

MIKROPROPAGACE ENDEMITNÍCH JEŘÁBŮ (*SORBUS* SPP.)

LESNICKÝ PRŮVODCE



RNDr. JANA MALÁ, CSc.
Ing. HELENA CVRČKOVÁ, Ph.D.
Ing. PAVLÍNA MÁCHOVÁ, Ph.D.
RNDr. VÁCLAV BURIÁNEK



Certifikovaná metodika

4/2014

Mikropropagace endemitních jeřábů (*Sorbus* spp.)

Certifikovaná metodika

RNDr. Jana Malá, CSc.

Ing. Helena Cvrčková, Ph.D.

Ing. Pavlína Máchová, Ph.D.

RNDr. Václav Buriánek

Lesnický průvodce 4/2014

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

Strnady 136, 252 02 Jíloviště

<http://www.vulhm.cz>

Vedoucí redaktorka: Šárka Holzbachová, DiS.; e-mail: holzbachova@vulhm.cz

Výkonná redaktorka: Miroslava Valentová; e-mail: valentova@vulhmop.cz

Grafická úprava a zlom: Klára Šimerová; e-mail: simerova@vulhm.cz

ISBN 978-80-7417-083-6

ISSN 0862-7657

MICROPROPAGATION OF ENDEMIC ROWAN SPECIES (*SORBUS* spp.)

Abstract

Rowan species represent important woody trees from the point of view of forest biodiversity. In the Czech Republic there are several endemic rowan species of hybridogenous origin from whitebeam (*Sorbus aria*) range, most of them have been described in the recent years. Various rowan species are scattered in one or a few populations up to several tens to hundreds of individuals. Their natural regeneration is usually very weak and little successful. Moreover, the young seedlings and trees are permanently at the risk of game grazing. They belong to extremely rare and endangered woody species, and therefore it is important to take steps for their reproduction and conservation. An efficient protocol for reproduction of endemic rowan by means of induction of organogenesis in apical meristems of dormant buds is reported.

Key words: *Sorbus*; micropropagation; organogenesis; preservation of gene sources

Oponenti: Ing. Lada Krnáčová, Ministerstvo zemědělství, Praha 1
Ing. Josef Cafourek, Ph.D., Wotan Forest, a.s.

Adresa autorů:

RNDr. Jana Malá, CSc., Ing. Helena Cvrčková, Ph.D., Ing. Pavlína Máchová, Ph.D.,
RNDr. V. Buriánek

Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.
Strnady 136, 252 02 Jíloviště

e-mail: mala@vulhm.cz
cvrckova@vulhm.cz
machova@vulhm.cz
burianek@vulhm.cz

Obsah:

1	Cíl metodiky	7
2	Vlastní popis metodiky	7
	2.1 Úvod	7
	2.2 Standardizovaný metodický postup mikropropa- gace.....	10
	2.2.1 Zakládání primárních kultur	10
	2.2.2 Kultivační podmínky multiplikace	10
	2.2.3 Zakořeňování a aklimatizace	11
	2.2.4 Výsadba na venkovní plochy.....	14
3	Srovnání novosti postupů.....	15
4	Popis uplatnění metodiky	15
5	Ekonomické aspekty.....	16
6	Dedikace	16
7	Seznam použité související literatury	17
8	Seznam publikací, které předcházely metodice.....	18
	Summary	19

1 CÍL METODIKY

Cílem metodiky je přispět k záchraně a konzervaci genetických zdrojů vzácných a endemických druhů jeřábů, významných z taxonomického hlediska i z hlediska udržení biologické rozmanitosti.

2 VLASTNÍ POPIS METODIKY

2.1 Úvod

V České republice se vyskytuje několik endemických druhů jeřábů hybridogenního původu z okruhu jeřábu muku (*Sorbus aria*), z nichž většina byla popsána až koncem 20. století. Vyskytují se obvykle jen v jedné nebo v několika málo populacích v počtu několik desítek nebo maximálně stovek jedinců (obr. 1). Jejich přiroze-



Obr. 1: České středohoří, stanoviště výskytu jeřábu labského

ná obnova je většinou velmi slabá a málo úspěšná. Navíc jsou mladé semenáčky a nárosty permanentně vystaveny nebezpečí okusu zvěří. Jejich vegetativní reprodukci dosud nebyla věnována dostatečná pozornost. Patří k mimořádně vzácným a ohroženým dřevinám, a proto je důležité podniknout kroky k jejich reprodukci a záchraně.

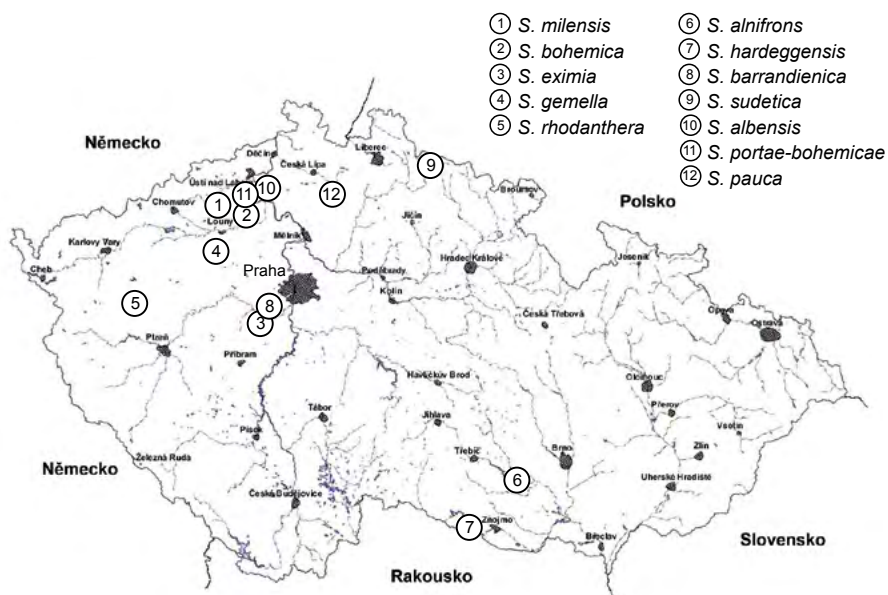
Jeřáby jsou zajímavým objektem studia i z hlediska taxonomie, ekologie, karyologie a dalších oborů. Významným zdrojem diverzity jeřábů je mezidruhov^á hybridizace, při níž dochází ke křížení fenotypicky odlišných, ale geneticky blízkých druhů. Primární kříženci nejsou z vývojového hlediska významní, obvykle jsou sterilní, a pokud vytváří potomstvo, tak se štěpí segregací. Z evolučního hlediska jsou daleko významnější hybridogenní druhy, které jsou plodné, v potomstvu nedochází k segregaci a potomstvo má ustálené znaky (KOVANDA 1961). Řada endemických hybridogenních druhů byla nově popsána v okolních zemích, např. na Slovensku (BERNÁTOVÁ, MÁJOVSKÝ 2003) a zvláště v Bavorsku (MEYER et al. 2005).

V České republice bylo v posledních desetiletích popsáno několik nových endemických apomiktických druhů hybridogenního původu kombinace *Sorbus aria*, *S. torminalis*, *S. danubialis* a *S. aucuparia* (KOVANDA 1961, 1984, 1996). Jedná se o jeřáb manětínský (*S. rhodanthera* Kovanda), jeřáb džbánský (*S. gemella* Kovanda), jeřáb olšolistý (*S. albifrons* Kovanda), jeřáb krasový (*S. eximia* Kovanda) a jeřáb český (*S. bohemica* Kovanda). K těmto druhům je možné přiřadit také jeřáb hardeggský (*S. hardeggensis* Kovanda), který byl popsán v Národním parku Podyjí. Několik jedinců však bylo zjištěno i na území Rakouska, takže je subendemitem. V letech 2008-2013 byly popsány další nové hybridogenní druhy: jeřáb milský (*Sorbus milensis* M. Lepší, K. Boublík, P. Lepší et P. Vít), jeřáb soutěskový (*S. portae bohemicae* M. Lepší, P. Lepší, P. Vít et K. Boublík), jeřáb barrandienský (*S. barrandienica* P. Vít, M. Lepší et P. Lepší), jeřáb labský (*S. albensis*), jeřáb opominutý (*S. omissa* Velebil) a jeřáb bezděžský (*S. pauca* M. Lepší et P. Lepší) (LEPŠÍ et al. 2008, 2009, 2013; VELEBIL 2012). Jeřáb sudetský (*S. sudetica* (Tausch) Bluff, Nees et Schauer) byl popsán již v 19. století. Podrobnější informace o jednotlivých družích endemitních jeřábů, včetně morfologického, karyologického a molekulárního zhodnocení uvádějí VÍT (2006) a VÍT, SUDA (2006). Mapa rozšíření vybraných endemických jeřábů na území ČR je uvedena na obr. 2.

Pro uvedené endemitní druhy jeřábů byly vyvinuty postupy mikropropagace, organogeneze, spočívající v indukci morfogenetických procesů na primárním explantátu, které probíhají při vytváření axilárních nebo adventivních pupenů. Předpokladem úspěšné organogeneze je zajištění vhodných kultivačních podmínek, zejména chemického složení živného média, koncentrace a poměru fytohormonů, teploty, vlhkosti a osvitového režimu. Významně ovlivňují úspěšnost organogeneze i takové

faktory jako je stáří a fyziologický stav dárcovského jedince, doba sběru, způsob a délka skladování zdrojového materiálu, povrchová sterilizace a technika preparace explantátů. Dodržením ověřených metodických postupů lze dosáhnout efektivní reprodukce požadovaných genotypů. Tato metoda byla již úspěšně využita při reprodukci jiných druhů jeřábů, např. jeřábu břeku (*S. torminalis*), jeřábu oskeruše (*S. domestica*) a jeřábu ptačího (*S. aucuparia*) (Dujčíčková et al. 1991).

V České republice byla metoda *in vitro* využita při reprodukci populací endemických jeřábů pro založení archivu explantátů a vypracování standardizované metody dopěstování kompletních rostlin s cílem získat reprodukční materiál, který je využitelný pro další šlechtitelské záměry a případnou reintrodukci.



Obr. 2: Mapa výskytu vybraných endemických jeřábů v ČR

2.2 Standardizovaný metodický postup mikropropagace

2.2.1 Zakládání primárních kultur

V únoru až březnu ještě před vyrašením pupenů se odebírají rouby z donorových jedinců (cca 50 pupenů od 1 klonu). Označí se, vloží se do mikrotenového sáčku a na převoz uskladní do chladové tašky. Rouby se uchovávají při 4 °C a je vhodné zpracovat rostlinný materiál (pupeny) do 14 dnů po odběru. Sníží se tím riziko šíření infekcí a poškození apikálního meristému.

Jednotlivé pupeny se sterilizují v 1% roztoku chlornanu sodného (Savo, Bochemie ČR) a třikrát promyjí sterilní destilovanou vodou. Ve sterilním prostředí laminárních boxů se odstraní vnější šupiny pupenů a extirpované vzrostné vrcholy jsou umístěny na indukční agarové živné médium (50 ml média v Erlenmeyerově 100ml baňce). K indukci organogeneze u jeřábů se používá modifikované médium MS (MURASHIGE, SKOOG 1962) s koncentrací fytohormonů BAP 0,2 mg.l⁻¹ a IBA 0,1 mg.l⁻¹ a s koncentrací glutaminu 100 mg.l⁻¹, glycinu 2 mg.l⁻¹, sacharózou v koncentraci 30 g.l⁻¹, s agarem 6 g.l⁻¹, pH se upravuje na hodnotu 5,8. Kultivace probíhá v klimatizovaných podmínkách při teplotě 24 °C, 16hodinové světelné fotoperiodě, s osvětlením o intenzitě 30 μmol.m⁻².s⁻¹. Indukce axilárních případně adventivních pupenů na primárním explantátu trvá přibližně 4–6 týdnů.

2.2.2 Kultivační podmínky multiplikace

Po vyrašení axilárních, případně adventivních pupenů na primárním explantátu jsou kultury *in vitro* jeřábů pěstovány na multiplikačním médiu MS s koncentrací BAP 0,2 mg.l⁻¹, IBA 0,1 mg.l⁻¹, glutaminu 100 mg.l⁻¹, glycinu 2 mg.l⁻¹, kaseinového hydrolyzátu 100 mg.l⁻¹, sacharózy 30 g.l⁻¹, agaru 6 g.l⁻¹, pH je upravováno na hodnotu 5,8. Intervaly mezi jednotlivými pasážemi jsou 4 až 5 týdnů. Pro kultivaci jsou nezbytné konstantní kultivační podmínky (teplota 24 °C, osvětlení o intenzitě 30 μmol.m⁻².s⁻¹, 16hodinová světelná fotoperioda) a 100% relativní vzdušná vlhkost. Průběžně je nutné sledovat zdravotní stav kultur, resp. výskyt kontaminací. Kvalita mikropropagovaného materiálu je kontrolována na základě morfologických znaků. U listů a výhonů se sledují barva, tvar, délka a jejich počet.

2.2.3 Zakořeňování a aklimatizace

Vícevrcholové kultury (obr. 3, 4, 5) určené pro odběr mikrořízků za účelem do-
pěstování kompletních rostlin se přesazují na MS médium s koncentrací MeOBAP
0,2 mg.l⁻¹, IBA 0,1 mg.l⁻¹, glutamin 100 mg.l⁻¹, kaseinový hydrolyzát 100 mg.l⁻¹, sa-
charóza 30 g.l⁻¹, agar 6 g.l⁻¹, pH je upravováno na hodnotu 5,8. Po dvou pasážích
na médiu s uvedeným cytokininem jsou z kultur odebrány mikrořízky, které za-
kořeňují dvoufázově v agarovém médiu MS o třetinové koncentraci mikro a mak-
roprvků. V první fázi je do agarového média přidán auxin NAA (14 mg.l⁻¹) a pro
zvýšení účinnosti probíhá zakořeňování (7 dní) ve tmě. Následně jsou mikrořízky
přeneseny do agarového média stejného složení (MS třetinová koncentrace mikro



Obr. 3: Explantátová kultura jeřábu labského

a makro prvků) bez suplementace fytohormony. Zakořeňování již v této fázi probíhá na světle za stejných kultivačních podmínek jako multiplikace. První kořeny se objevují v závislosti na klonu v průběhu 4–6 týdnů u 70–80 % mikrořízků.

Rostliny s vyvinutými kořeny se přesazují ze zakořeňovacího média do sadbovačů Quick Pot T 35 s agroperlitem (Perlit Praha, spol. s. r. o.) a dvakrát týdně se zalévají tekutým základním médiem MS (bez fytohormonů a sacharózy) ředěným v poměru 1 : 10 destilovanou vodou. Aklimatizace probíhá v obdobných kultivačních podmínkách (teplota 24 °C, osvětlení o intenzitě 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), ale s 24hodinovou světelnou fotoperiodou a při 90% relativní vzdušné vlhkosti.



Obr. 4: Explantátová kultura jeřábu bezděžského

Po třech týdnech v agroperlitu se rostliny přesazují do sadbovačů Quick Pot T 60 (rozměr 350 mm × 215 mm × 200 mm, s 15 buňkami) s nesterilním pěstebním substrátem ze směsi zeminy, rašeliny (Rašelina a.s., Soběslav) a perlitu (Perlit Praha spol. s r.o.) v poměru 2 : 1 : 1 a přenášejí se do skleníku, kde se postupně adaptují (3–4 týdny) na 70% relativní vzdušnou vlhkost. Pro růst v agroperlitu i pěstebním substrátu se osvědčily sadbovače Quick Pot firmy HERKUPLAST – KUBERN GmbH, které nebrání rozvoji kvalitního kořenového systému. Jejich předností je, že nemají pevné dno a kořenový systém rostlin se může dobře vyvíjet na vzduchovém polštáři. Dalšími výhodami jsou rozměry a kónický tvar sadbovačů, které jsou vhodné pro růst kosterních kořenů, a dále rozmístění vertikálních žebër na vnitřní



Obr. 5: Explantátová kultura jeřábu opomíjeného

straně sadbovačů, které napomáhají správnému vývoji kořenů. Tento postup a použití biologicky ověřených sadbovačů zabraňuje nežádoucím odchylkám růstu a nepřipustné deformaci kořenů ve smyslu platné ČSN 48 2115.

2.2.4 Výsadba na venkovní plochy

Po aklimatizaci se výpěstky *in vitro* vysazují k dopěstování na venkovní záhony, případně se přesadí do vhodných obalů, které umožňují správný růst kořenového systému, viz Katalog biologicky ověřených obalů (www.vulhmop.cz). Po roce dopěstování na venkovním záhonu lze výpěstky *in vitro* jeřábů vysadit na stanoviště.

Vysvětlivky:

BAP – 6-benzylaminopurine

MeOBAP – 6-(3-methoxybenzylamino)purine

MS – Murashige Skoog médium

IBA – β -indolylbutyric acid

NAA – α -naphtylacetic acid

3 SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Novost vegetativní reprodukce endemitních jeřábů spočívá ve využití metody indukce organogeneze *in vitro* pro reprodukci dospělých stromů, v originálním využití nového derivátu cytokininu a v originálním řešení zakořeňování a aklimatizace.

Navození indukce organogeneze na primárním explantátu (vzrostlý vrchol dormantního pupene) lze u endemitních jeřábů navodit poměrně snadno a téměř se stoprocentní úspěšností i u dospělých a velmi starých jedinců, podobně jako u dalších listnatých dřevin (MALÁ et al. 1999). Efektivnímu využití této mikropropagační metody pro reprodukci endemitních druhů jeřábů bránilo podobně jako u jeřábu oskeruše nízké procento (cca 30 %) zakořeňování mikrořízků a velmi dlouhá doba indukce kořenů (6–8 týdnů) (MALÁ et al. 2005; NIKOLAOU et al. 2008; ĎURKOVIC, MISÁLOVÁ 2009). Předpokládali jsme, že podobně, jako např. u jeřábu břeku, by mohlo bránit indukci kořenů nahromadění metabolitů BAP, který je nejčastěji používaným a účinným cytokininem k indukci organogeneze. Metodický postup byl proto inovován využitím nového derivátu cytokininu MeOBAP, při jehož aplikaci v multiplikační fázi nevznikají glykozidy zabraňující indukci rhizogeneze (MALÁ et al. 2009).

Na základě experimentálního ověření vlivu cytokininů BAP a MeOBAP na multiplikaci explantátů a na následné zakořeňování mikrořízků endemitních druhů jeřábů byl vypracován protokol, který zvyšuje účinnost zakořeňování mikrořízků na 70–80 %.

Byly vypracovány standardní technologické postupy, které zaručují, že výpěstky *in vitro* splňují kritéria kvality výsadbového materiálu podle ČSN pro generativní sazenice dřevin s obdobným růstem.

4 POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

V průběhu šesti let se podařilo založit kultury *in vitro* od všech výše uvedených druhů endemitních jeřábů. Metodika se uplatní zejména při zachování jednotlivých druhů endemitních jeřábů, které patří v ČR k velmi vzácným a ohroženým druhům. Metoda mikropropagace se ukazuje jako velmi efektivní metoda konzervace a reprodukce vybraných genotypů. V definovaných *in vitro* podmínkách jsou vyloučeny nepříznivé faktory limitující přirozenou obnovu a zároveň je zaručena genetická identita množného materiálu (D'AMATO 1978).

Výhodou mikropropagačního postupu je i možnost množení z meristematických pletiv, která jsou prostá patogenních zárodků, takže získaný sadební materiál může napomoci při ozdravování případně napadených populací.

Z ekonomického hlediska je nepřehlédnutelné, že mikropropagovaný rostlinný materiál, který se uchovává v klonovém archivu *in vitro*, lze kdykoliv použít pro další namnožení neomezeného počtu jedinců v relativně krátkém časovém období. Shromažďování co největšího počtu klonů od jednotlivých druhů je předpokladem zajištění genetické variability množenceho druhu. Namnožené klony endemitních jeřábů jsou dlouhodobě uchovávány v klonovém archivu *in vitro* Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i..

5 EKONOMICKÉ ASPEKTY

Při posuzování ekonomických aspektů nelze opomenout, že ochrana biologické rozmanitosti na úrovni stanovišť je jedním ze základních cílů Státní politiky životního prostředí ČR schválené usnesením vlády č. 235 ze dne 17. března 2004. Vedle celospolečenských přínosů se dá předpokládat i zvýšení tržeb u uživatele výsledků výrobou sazenic požadovaného sortimentu. Řada těchto druhů je ozdobná listem i plody a bylo by možné je využít při sadovnických úpravách. Při předpokládané produkci kontejnerovaných výpěstků v ročním objemu cca 25 000 kusů lze při ceně jedné sazenice cca 50,- Kč/ks předpokládat tržby cca 1 250 000,- Kč, zisk 168 750,- Kč (očekává se 13,5 procentní ziskovost výroby). Toto další využití metodiky v případné komerční reprodukci z již založených explantátových kultur, by s největší pravděpodobností minimalizovalo i devastaci přírodních lokalit, vzhledem ke zvýšení dostupnosti tohoto druhu pro pěstitele. Hlavními celospolečenskými přínosy však zůstává zachování genetických zdrojů a podpora biodiverzity.

6 DEDIKACE

Vypracování metodiky bylo podporováno z poskytnuté institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZe ČR – Rozhodnutí č. RO0114 (č.j. 8653/2014- MZE-17011).

7 SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

- BERNÁTOVÁ D., MÁJOVSKÝ J. 2003. New endemic hybridogenous species of the genus *Sorbus* in the Western Carpathians. *Biologia*, 58: 78-790.
- D'AMATO F. 1978. Chromosome number variation in cultured cells and regenerated plants. In: *Frontiers of Plant Tissue Culture*. THORPE T.A., (ed.), Int. Assoc. Plant Tissue Cult., 287-295, University of Calgary, Alberta.
- ŘURKOVIČ J., MISÁLOVÁ A. 2009. Wood formation during *ex vitro* acclimatisation in micropropagated true service tree (*Sorbus domestica* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 96: 353-348.
- KOVANDA M. 1961. Spontaneous hybrids of *Sorbus* in Czechoslovakia. *Acta Universitatis Karolina, Biologica*, 5: 41-83.
- KOVANDA M. 1984. A new hybridogenous *Sorbus*. *Preslia*, 56: 189-172.
- KOVANDA M. 1996. Observation on *Sorbus* in Southwest Moravia (Czech Republic) and adjacent Austria. *Verhandlungen der zoologisch-botanische Gessellschaft in Österreich*, 133: 347-369.
- LEPŠÍ M., LEPŠÍ P., SÁDLO J., KOUTECKÝ P., VÍT P., PETŘÍK P. 2013. *Sorbus pauca* species nova, the first endemic species of the *Sorbus hybrida* group for the Czech Republic. *Preslia*, 85: 63-80.
- LEPŠÍ M., VÍT P., BOUBLÍK K., SUDA J. 2008. *Sorbus milensis*, a new hybridogenous species from northwestern Bohemia. *Preslia*, 80: 229-244.
- LEPŠÍ M., VÍT P., LEPŠÍ P., BOUBLÍK K., KOLÁŘ F. 2009. *Sorbus portae-bohemicae* and *Sorbus albensis*, two new endemic apomictic species recognized based on a revision of *Sorbus bohemica*. *Preslia*, 81: 63-89.
- MEYER N., MEIEROTT L., ANGERER O. 2005. Beitrage zur Gattung *Sorbus* in Bayern. *Ber. Bayer. Bot. Ges., Sonderband*: 5-216.
- MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
- NIKOLAOU P., ZAGAS D., SCALTSOYIANNES V., BALAS E., XILOGIANNI V., TSOLUPHA P., TSAKTSIRA M., VOULGARIDOU E., ILIEV I., TRIANTAFYLLOU K., SCALTSOYIANNES A. 2008. Advances in the micropropagation of service tree (*Sorbus domestica* L.). *Propag. Ornam. Plants*, 8: 154-157.
- VELEBIL J. 2012. *Sorbus omissa*, a new endemic hybridogenous species from the lower Vltava river valley. *Preslia*, 84: 375-390.

- VÍT P. 2006. Variabilita endemických zástupců rodu *Sorbus* L. v ČR: morfologické, karyologické a molekulární zhodnocení /Variation of the Czech endemic species of *Sorbus* inferred from morphometric, karyological and molecular methods/. Ms. /Msc Thesis, depon in: Knih. Kat. Bot. PřF UK, Praha/.
- VÍT P., SUDA J. 2006. Endemické jeřáby – perly mezi českými dřevinami. *Živa*, 49(87): 251-255.

8 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- DUJÍČKOVÁ M., MALÁ J., CHALUPA V. 1991. Vegetativní množení *Sorbus torminalis* L. Grantz a *Sorbus domestica* L. *in vitro*. *Práce VÚLHM*, 77: 27-48.
- MÁCHOVÁ P., MALÁ J., CVRČKOVÁ H., DOSTÁL J., BURIÁNEK V. 2013. In vitro reproduction of rare and endemic species of rowan tree. *Journal of Forest Science*, 59 (10): 386-390.
- MALÁ J., CVRČKOVÁ H., MÁCHOVÁ P., ŠÍMA P. 1999. Využití mikropropagace při záchraně cenných populací ušlechtilých listnatých lesních dřevin. *Zprávy lesnického výzkumu*, 44: 6-11.
- 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*, 4: 216-221.
- MALÁ J., MÁCHOVÁ P., CVRČKOVÁ H., KARÁDY M., NOVÁK O., STRNAD M., DOLEŽAL K. 2009. Micropropagation of wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz): the regulative role of different aromatic cytokinins during organogenesis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28: 341-348.

MICROPROPAGATION OF ENDEMIC ROWAN SPECIES (*SORBUS* spp.)

Summary

During 6 years explant cultures from selected species of mature rare and endemic rowan trees have been established. The modified agar medium MS (MURASHIGE, SKOOG 1962) with concentrations of phytohormones BAP 0.2 mg.l⁻¹ and IBA 0.1 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ of glutamine, 2 mg.l⁻¹ of glycine, 30 g.l⁻¹ of saccharose, and 6 g.l⁻¹ of agar, pH adjusted to 5.8 was used for induction of endemic rowan species organogenesis. After 4-6 wks, the cultures were transferred onto the multiplication MS medium with concentrations of phytohormones BAP 0.2 mg.l⁻¹ and IBA 0.1 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ of glutamine, 100 mg.l⁻¹ of casein hydrolysate, 2 mg.l⁻¹ of glycine, 30 g.l⁻¹ of saccharose, and 6 g.l⁻¹ of agar, pH adjusted to 5.8. The cultures were transferred every 4-5 wks. Cultivation proceeded in air-conditioned room at 24 °C, and under white fluorescent light (30 μmol.m⁻².s⁻¹) and a 16-hour photoperiod.

The cultures set up for rooting were transferred on MS medium with concentration of phytohormone MeOBAP 0.2 mg.l⁻¹ and IBA 0.1 mg.l⁻¹, 100 mg.l⁻¹ of glutamine, 100 mg.l⁻¹ of casein hydrolysate, 2 mg.l⁻¹ of glycine, 30 g.l⁻¹ of saccharose, and 6 g.l⁻¹ of agar, pH adjusted to 5.8.

Microcuttings after 2 passages in agar medium with MeOBAP were rooted in agar medium MS diluted 1:3, with NAA 14 mg.l⁻¹, 10 g.l⁻¹ of saccharose and 6 g.l⁻¹ of agar. The cultures were grown first 7 days in the darkness for accelerating of root growth and then were transferred into same cultivation conditions as during induction and multiplication, but without phytohormones. Plants with well-developed roots were transferred from rooting medium into pots (Quick Pot T 35) with agropertil and watered by basal MS medium without phytohormones and saccharose diluted by distilled water 1:10. Acclimatization proceeded in air-conditioned room at 24 °C, and under white fluorescent light (30 μmol.m⁻².s⁻¹) and a 24-hour photoperiod at the 90% of relative air humidity. After 3 wks, the plants were transferred into pots (Quick Pot T 60) with non-sterile substrate (in a ratio 2 soil : 1 peat : 1 agropertil) and located in glasshouse, where they were adapted for 3-4 wks to the 70% of relative air humidity.

This work was aimed to contribute to preservation and reproduction of gene resources of rare and endemic rowan species, important from the taxonomical point of view, even in terms of maintaining biodiversity. The organogenesis has

been proved very effective for the micropropagation of selected rare and endemic rowan species. The growing explant cultures are now stored in explant archive in Forestry and Game Management Research Institute.

LESNICKÝ PRŮVODCE



Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i.
www.vulhm.cz