u hrušně polničky, 1,4 % u jabloně lesní, 1,7 % u lípy srdčité, 1,2 % u topolu osiky, 0 % u jilmu vazu a 0 % u jilmu horského. Porovnání ztrát výpěstků je uvedeno v grafu 2. Ztráty na výzkumné ploše byly způsobeny převážně hlodavci (hrušně, jablono) a vývratem (topol osika).

Porovnání růstu z roku 2007 jednotlivých vegetativně namnožených dřevin ukázalo statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ u všech kombinací, vyjma kombinací HR – JB, LP – JLV, JLV – JLH, kde nebyla prokázána statistická významnost. Porovnání růstu z roku 2008 ukázalo statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ u všech kombinací, vyjma kombinací HR – JLH, JB – JLH, LP – JLV, JLV – JLH, kde nebyla prokázána statistická významnost, v roce 2009 byly statisticky významné rozdíly zjištěny u všech kombinací, vyjma kombinací HR – JLV, HR – JLH, JB – JLH, LP – JLV, JLV – JLH, kde nebyla prokázána statistická významnost.

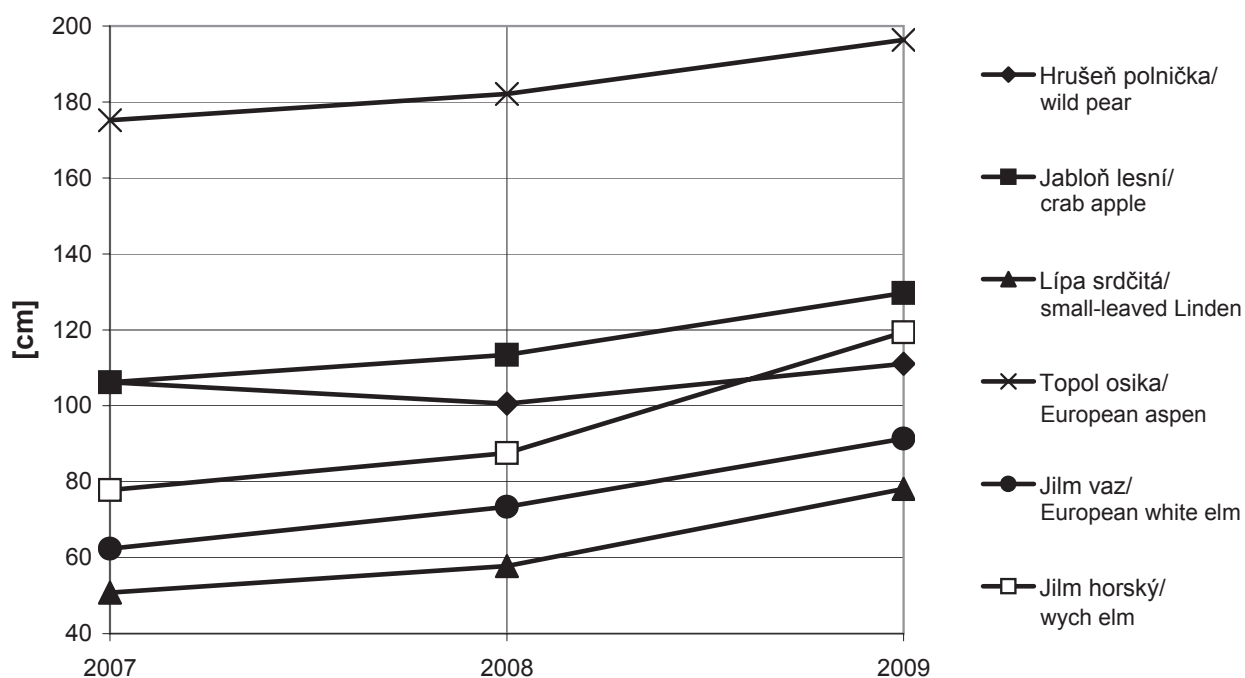
DISKUSE

K porovnávání a ověřování kvality výpěstků *in vitro* byly ve světě založeny srovnávací venkovní pokusy pro řadu druhů dřevin. Například ve Francii se sleduje topol, třešeň, ořešák, douglaska, v Anglii třešeň, bříza a dub, v Brazílii blahovičník, ve Švédsku bříza, v Norsku dub apod. Srovnání růstu a dalších charakteristik dvacetiletých stromů douglasky tisolisté pěstovaných z explantátů a ze semen neukázalo významné rozdíly (BOULAY, FRANCLÉ 1977). Rovněž při kultivaci třešně ptačí a ořešáku královského ve Francii nebyly pozorovány žádné rozdíly. Pokud byl zaznamenán rychlejší růst potomstev z explantátů, byl podmíněn genetickými vlastnostmi výchozích klonů (CORNU, CHAIX 1981). Ke stejným výsledkům při pěstování třešně ptačí dospěl i HAMMATT (1999) v Anglii. V roce 1988 byly rovněž v Anglii zahájeny také koordinované pokusy s břízou, kdy byly srovnávány rychlost růstu a rejuvenilizace výpěstků generativního původu s mikropropagovanými rostlinami z kalusů, axiálních a adventivních prýtů.

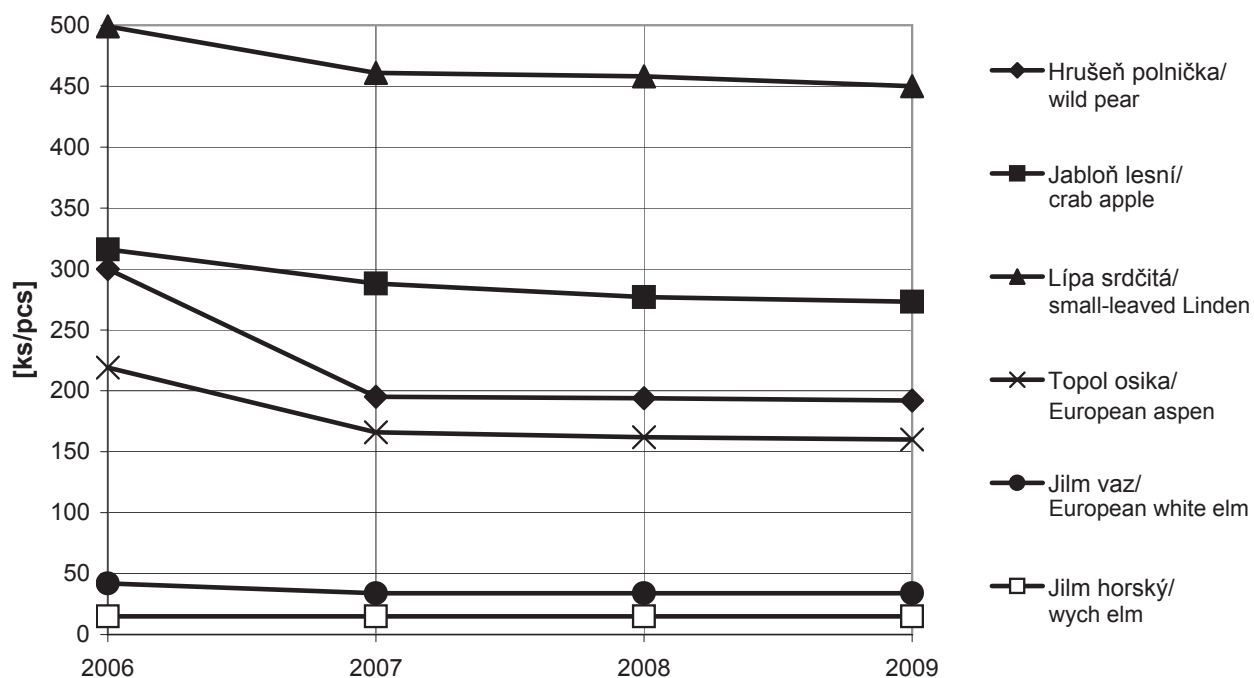
V Anglii jsou studovány i variabilita a rejuvenilizace generativních výpěstků, výpěstků z řízků a rostlin získaných mikropropagací u třešně ptačí. Tato dřevina je rovněž sledována v Německu, Anglii a ve Francii. Mezi další společně studované dřeviny patří dub letní. Explantáty získané z rozdílných klonů dubu různého stáří jsou od roku 1993 pěstovány současně výzkumnými pracovišti v Norsku,

Tab. 1.
Růstové charakteristiky výpěstků *in vitro* na demonstrační ploše Polná II
Growing characteristics of *in vitro* plantlets on research plot Polná II

Dřevina/ Tree	Rok/ Year	Vysazeno/přežívá Planted/survived		Mortalita/ Mortality		Průměrná výška/ Average height	Průměrný přírůst/ Average growth
		[ks/pcs]		[%]		[cm]	[cm]
Hrušeň polnička/ wild pear	2007	300	195	35,0		106,2	-
	2008		194	0,5		100,5	-6
	2009		192	1,0		111,0	10
Jabloně lesní/ crab apple	2007	316	288	8,9		106,2	-
	2008		277	3,8		113,4	7
	2009		273	1,4		129,7	16
Lípa srdčitá/ small-leaved linden	2007	499	461	7,6		50,8	-
	2008		458	0,7		57,8	7
	2009		450	1,7		78,1	20
Topol osika/ European aspen	2007	219	166	24,2		175,2	-
	2008		162	2,4		182,1	7
	2009		160	1,2		196,3	14
Jilm vaz/ European white elm	2007	42	34	19,0		62,4	-
	2008		34	0,0		73,4	11
	2009		34	0,0		91,3	18
Jilm horský/ wych elm	2007	15	15	0,0		77,8	-
	2008		15	0,0		87,5	10
	2009		15	0,0		119,3	32

**Graf 1.**

Vývoj průměrné výšky výpěstků na výzkumné ploše Polná II
Development of average height of trees on research plot Polná II

**Graf 2.**

Vývoj počtu výpěstků na výzkumné ploše Polná II
Number of trees on research plot Polná II

Anglii a Francii. V rámci polních zkoušek se sledují fázové změny při rejuvencizaci, růstové a morfologické parametry a dále genetické vlastnosti. Tento společně koordinovaný výzkum má poskytnout informace potřebné k uvedení mikropropagačních postupů do praktického využívání. Získané údaje jsou důležité pro odpovědná rozhodnutí, která se projeví v ekologické a ekonomické sféře (MALÁ 1998).

Na výzkumných plochách Polná a Kluky v ČR nebyly při morfologickém srovnání výpěstků *in vitro* a vysazených dřevin generativního původu shledány rozdíly ve tvaru kmene, větvení nadzemní části, ani nebyla pozorována retardace růstu výpěstků *in vitro* či jejich zvýšená mortalita. Zvýšená mortalita *in vitro* výpěstků třešně ptačí na výzkumné ploše Polná byla způsobena hlodavci a nebyla tedy ovlivněna způsobem namnožení dřevin (CVRČKOVÁ et al. 2007).

MEIER-DINKEL (1997) popisuje také velmi podobný růst *in vitro* a generativních sazenic břízy ve věku devět let. Generativní sazenice byly v době výsadby vyšší. Nicméně *in vitro* sazenice během posledních pěti let přerostly generativní. Nebyly ale zaznamenány statisticky významné rozdíly v růstu. Růst mikropropagovaných sazenic je podobný nebo mírně lepší než u generativních sazenic.

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, FRANCLÉ 1977, CORNU, CHAIX 1981, MEIER-DINKEL 1997, JURÁSEK, MALÁ 2000, CVRČKOVÁ et al. 2007). Při porovnání generativně a vegetativně namnožených dřevin na ploše Polná byly růstové charakteristiky z dosavadních pozorování také srovnatelné.

ZÁVĚR

Na výzkumné ploše s hodnocenými jedinci vegetativního původu byly zjištěny analýzou variance ($\alpha = 0,05$) statisticky významné průměrné hodnoty výšek mezi většinou dřevin. Na ploše byla po výsadbě pozorována zvýšená mortalita výpěstků převážně činností hlodavců a u topolu osiky také větrem (vývraty, zlomy). V průběhu dosavadního sledování nebyla u výpěstků *in vitro* pozorována retardace jejich růstu ani zvýšená mortalita.

Dřeviny *in vitro* původu jsou v ČR vysazeny i na dalších experimentálních výsadbách, jejichž hodnocení se připravuje. Předpokládá se, že *in vitro* výpěstky na výzkumné ploše, která je předmětem tohoto sdělení, ale i na dalších založených plochách budou sledovány i nadále, aby mohly být získány údaje o charakteru jejich růstu i v pozdějším věku.

Poděkování:

Príspevek vznikl v rámci řešení výzkumného záměru MZE0002070203.

LITERATURA

- AHUJA M. R. 1987. Somaclonal variation. In: Bonga J. M., Durzan D. J. (eds.): Cell and Tissue Culture in Forestry, 1: 272-285.
- BOULAY M., FRANCLÉ A. 1977. Recherches sur la propagation vegetative de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (MIRE.) FRANCO. Possibilités d'obtention de plante viables a partir de la culture *in vitro* de bourgeons de pieds – meres juveniles. CR Acad. Sci., 284: 1405-1407.
- CORNU D., CHAIX C. 1981. 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, Fontainebleau, France: 71-79.
- CVRČKOVÁ H., MALÁ J., MÁCHOVÁ P., NOVOTNÝ P. 2007. Růst a vývoj výpěstků *in vitro* třešně ptačí (*Prunus avium* /L./ L.) a dubu letního (*Quercus robur* L.) na demonstračních plochách. Zprávy lesnického výzkumu, 52/2: 123-131.
- ČSN 48 2115 Sadební materiál lesních dřevin. Praha, Vydavatelství pro normalizaci a měření 1998: 20 s.
- ČSN 48 2115 Změna Z1. Sadební materiál lesních dřevin. Praha, Vydavatelství pro normalizaci a měření 2002: 16 s.
- DOSTÁL J., NOVOTNÝ P., CVRČKOVÁ H. 2010. Růst a vývoj výpěstků *in vitro* jilmů (*Ulmus*) na demonstrační ploše „Polná“ ve srovnání se sazenicemi generativního původu. Zprávy lesnického výzkumu, 55/2: 115-120.
- HAMMATT T. 1999. Delayed flowering and reduced branching in micropropagated mature wild cherry (*Prunus avium*, L.) compared with rooted cuttings and seedlings. Plant Cell Rep., 18: 478-484.
- JURÁSEK A., MALÁ J. 2000. Zkušenosti s kvalitou sadebního materiálu z autovegetativního množení při pěstování ve školce a při obnově lesa. In: Kontrola kvality reprodukčního materiálu lesních dřevin. Opočno 7. – 8. 3. 2000: 81-90.
- MALÁ J. 1998. Biotechnologické metody množení a šlechtění lesních dřevin. Závěrečná zpráva. Jíloviště-Strnady, VÚLHM: 52 s.
- MALÁ J. 2001. Zpracování a aktualizace biotechnologických metod množení a šlechtění lesních dřevin. Výroční zpráva. Jíloviště-Strnady, VÚLHM: 11 s.
- MALÁ J., CVRČKOVÁ H., MÁCHOVÁ P., ŠÍMA P. 1999. Využití mikropropagace při záchraně cenných populací ušlechtilských listnatých dřevin. Zprávy lesnického výzkumu, 4: 6-10.
- MEIER-DINKEL A. 1997. Results of field trials with micropropagated *Betula*, *Quercus* and *Prunus* trees under consideration of phase changes. In: COST 822 4th Meeting of the Working Group 3 on „Identification and control of phase changes in rejuvenation“. Sborník z mítinku, Nitra 15. – 19. 10. 1997, s. 80-82. Institute of Plant Genetics, Slovak Academy of Sciences: 110 s.
- Zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnickými významnými druhy a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin). Sbírka zákonů Česká republika, 2003, č. 57: 3279-3294.

COMPARISON OF *IN VITRO* PLANTS WITH GENERATIVE PLANTS ON THE DEMONSTRATION PLOT „POLNÁ II“

SUMMARY

Actual trend which can provide enough production of wood mass is “clonal forestry” i. e. cultivation of elite genotypes multiplying by biotechnical propagation. Monitoring of *in vitro* plant growth and development takes place in outdoor conditions with regard to trees longevity for relatively short time (20 – 30 years). Monitoring of *in vitro* plant growth and development started in the Czech Republic in 1994.

The purpose of this paper is the evaluation of biometric measurement of six-year-old trees on the plot Polná II, statistic evaluation of results and comparison with foregone measurements.

The growth comparison of plantlets and seedlings was calculated by analysis of variance (ANOVA). There are differences between *in vitro* plants but no differences are between small-leaved linden – European white elm, European white elm – wych elm on 95% significance level. Increased mortality of seedlings, caused by rodents, was observed in some years. Retardation or increased mortality of *in vitro* plants was not observed.

Recenzováno

ADRESA AUTORA/CORRESPONDING AUTHOR:

Ing. Jaroslav Dostál, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.
Strnady 136, 252 02 Jíloviště, Česká republika
tel.: 257 892 266; e-mail: dostal@vulhm.cz