

RŮST A VÝVOJ VÝPĚSTKŮ *IN VITRO* JILMU HABROLISTÉHO (*ULMUS MINOR*) NA DEMONSTRAČNÍ PLOŠE „POLNÁ“ VE SROVNÁNÍ SE SAZENICEMI GENERATIVNÍHO PŮVODU

GROWTH AND DEVELOPMENT OF *IN VITRO* PLANTS OF SMOOTH-LEAVED ELM (*ULMUS MINOR*) IN COMPARISON TO GENERATIVE PLANTS

JAROSLAV DOSTÁL - PETR NOVOTNÝ - HELENA CVRČKOVÁ

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

ABSTRACT

Growth and development of *in vitro* and generative plants of smooth-leaved elm were investigated on research plot “Polná” for eleven years under the same environmental conditions. Growth and development parameters of plantlets were compared and calculated by analysis of variance. The *in vitro* plants were higher than seedlings but no difference was recorded between plantlets and seedlings 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.

Klíčová slova: mikropropagace, jilm habrolistý (*Ulmus minor*), růst, výzkumná plocha, výpěstek
Key words: mikropropagation, smooth-leaved elm (*Ulmus minor*), growth, research plot, cultivar

ÚVOD

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 zachování 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 produkovat obnovitelný zdroj energie - dřevní hmotu. Současným trendem, který má zajistit dostatečnou produkci dřevní hmoty, je „klonové lesnictví“, tedy pěstování elitních genotypů namnožených biotech-

nologickými postupy. U jehličnatých dřevin je dosažení tohoto cíle výzkumně ověřováno pomocí somatické embryogeneze. Lignikultury s krátkou dobou obměny založené z několika málo klonů jsou běžně pěstovány na Novém Zélandu, v Austrálii, ve Spojených státech, Japonsku a v Evropě 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 meristemického 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 cennými znaky a rovněž dodržení vhodného počtu klonů při přípravě syntetické směsi. Pro lesnické účely je nevyhnutelné, aby regenerované potomstvo bylo geneticky totožné s donorovým stromem, tzv. „true-to-type“ (AHUJA 1987).

Sledování růstu a vývoje lesních dřevin namnožených mikropropagačními postupy probíhá ve venkovních podmínkách s ohledem na dlouhověkost tohoto rostlinného materiálu 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 polesí 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 přírodních lesních oblastech 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 jilmu habrolistého ve věku 13 - 14 let na pokusné výsadbě Polná, statistické vyhodnocení výsledků a jejich porovnání s předchozími sadami měření v mladším věku. Důraz je kladen na zhodnocení proměnlivosti zjišťovaných veličin ve vztahu k rozdílným metodám množení.

MATERIÁL A METODY

Sledovaná výzkumná plocha označená jako „Polná“ byla založena v přírodní lesní oblasti 16 – Českomoravská vrchovina na lokalitě Březina na území polesí lesního družstva Polná, v lesním porostu 436 J14, hospodářském souboru 53 – kyselá stanoviště vyšších poloh, lesním typu 5S1. Geologický podklad tvoří biotické pararuly, půda patří k mezotrofním až oligotrofním hnědým půdám. Nadmořská výška činí 560 m n. m., expozice je severozápadní, sklon do 2 %. 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 z důvodu nepravidelného tvaru disponibilní plochy provedena formou volně navazujících řad vysazených druhů dřevin. Použitý spon výsadby byl 2 × 2 m. Vysazeno bylo 40 ks výpěstků *in vitro* a 56 sazenic generativního původu. Plocha je pravidelně, jednou ročně měřena (výška, tloušťka kořenového krčku, resp. později výčetní tloušťka kmene).

Pro získání sazenic původu *in vitro* byly vybrány mikropropagované klony jilmu habrolistého z archivu explantátů VÚLHM Jíloviště-Strnady. Na úspěšné dopěstování výsadbyschopných výpěstků *in vitro* byl použit již dříve 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.

Výpěstky *in vitro* byly dopěstovány a adaptovány na venkovní prostředí v experimentální školce VÚLHM Baně. Kvalita sadebního materiálu byla hodnocena na základě stejných kritérií, jaká jsou požadována u sadebního materiálu generativního původu (ČSN 48 2115). Výpěstky *in vitro* jilmu habrolistého byly namnoženy z rodičovských stromů původem z PLO 17.

Výsadba 2 - 3letých výpěstků jilmu habrolistého (34 ks) *in vitro* byla provedena v roce 1998. Jako srovnávací materiál byly vysazeny 2 - 3leté sazenice jilmu habrolistého generativního původu (zakoupeno v Lesoškolcích Řečany nad Labem). Rozmístění klonů na ploše bylo zaznamenáno do schematického plánu výsadby. Demonstrační plocha je dosud oplocena. Plocha je v majetku lesního družstva v Polné a je z lesnického hlediska příkladně spravována. 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 a tloušťka kořenového krčku posuvným měřítkem s přesností na 1 mm. Později byla výška měřena přístrojem VERTEX III a tloušťka kmene ve 130 cm nad zemí taxační průměrkou. Rozdíly mezi růstem sazenic vegetativního a generativního původu byly hodnoceny metodou analýzy variance pomocí statistického programu UNISTAT v. 5.6.

Tab. 1.

Růstové charakteristiky výpěstků *in vitro* na demonstrační ploše Polná

Growing characteristics of *in vitro* plantlets on research plot Polná

Rok/ Year	Vysazeno - přežívá/ Planted - survived		Mortalita/ Mortality	Průměrná výška/ Average height	Tloušťka koř. krčku/Root collar diameter	Tloušťka kmene ve 130 cm/ Stem diameter at 130 cm
	[ks/pcs]		[%]	[cm]	[mm]	[mm]
1998	34	34	0	106,8	-	-
1999		34	0	135,6	15	-
2000		34	0	151,9	18	-
2001		33	2,9	191,9	24	-
2002		32	3,0	241,5	31	-
2003		32	0	292,2	-	-
2004		32	0	323,7	-	-
2005		32	0	374,9	-	-
2007		32	0	515,3	-	40,1
2008		32	0	545,4	-	45,0

VÝSLEDKY

Na demonstrační ploše Polná byl v letech 1998 až 2008 pravidelně, vyjma roku 2006, sledován růst a vývoj výpěstků, byla zjišťována mortalita a probíhalo měření výšek a tloušťky kořenového krčku, resp. výčetní tloušťky kmene.

Růstové charakteristiky jilmu habrolistého za jednotlivé roky pro *in vitro* výpěstky a sazenice generativního původu na demonstrační ploše Polná jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2 a znázorněny v grafu 1. Podle zjištěných hodnot lze konstatovat, že podzimní ztráty výpěstků *in vitro* jilmu habrolistého v roce výsadby činily 0 %, u generativních také 0 %. Celkové ztráty od výsadby do současnosti

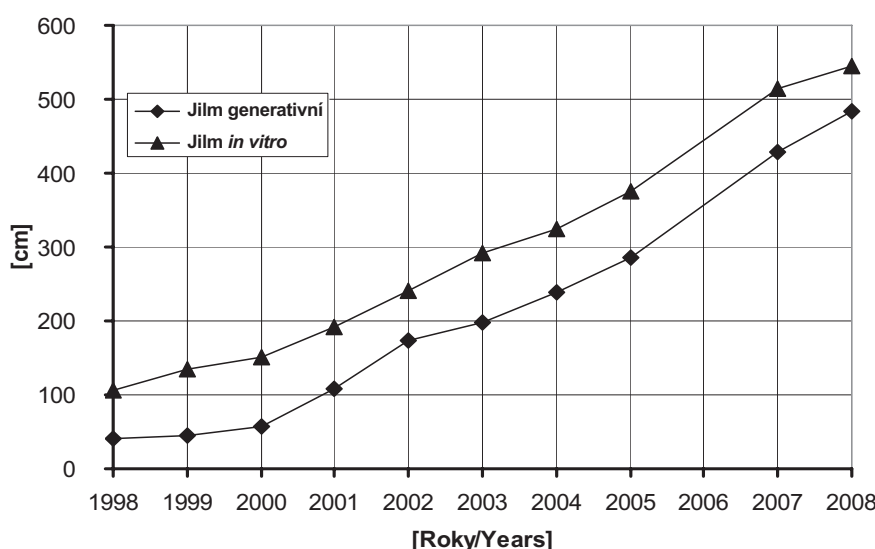
činí u výpěstků *in vitro* 6 % (po jednom kusu ubylo v letech 2001 a 2002), u generativních pak 43 % (nejvíce stromků odumřelo v letech 2000 /7/ a 2001 /7/, k dalším větším ztrátám došlo až v roce 2004 /5/, beze ztráty byly naopak první, sedmý a poslední rok sledování). Grafické porovnání ztrát výpěstků je uvedeno v grafu 2. Většina ztrát na výzkumné ploše byla způsobena hlodavci.

Porovnání růstu generativně a vegetativně namnožených dřevin neukázalo statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Variační koeficient průměrné výšky v posledním roce měření (2008) byl u *in vitro* sazenic 33,6 % a u generativně množených sazenic 39,0 %. Na ploše nebyla pozorována retardace růstu výpěstků *in vitro* ani jejich zvýšená mortalita.

Tab. 2.

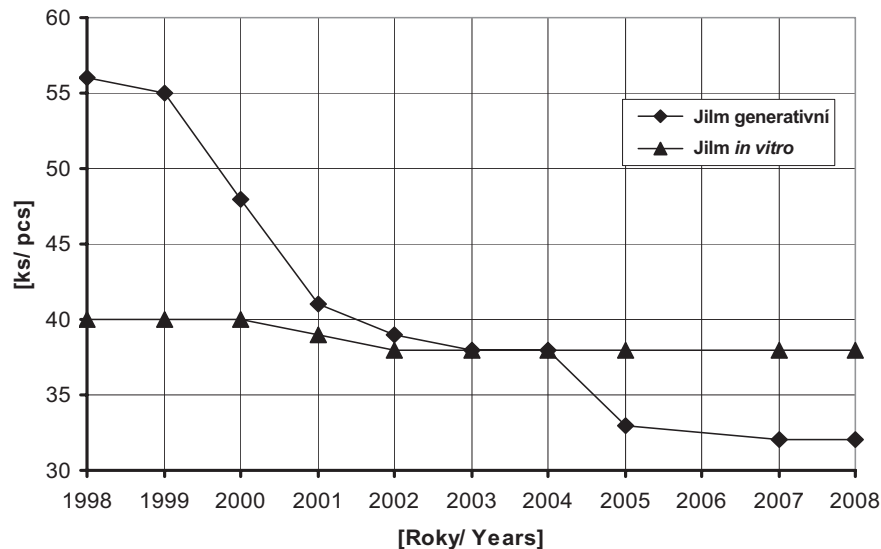
Růstové charakteristiky generativních výpěstků na demonstrační ploše Polná
Growing characteristics of generative plantlets on research plot Polná

Rok/ Year	Výsazeno - přežívá/ Planted - survived	Mortalita/ Mortality	Průměrná výška/ Average height	Tloušťka koř. krčku/ Root collar diameter	Tloušťka kmene ve 130 cm/ Stem diameter at 130 cm
	[ks/pcs]	[%]	[cm]	[mm]	[mm]
1998	56	56	41,7	-	-
1999		55	44,3	14	-
2000		48	56,4	16	-
2001		41	108,2	22	-
2002		39	174,4	29	-
2003		38	197,1	-	-
2004		38	239,5	-	-
2005		33	286,1	-	-
2007		32	429,4	-	28,9
2008		32	483,4	-	33,2



Graf 1.

Vývoj průměrné výšky výpěstků na výzkumné ploše Polná
Development of diameter height of elm trees on research plot Polná



Graf 2.

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

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 blahovičnick, 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, FRANCKET 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 HAMMAT (1999) v Anglii. V roce 1988 byly rovněž v Anglii zahájeny 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 probíhá studium 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 ve výzkumných pracovištích v Norsku, Anglii a Francii. V rámci polních zkoušek se sledují fáze změny při rejuvenilizaci, 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. U *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 nepatrně vyšší 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, FRANCKET 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 „Polná“ s hodnocenými jedinci jilmu habrolistého *in vitro* a generativního původu byly zjištěny vyšší průměrné hodnoty výšek u výpěstků pocházejících z kultur *in vitro*. Analýza variance však na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ mezi oběma typy výpěstků statisticky významné rozdíly neprokázala. Na ploše byla v následujících letech pozorována zvýšená mortalita generativních výpěstků činností hlodavců. V průběhu dosavadního sledování nebyla u výpěstků *in vitro* pozorována retardace jejich růstu ani zvýšená mortalita.

Jilmy *in vitro* původu jsou v ČR vysazeny i na dalších čtyřech experimentálních výsadbách, jejichž hodnocení se teprve připravuje. V budoucnu tak bude možno tento materiál vzájemně porovnat a učinit přesnější závěry. Předpokládáme, že výpěstky jilmu habrolistého na sledované výzkumné ploše, ale i na dalších založených plochách, budou sledovány i nadále, aby mohly být získány údaje o charakteru jejich růstu také v pozdějším věku.

Poděkování:

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného záměru č. MZE 0002070203.

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., FRANCLLET A. 1977. 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., 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, s. 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: 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.
- 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. s. 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., přílohy.
- MALÁ J., CVRČKOVÁ H., MÁCHOVÁ P., ŠÍMA P. 1999. Využití mikropropagace při záchraně cenných populací u šlechtitelských listnatých dřevin. Zprávy lesnického výzkumu, 44/4: 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 meetingu, Nitra 15. - 19. října 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 lesnický významných druhů 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, s. 3279-3294.



Obr. 1.

Pohled na část výzkumné plochy Polná – jilm
Part of research plot Polná – elm tree

GROWTH AND DEVELOPMENT OF *IN VITRO* PLANTS OF SMOOTH-LEAVED ELM (*ULMUS MINOR*) IN COMPARISON TO GENERATIVE PLANTS

SUMMARY

„Clonal forestry“ as the actual trend can produce enough wood mass, i. e. cultivate elite genotypes multiplying by biotechnical propagation.

Monitoring of growth and development of *in vitro* plants has been carried out in outdoor conditions for relatively short time (20 - 30 years) if trees longevity is regarded. Monitoring of growth and development of *in vitro* plants started in the Czech Republic in 1994.

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

Growth of plantlets and seedlings was calculated and compared by analysis of variance. The *in vitro* plants were higher than seedlings but no difference was recorded between plantlets and seedlings 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