



Organogeneze korkovníku amurského ze semen v podmínkách *in vitro*

Jiří Čáp, Martina Komárková

Strnady, 22. říjen 2024

*Phellodendron
amurense (Rupr. 1857)*

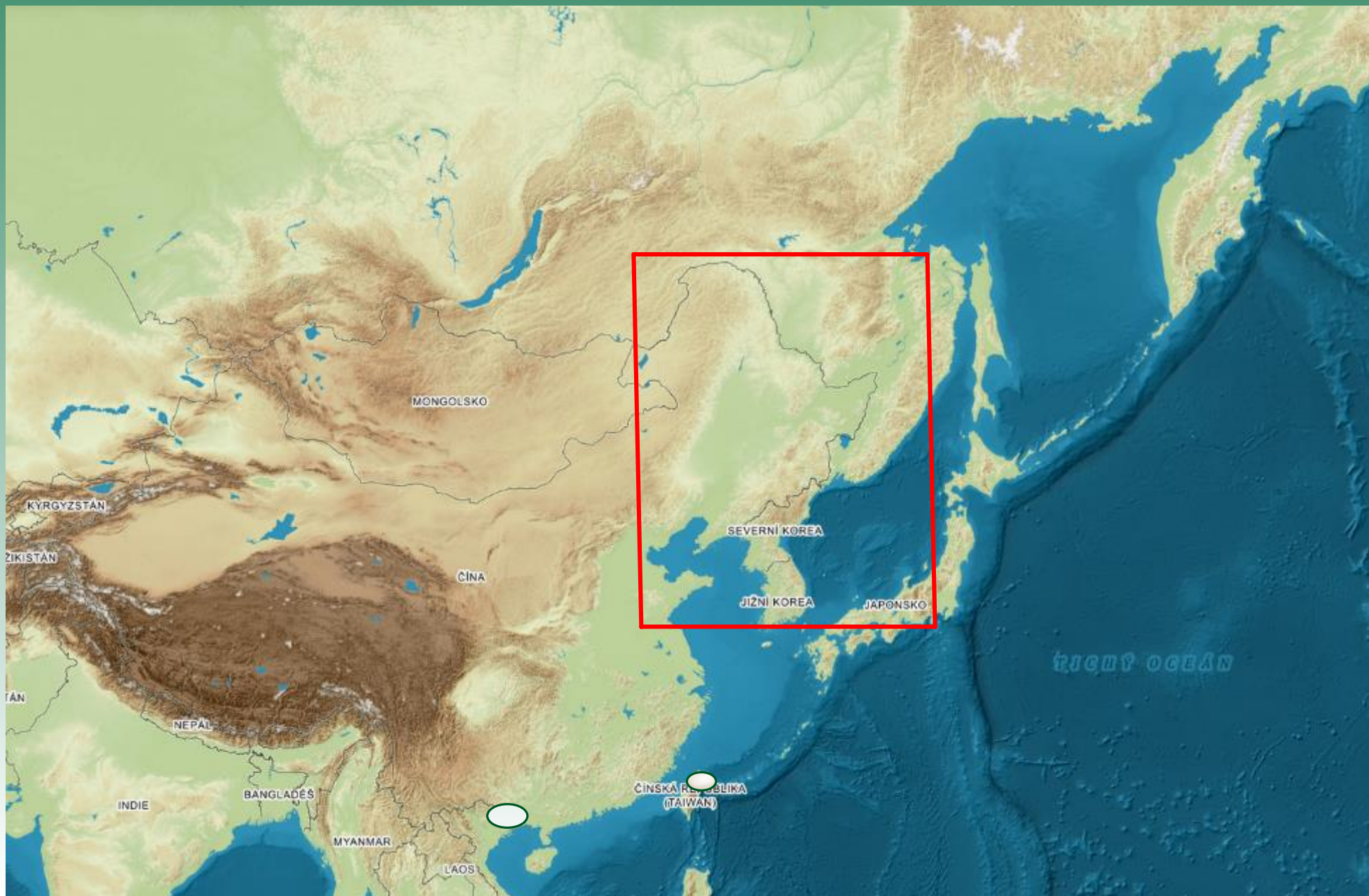
- *Phelodendron amurense* – *Korkovník amurský*
- *Phelodendron chinense* – *Korkovník čínský*
- *Phelodendron japonicum* – *Korkovník japonský*
- *Phelodendron lavalleyi* – *Korkovník Lavalleyův*
- *Phelodendron sachalinense* – *Korkovník sachalinský*
- *Phelodendron amurense* var. *wilsonii*



Rozšíření ve světě

Druh vyskytující se v oblastech Dálného východu Ruska, zejména v povodí řek Amur a Ussuri. Má široký areál v severovýchodní Číně (Mandžusko), Koreji, Japonsku, Vietnamu a Tchaj-wanu.

Korkovník amurský roste především jako dřevina břehových porostů v údolních nivách. Je typickou součástí listnatých lužních lesů. Převažující výskyt do 1000 m.n.m.



Převažující areál: $38^{\circ}40' - 53^{\circ}30' \text{ N}$ – $115^{\circ}05' - 135^{\circ}02' \text{ E}$, dále i ve Vietnamu a Tchaj-wanu

Dvoudomá dřevina

Výška 15-25 m (10-35 m)



Buchlovice

Mochov

Foto J. Čáp

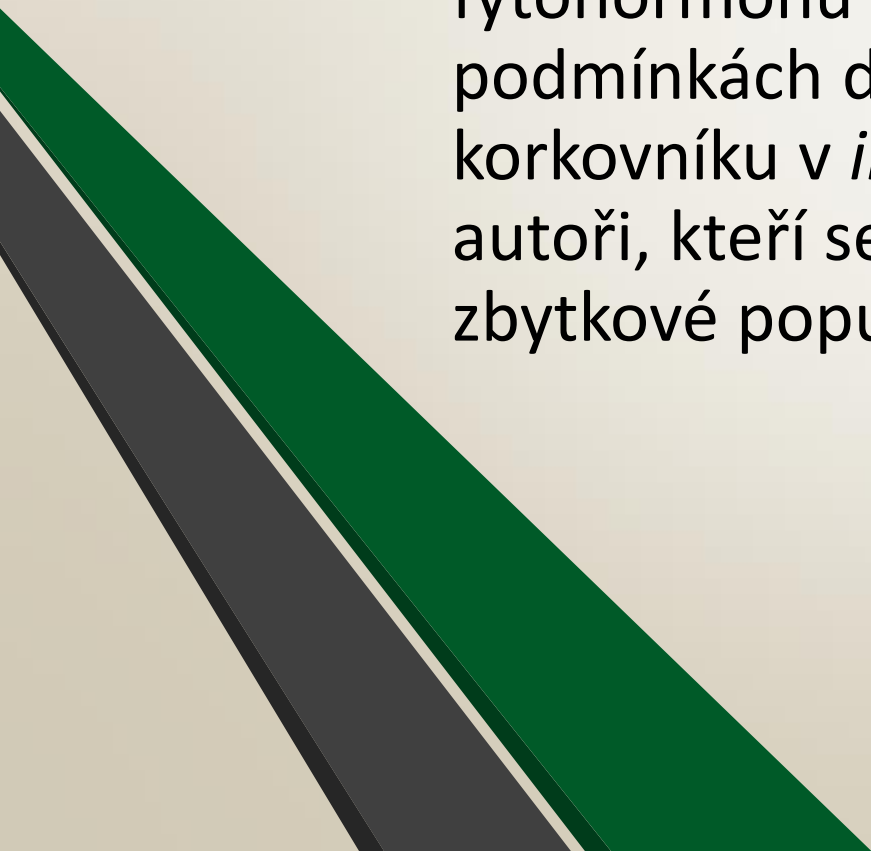


Valeč

Foto J. Čáp

V České republice je všeobecně výskyt korkovníku pozorován od roku 1911 (Polanský 1934). Nicméně podle archivních záznamů Botanického parku Průhonice, byla v parku provedena první výsadba *Phellodendron sachalinense* již v roce 1909. Po provedení prvních dendrochronologických hodnocení Výzkumným ústavem lesního hospodářství a myslivosti, v.v.i., kdy byla provedena datace části odebraných vzorků až k letům 1903-1905, lze konstatovat, že dovoz osiva do současné ČR proběhl již před rokem 1900.

Přestože se korkovník běžně množí semeny, jejich klíčivost se pohybuje kolem 31%. U nestratifikovaných semen klesá na polovinu, obal semen navíc tvoří tvrdé osemení bránící klíčení. V takovýchto případech je vhodné použít metodu *in vitro* mikropropagace, díky níž lze získat klonový materiál z jednotlivých stromů či materiál rostoucí ze zralých semen, hojně využívané je také rychlé a efektivní namnožení sadebního materiálu. Cílem naší studie bylo najít nejvhodnější metody *in vitro* organogeneze *P. amurensis* ze semen s důrazem na fázi indukce a množení. Testována byla živná média s různým obsahem fytohormonů pro co nejvyšší procento klíčivosti a multiplikační rychlosti s ohledem na zdravotní stav rostlin.



Namnožené jedince lze následně pomoci změny poměru fytohormonů v živném mediu zakořenit a dovést v *ex vitro* podmínkách do výsadby schopného stavu. Množením korkovníku v *in vitro* podmínkách se zabývají především čínští autoři, kteří se snaží touto cestou namnožit a zachránit zbytkové populace korkovníku v asijských zemích.

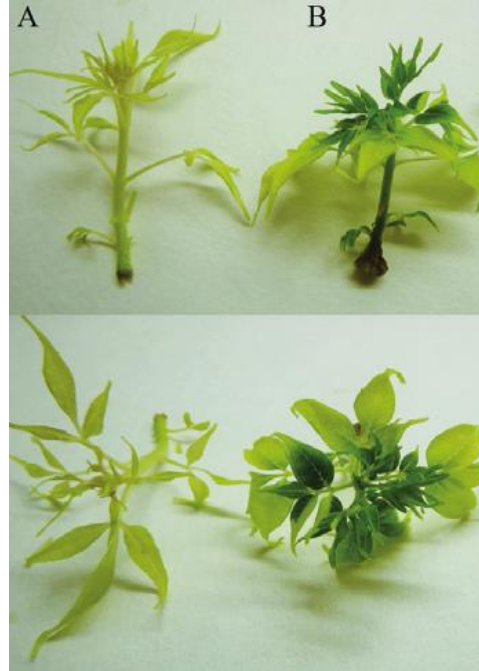
Zprávy lesnického výzkumu, 68, 2023 (4);: 191-196

**INDUKCE ORGANOGENEZE A MULTIPLIKACE KORKOVNÍKU
AMURSKÉHO
(*PHELLODENDRON AMURENSE* RUPR.) V *IN VITRO*
PODMÍNKÁCH**

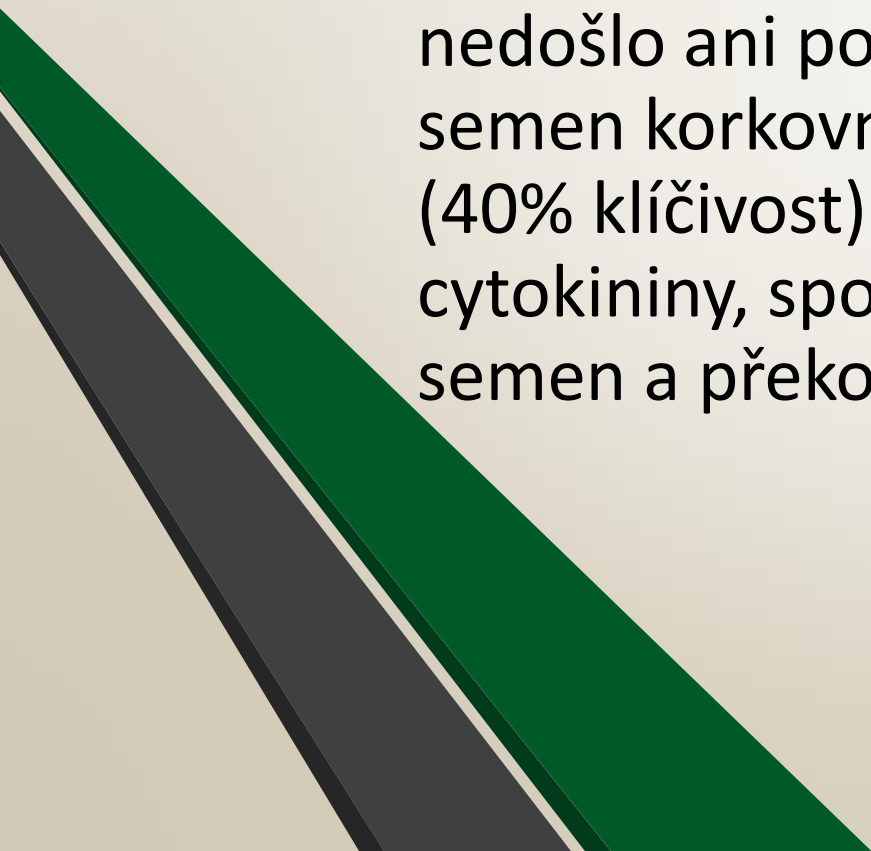
Martina Komárková – Jiří Čáp – Pavlína Máchová

Plody v podobě černé bobule byly rozříznuty skalpelem, v každém plodu se nacházelo v průměru 5 semen. Uvolněná semena byla přes noc inkubovaná ve sterilní destilované vodě s přídavkem 0,05% PPM (Plant Preservative Mixture) při 4 °C. Sterilizace semen byla zahájena počáteční fází, zahrnující 30 min promytí pod tekoucí vodou, 15 min promytí jarovou vodou, 15 min promytí roztokem MucasoluR (1% roztok, Brand GmbH + CO) a 15 min promytí sterilní destilovanou vodou. Následující fáze již probíhaly za sterilních podmínek v laminárním boxu. Semena byla nechaná 15 min v 1% roztoku NaClO (SAVO) a poté byla třikrát po sobě promyta po 15 min sterilní destilovanou vodou.

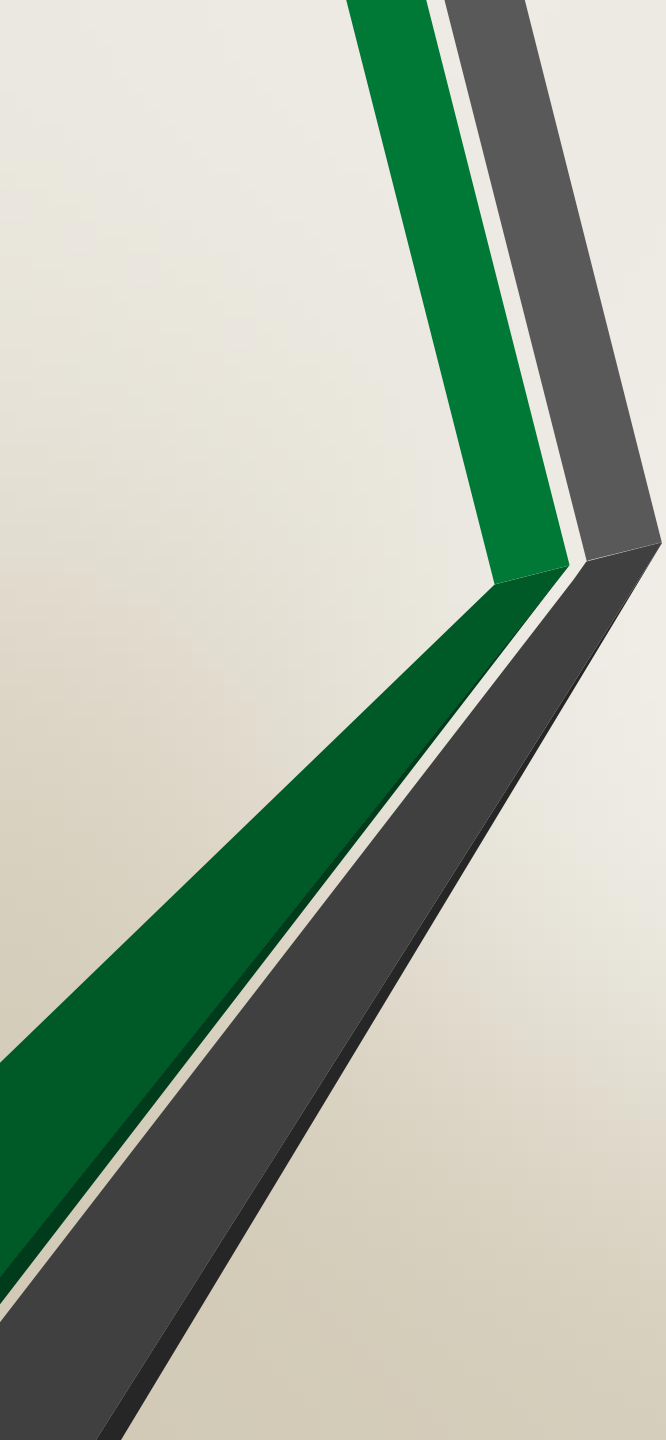
Část semen byla pro testování organogeneze ponechaná bez dalších úprav, u druhé části semen bylo pomocí skalpelu naříznuto osemení. Takto připravený rostlinný materiál byl následně zasazen na indukční živné medium (50 ml media ve skleničce). Po úspěšném založení primárních kultur byly vyklíčené rostliny zasazeny na multiplikační medium, které slouží k namnožení výhonů. Složení multiplikačního média bylo opět testováno, a to především s ohledem na koncentraci a poměr rostlinných hormonů (2; 1; 0,8 a 0,4 mg.l⁻¹ BAP; 0,2 mg.l⁻¹ NAA). Interval mezi pasážemi se pohyboval v rozmezí 4–6 týdnů. Kultivační podmínky byly stejné, jako při zakládání primárních kultur.

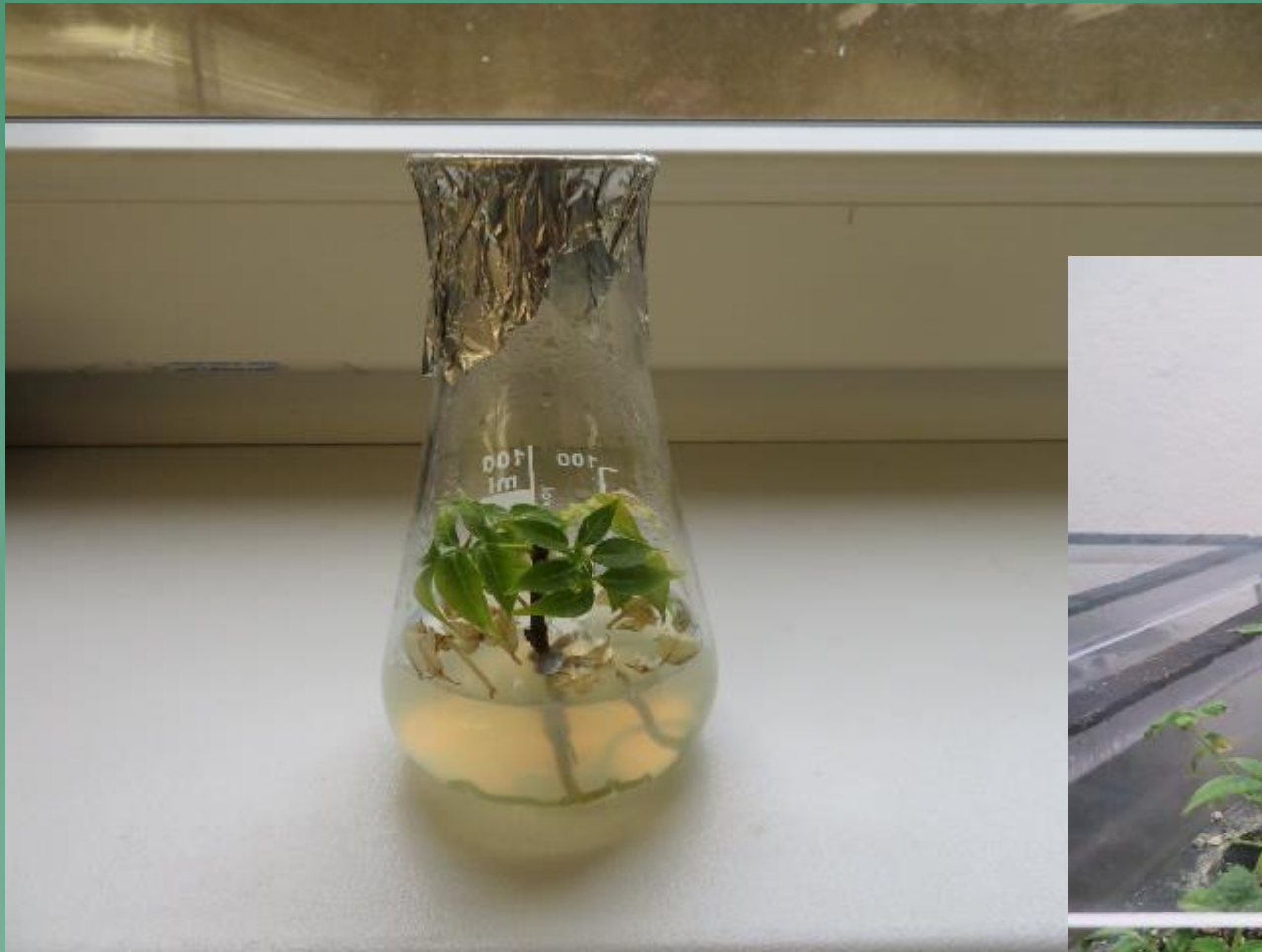


Po 40 dnech pěstování na multiplikačním mediu byla zhodnocena vitalita rostlin, přítomnost chloróz a multiplikační rychlost (procento rostlin s dvěma či více novými výhonky)



Počáteční experiment s klíčením semen na živném médiu potvrdil, že aby došlo ke klíčení, musí být osemení nejprve mechanicky narušeno skalpelem, neboť bez tohoto zásahu nedošlo ani po 12 týdnech k aktivaci semene. Klíčivost semen korkovníku byla nejvyšší při růstu na mediu MSI3 (40% klíčivost) s vysokou koncentrací cytokininů. Právě cytokininy, spolu s gibereliny, pozitivně ovlivňují klíčení semen a překonání dormance.

- 
- Byla potvrzena domněnka, že korkovník rostoucí v *in vitro* podmínkách nevyžaduje vysoké koncentrace cytokininů, jak uvádí někteří čínští autoři, např. Wang et al. Při zvýšeném množství cytokininu BAP v živném mediu byly rostliny chlorotické a velmi křehké. Nedostatek železa vede k narušení fotosyntézy či k nemožnosti tvorby ferredoxinu a chlorofylu. Ačkoliv rostly explantáty korkovníku stejně dobře na mediu MSM1 jako na MSM2, doporučujeme pro dlouhodobé pěstování použití média MSM1 s nejnižší koncentrací BAP. Důvodem je potenciální negativní vliv dlouhodobého působení vyšších koncentrací BAP na schopnost rhizogeneze, jak bylo ukázáno například u jeřábu břeku.



Explantátova kultura v živném médiu

Zakořeňující rostliny v substrátu



A photograph of a large, mature deciduous tree with dense green foliage, likely a linden tree, standing in a garden. Behind it is a tall, slender evergreen tree. The garden features a gravel path, a green bench, and various shrubs and flowers. The sky is overcast.

Děkuji za pozornost