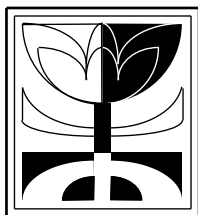


**VÝZKUMNÝ ÚSTAV SILVA TAROUČY PRO KRAJINU A OKRASNÉ  
ZAHRADNICTVÍ, v. v. i.  
Průhonice**



**POSTUPY MNOŽENÍ VYBRANÝCH ENDEMICKÝCH JEŘÁBŮ KLASICKOU  
GENERATIVNÍ METODOU A MIKROPROPAGACÍ**

**CERTIFIKOVANÁ METODIKA č. 2/2021–057**



**Autoři**

**Ing. Jana Šedivá, Ph.D.**, Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví,  
v. v. i. (VÚKOZ, v. v. i.), Průhonice, e-mail: sediva@vukoz.cz

**Ing. Jiří Velebil**, VÚKOZ, v. v. i., e-mail: velebil@vukoz.cz

**Mgr. Kateřina Podrábská**, VÚKOZ, v. v. i., e-mail: podrabska@vukoz.cz

**Ing. Hana Drahošová, Ph.D.**, VÚKOZ, v. v. i., e-mail: drahosova@vukoz.cz

**Průhonice 2021**

## **Procedures for the propagation of selected endemic *Sorbus* species by the classic generative method and micropropagation**

### **Abstract**

The novelty of the presented methodology consists in the elaboration of *in vitro* propagation procedures for four autochthonous *Sorbus* species, two endemic (*Sorbus gemella*, *S. omissa*) and two hybrid (*S. × abscondita*, *S. × kitaibeliana*). Propagation procedures for these species have not yet been published. The methodology also contains new knowledge about the possibilities of generative reproduction of the above mentioned species, especially in terms of the ability to form seeds, their viability and germination conditions.

The micropropagation process consists of four basic phases (establishment of primary culture, multiplication of shoots, rooting and acclimatization). Derivation of *in vitro* culture in cranes can be performed relatively easily from meristems of apical or depressed buds, from individuals of different ages (Malá et al. 1999). However, root induction in crane microcuts *in vitro* is problematic. Máchová et al. (2013) optimized the rooting of some Czech endemic *Sorbus* species *in vitro* by replacing BA in the multiplication phase with the cytokinin derivative MeOBAPR. The actual root induction took place *in vitro* on a medium with a high NAA content and further root development took place on a medium without growth regulators.

There are other solutions, namely rooting of microcuts in non-sterile conditions in the substrate. In the experiments, the effect of the powder stimulator Rhizopon®AA, which contained IBA in various concentrations, was tested during the project. This method was also tested for endemic *Sorbus* species for the first time. Based on our experiments, the rooting procedure in non-sterile conditions was optimized for *Sorbus gemella*, *S. omissa*, *S. × abscondita* and *S. × kitaibeliana*. For comparison, *Sorbus omissa* and *S. × abscondita* were also based in which the roots were induced sterile on agar medium with the addition of IBA or NAA at various concentrations. Rhizogenesis was achieved only in *S. × abscondita* and a maximum of 56% of shoots took root, in *S. omissa* not a single shoot took root. If the micro-cuttings were rooted in a peat substrate, root formation increased significantly in both species and reached over 90 %, without treatment with growth stimulators. This method of rooting in non-sterile conditions, peat substrate without the application of a growth stimulator, has proven itself in all four tested crane types. In contrast to previously published *in vitro* rooting procedures, the process of rooting in non-sterile conditions has been simplified by being induced without the presence of auxins and rooting taking place simultaneously with acclimatization (Šedivá et al. 2020, 2021).

For generative propagation, the propagation process has been optimized, including fruit collection, shelling, seed preparation before sowing and suitable sowing methods, including the substrates used. The best results were obtained by direct sowing of seeds at the optimal ripening time (end of September) in a standardized sowing substrate. Germination usually ranged between 60–80 %.

### **Key words**

Czech Republic, endemic, *in vitro*, methodology, propagation, seeding, *Sorbus*

### **Oponenti**

**Ing. Michaela Budňáková**, Ministerstvo zemědělství České republiky, Těšnov 65/17, 110 00 Praha-Nové Město, e-mail: michaela.budnakova@mze.cz

**Prof. Ing. Eloy Fernández Cusimamani, Ph.D.**, Česká zemědělská univerzita Praha, Kamýcká 129, 165 00 Praha-Suchbát, e-mail: eloy@ftz.czu.cz

**Dedikace**

Metodika „Postupy množení vybraných endemických jeřábů klasickou generativní metodou a mikropropagací“ byla vypracovaná jako výstup projektu TAČR-TA03030037 Technologická agentura ČR – „Metody záchrany unikátního českého genofondu jeřábů (rod *Sorbus*)“.

ISBN 978-80-87674-44-4 (VÚKOZ, v. v. i. Průhonice)

## Obsah

<b>1. CÍL METODIKY .....</b>	<b>5</b>
<b>2. ÚVOD .....</b>	<b>5</b>
2.1. Rozmnožování jeřábů v přirozených podmínkách .....	5
2. 2. Rozmnožování jeřábů v kultuře .....	8
2. 2. 1. Generativní způsob rozmnožování .....	8
2. 2. 2. Roubování .....	8
2. 2. 3. Očkování .....	8
2. 2. 4. Řízkování .....	9
2. 2. 5. Mikropropagace .....	9
<b>3. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ .....</b>	<b>10</b>
<b>4. METODICKÝ POSTUP.....</b>	<b>11</b>
4. 1. Mikropropagace .....	11
4. 1. 1. Založení primárních kultur a multiplikace výhonů .....	11
4. 1. 2. Zakořeňování a aklimatizace rostlin.....	13
4. 2. Generativní rozmnožování .....	16
4. 2. 1. Sběr plodů pro výsevy semen.....	16
4. 2. 2. Příprava semen před výsevem.....	18
4. 2. 3. Metoda přímého výsevu .....	19
4. 2. 4. Metoda stratifikace .....	19
4. 2. 5. Substráty pro výsev .....	20
<b>5. POPIS UPLATNĚNÍ.....</b>	<b>20</b>
<b>6. EKONOMICKÉ ASPEKTY .....</b>	<b>23</b>
<b>7. SEZNAM POUŽITÍ LITERATURY .....</b>	<b>23</b>
<b>8. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE .....</b>	<b>25</b>
<b>9. DEDIKACE .....</b>	<b>26</b>

## 1. CÍL METODIKY

Cílem metodiky je poskytnout optimalizovaný postup mikropropagace a generativního rozmnožování u čtyř domácích druhů, dvou endemických (*Sorbus gemella*, *S. omissa*) a dvou hybridogenních (*S. × abscondita*, *S. × kitaibeliana*). Uvedené množitelké postupy podpoří aktivní ochranu a uchování tohoto přírodního bohatství pro budoucí generace. Umožní napěstovat mladý materiál, který může sloužit k posílení stávajících ohrožených populací jmenovaných druhů nebo případně založení nových výsadeb v rámci repatriace jejich vymizelých populací.

## 2. ÚVOD

Z 22 druhů jeřábů v současnosti rozlišovaných v domácí dendrofloře je 13 druhů endemických a tři subendemické (okrajově zasahují za hranice státu, viz seznam a obr. 1 níže). Všechny tyto endemické druhy jsou vázány na malou oblast výskytu, někdy dokonce jen jedinou lokalitu. Populace našich druhů nejsou příliš početné – jsou tvořeny obvykle jen několika desítkami (v krajním případě méně než 20) nebo nanejvýš stovkami jedinců. Většina z nich se nachází na lokalitách představujících zbytkové fragmenty přirozených biotopů v kulturní krajině, jejichž ochrana není dostatečně nebo dokonce vůbec zajištěna.

Náplní této metodiky je vypracování postupů vegetativního (mikropropagace) a generativního množení zaměřených na čtyři autochtonní druhy jeřábů (*Sorbus gemella*, *S. omissa*, *S. × abscondita* a *S. × kitaibeliana*). Poznatky o přirozené reprodukční schopnosti těchto druhů nejsou známe nebo jsou velmi sporadické. Množitelké postupy pro pěstování v kultuře zcela chybí.

### 2.1. Rozmnožování jeřábů v přirozených podmínkách

Přirozená regenerace je limitující pro přežití a další prosperitu jeřábů na přirozených stanovištích. V přírodě se jeřáby rozmnožují převážně generativně, jen omezeně se můžou šířit klonálně, a to pomocí zakořeněných větví na lavinových dráhách či suťových svazích (např. *Sorbus sudetica*, *S. × decipiens*; Kociánová & Štursová 1986, Kovanda 1999, Kociánová et al. 2005) nebo vytvářením kořenových výmladků (vzácně zaznamenáno např. u *S. × decipiens*; vlastní pozorování). Jeřáby jsou rostliny hmyzosnubné (entomogamické) a většinou cizosprašné (alogamické), zdárný vývoj semen je tak závislý na větším množství rostlin v doletové vzdálenosti hmyzu. K autogamii, tedy k opylení vlastním pylem dochází jen vzácně (zaznamenáno např. u *Sorbus aucuparia* a *S. torminalis*; Pías & Guitián 2006, Hoebee et al. 2007, Rich et al. 2010). Kromě sexuálního způsobu rozmnožování, který je vlastní diploidním druhům, je u jeřábů častý nepohlavní způsob rozmnožování – apomixie. Apomikti jsou polyploidní a v převaze hybridogenního původu. Jsou to většinou endemity malých území, morfologicky velmi dobře charakterizované, vytvářející homogenní populace, na rozdíl od sexuálních primárních F<sub>1</sub> hybridů, kteří jsou vzácní a vyskytují se zpravidla jednotlivě.

Při apomixii vzniká semeno, i když nedochází k oplození – embryo se tedy vyvíjí partenogeneticky a je klonem matky. Podle buňky/struktury, ze které embryo vzniká, lze rozdělit apomixii na sporofytickou a gametofytickou. V prvním případě vzniká embryo přímo ze somatické buňky ve vajíčku. Tento typ rozmnožování se také nazývá polyembryonie. V druhém případě, při gametofytické apomixii, se ve vajíčku vyvine – stejně jako u pohlavního rozmnožování – zárodečný vak, který je ovšem zpravidla neredukovaný. Pokud se zárodečný vak vyvíjí z neredukované megasporu, jedná se o diplosporní apomixii. Při aposporní

apomixii vzniká zárodečný vak ze somatické buňky vajíčka. Endosperm, potřebný pro výživu embrya, vzniká u některých apomiktických rostlin autonomně z centrálních jader zárodečného vaku. Pokud je ke správnému vývoji endospermu u apomiktické rostliny potřeba oplození těchto jader, jedná se o tzv. pseudogamii (Bílá 2015, Briggs & Walters 2001, Grimanelli et al. 2001, Richards 2003). Všechny polyploidní jeřáby jsou schopné pseudogamického způsobu rozmnožování (Liljefors 1953, 1955; Jankun & Kovanda 1986, 1987; Dickinson & Campbell 1991). Aby tak mohly apomiktické druhy jeřábů v přirozených podmínkách tvořit životaschopná semena, je nutné k jejich zdárnému vývoji zajistit přítomnost dalších druhů jeřábů (dárců pylů), v našem případě hlavně *Sorbus torminalis* a obou zástupců *Sorbus* subgen. *Aria*, tj. *S. collina* a *S. danubialis*.

V České republice se vyskytují diploidní, triploidní a tetraploidní cytotypy jeřábů. Následující přehledný seznam našich jeřábů uvádíme pro představu o druhové bohatosti rodu na našem území, o míře jejich ohrožení a o úrovni jejich ploidie. Za jmény druhů a jejich autory je v závorce uveden rok prvního vědeckého popisu; dále česká jména; oblast výskytu; za pomlčkou stupeň ohrožení podle předposlední (Grulich 2012) a poslední (Grulich 2017) verze červeného seznamu cévnatých rostlin České republiky (kategorie seznamů jsou odděleny lomítkem; tam, kde není kategorie stanovena, je napsán symbol \*) a nakonec za středníkem počty chromozomů, které publikovali Lepší & Lepší (2017). Výskyt jeřábů na území České republiky je schematicky znázorněn na mapě na obr. 1.

*Sorbus albensis* M. Lepší, Boublík, P. Lepší & Vít (2009), jeřáb labský – České středohoří severozápadně od Litoměřic – C2 r / EN-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus alnifrons* Kovanda (1996), jeřáb olšolistý – údolí řeky Jihlavy u obce Jamolice, okres Znojmo – C1 r / EN-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus aria* (L.) Crantz (1763), jeřáb muk – v České republice pouze jižní Morava (Podyjí, Moravský kras, Bílé Karpaty) – C2b / VU (D1);  $2n = 2x = 34$ .

*Sorbus aucuparia* L. (1753), jeřáb ptačí – v České republice po celém území hojně, v teplejších územích vzácnější – \* / \*;  $2n = 2x = 34$ .

*Sorbus barrandienica* Vít, M. Lepší & P. Lepší (2012), jeřáb barrandienský – Český kras mezi Karlštejnem a Hostimí – C1 b / CR-D1;  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus bohémica* Kovanda (1961), jeřáb český – České středohoří – C2 b / EN-C2a(i);  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus chamaemespilus* (L.) Crantz (1763), jeřáb mišpulka – v České republice historicky snad pouze Krkonoše – \* / \*;  $2n = 2x = 34$ ?

*Sorbus collina* M. Lepší, P. Lepší & N. Mey. (2015), jeřáb chlumní – v České republice roztroušeně ve středních a severních Čechách, vzácně v západních Čechách – C3 (jako *S. graeca*) / NT;  $2n = 4x = 68$ .

*Sorbus cucullifera* M. Lepší & P. Lepší (2015), jeřáb kornoutolistý – moravská a rakouská část středního Podyjí – \* / CR-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

*S. danubialis* (Jáv.) Prodan (1923), jeřáb dunajský – v České republice roztroušeně až vzácně ve středních, severních, severozápadních Čechách a na jižní Moravě – C3 / NT;  $2n = 4x = 68$ .

*Sorbus eximia* Kovanda (1961), jeřáb krasový – Český kras – C2 b / EN-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus gemella* Kovanda (1996), jeřáb džbánský – oblast Džbánu v severozápadních Čechách – C1 b / EN-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

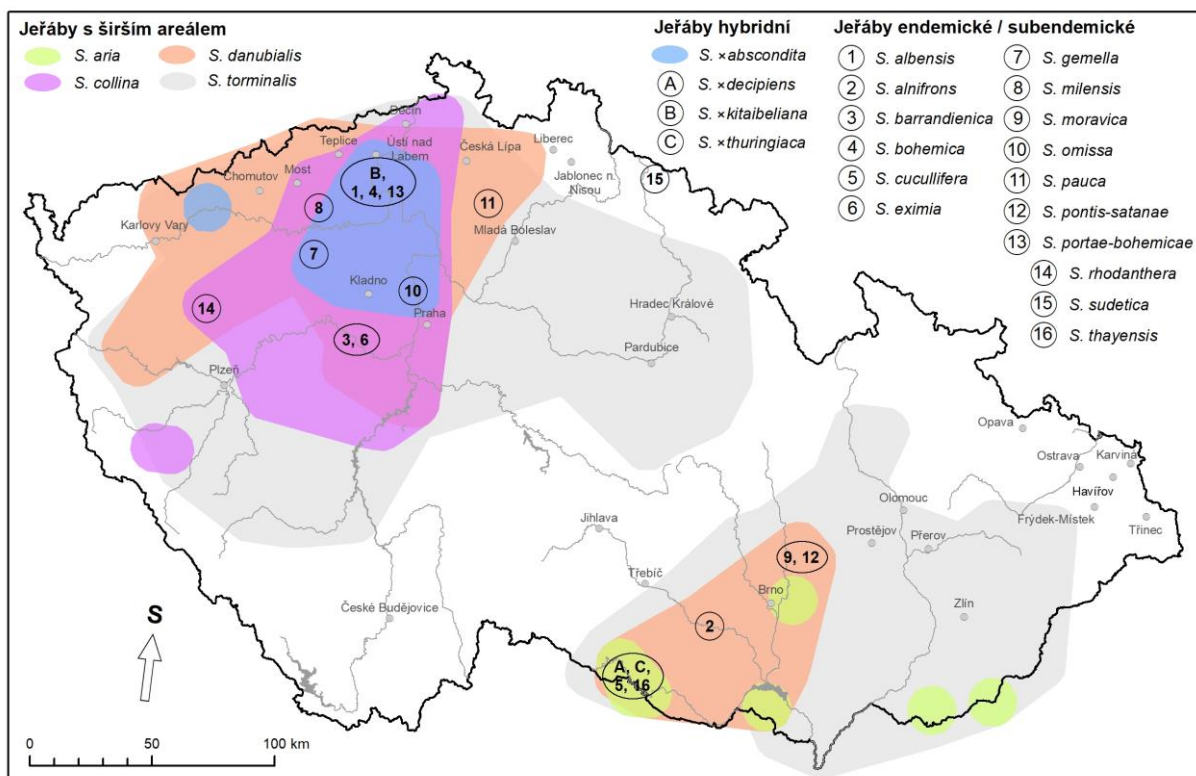
*Sorbus milensis* M. Lepší, Boublík, P. Lepší & Vít (2008), jeřáb milský – vrch Milá u obce Milá, okres Louny – C1 b / CR-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

*Sorbus moravica* M. Lepší & P. Lepší (2015), jeřáb moravský – Moravský kras (Suchý žleb, údolí Punkvy, okolí Lažánek) – \* / CR-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .

- Sorbus omissa* Velebil (2012), jeřáb opominutý – údolí Vltavy u Roztok a Libčic nad Vltavou – C1 r / EN-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus pauca* M. Lepší & P. Lepší (2013), jeřáb bezdězský – vrchy Bezděz a Malý Bezděz v severních Čechách – \* / CR-B1ab(iii);  $2n = 4x = 68$ .
- Sorbus pontis-satanae* M. Lepší & P. Lepší (2015), jeřáb čertův – Suchý žleb v Moravském krasu \* / CR-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus portae-bohemicae* M. Lepší, P. Lepší, Vít & Boublík (2009), jeřáb soutěskový – České středohoří, průlomové údolí Porta Bohemica a Oparenské údolí – C1 b / CR-D1;  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus rhodanthera* Kovanda (1996), jeřáb manětínský – hora Chlum u Manětína, okr. Karlovy Vary – C1 b / CR-B1ab(iii);  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus sudetica* (Tausch) Bluff, Nees & Schauer (1837), jeřáb sudetský – endemit české a polské části Krkonoš (KrNaP) – C1 b / EN-D1;  $2n = 4x = 68$ .
- Sorbus thayensis* M. Lepší & P. Lepší (2015), jeřáb podyjský – moravská a rakouská část středního Podýjí – \* / CR-D1;  $2n = 4x = 68$ .
- S. torminalis* (L.) Crantz (1763), jeřáb břek – v České republice v teplejších územích vzácně až roztroušeně – C4a / LC;  $2n = 2x = 34$ .

#### Hybridní druhy

- Sorbus* × *abscondita* Kovanda (1996; *S. aucuparia* × *S. danubialis*), jeřáb skrytý – severovýchodní kvadrant Čech, v oblastech společného výskytu obou rodičů – \* / \*;  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus* × *decipiens* (Bechst.) Petz. & Kirchn. (1864; *S. aria* × *S. torminalis*), jeřáb tenkoplstnatý – Podýjí, Moravský kras – C4b (jako *S. hardeggensis*) / \*;  $2n = 2x = 34$ .
- Sorbus* × *kitaibeliana* Baksay & Kárpáti (1960; *S. danubialis* × *S. torminalis*), jeřáb Kitaibelův – Trmice v Českém středohoří – \* / \*;  $2n = 3x = 51$ .
- Sorbus* × *thuringiaca* (Nyman) C. Fritsch (1896; *S. aria* × *S. aucuparia*), jeřáb polozpeřený – Podýjí – \* / \*;  $2n = 2x = 34$ .



Obr. 1 Výskyt jeřábů na území České republiky (stav k roku 2021). Plošné areály byly vymezeny nástrojem „Sample by Buffered Local Adaptive Convex-Hull“ (C. French a J. Bennett, [www.sdmttoolbox.org](http://www.sdmttoolbox.org)), který kombinuje tvorbu obalové zóny a minimálního konvexního polygonu. Nálezová data jeřábů s plošným výskytem byla odvozena z databáze Pladias (databáze české flóry a vegetace, [www.pladias.cz](http://www.pladias.cz)).

## 2. 2. Rozmnožování jeřábů v kultuře

Pro rozmnožování jeřábů je v praxi nejvíce využíváno výsevů semen (generativní rozmnožování). Při metodě vegetativního rozmnožování lze s úspěchem využít xenovegetativního roubování (kopulace) či očkování (okulace) nebo autovegetativní mikropropagace či vzácně vyžívaného řízkování. Nejvíce propracované množitelské postupy jsou známé u jeřábu oskeruše (*Sorbus domestica*), a to zejména s ohledem k jeho využití v ovocnářství. Všechny výše popisované množitelské způsoby mohou být pro jeho rozmnožování využity (Hrdoušek et al. 2014).

### 2. 2. 1. Generativní způsob rozmnožování

Je v kultuře u jeřábů převažující. Tento způsob rozmnožování je vhodný z hlediska získání velkého množství jedinců a využívá se zejména při pěstování sadebního materiálu v lesnických školkách nebo pro napěstování podnožového materiálu pro štěpování ve sféře okrasného zahradnictví. Je třeba mít na paměti, že potomstvo sexuálně se rozmnožujících druhů nebude homogenní. Semenače oproti roubovaným či očkovaným rostlinám rostou bujněji a jsou vitálnější. Podrobněji o generativním rozmnožování viz kapitolu 4.2.

### 2. 2. 2. Roubování

Nejrozšířenějším způsobem vegetativního množení u jeřábů je roubování, tedy přenášení rouby štěpované rostliny na podnož (více např. Bärtels 1988, Walter 2001). Využívá se především pro namnožení rozličných forem a odrůd, u nichž je účelné zachovat všechny jejich fenotypové i genotypové vlastnosti. Z hlediska ochrany přírody však tento způsob není vhodný, vzhledem k použití geneticky odlišné podnože. Častým jevem je odumření rouby a přežití pouze podnožové rostliny, které není v daném případě žádoucí. Při výsadbách do přírody tak může dojít k neplánované výsadbě nepůvodní dřeviny, jako podnože se totiž kromě domácích druhů jeřábů (*Sorbus aria*, *S. aucuparia*) využívá často např. jeřáb prostřední (*S. intermedia*). Roubovat lze dokonce i na jiné příbuzné rody (mezidruhovému štěpování), jako třeba hloh (*Crataegus*), hrušeň (*Pyrus*) nebo mišpule (*Mespilus*), nové výzkumy však ukázaly na malý význam mezidruhovému štěpování vzhledem k nízké afinitě a krátkověkosti roubovanců (Hrdoušek et al. 2014).

### 2. 2. 3. Očkování

Jedná se o přenášení tzv. očka (pupenu) z letorostu (výhonu v době vegetačního období, tedy před ukončením prodlužovacího růstu nebo plným vyvráním pletiv) na podnož. Obecně se využívá zejména při produkci velkého množství materiálu v ovocnictví. U jeřábů je tento způsob rozmnožování spíše upozaděn roubováním, a to už jak z důvodu potřeby menšího množství rostlinného materiálu, tak lepšího rozložení prací v průběhu roku (očkování se provádí zpravidla v druhé polovině vegetační sezony, roubovat lze i v době vegetačního klidu). Podle Benedíkové (Benedíková 2009) bylo zjištěno, že ujímavost očkovanců byla nižší (68 %) v porovnání s roubovanci (75–100 %).



## 2. 2. 4. Řízkování

U jeřábu oskeruše je možné namnožit mladé rostliny také pomocí bylinných řízků (Čížková 1997). Dají se použít i kořenové řízky, úspěšnost tohoto způsobu však závisí na schopnosti jednotlivých stromů vytvářet kořenové výmladky (Benedíková 2009, Dagenbach 1981). Řízkování bylo testováno také u *Sorbus* × *thuringiaca*, mělo však úspěšnost pouze 24 % (Bärtels 1988).

## 2. 2. 5. Mikropropagace

Pro produkci mladého materiálu se u jeřábů v posledních 30 letech s úspěchem využívá mikropropagace. Podstatou *in vitro* kultur (mikropropagace) je kultivace rostlinných pletiv na živném médiu sterilně v řízených podmínkách (teplota, intenzita světla, délka dne). Pro založení *in vitro* kultury jsou u dřevin často využívány vrcholové nebo úžlabní pupeny, které jsou odříznuté z letorostů. Při použití tohoto typu explantátu (organizované pletivo) jsou odvozené rostliny z těchto kultur genotypově shodné s mateřskou rostlinou (Preece 1997). Mikropropagace je vhodná metoda množení u druhů, kde se vyskytují problémy s generativním a klasickým vegetativním množením (roubování, řízkování) (Tripepi 1997).

Mikropropagační postupy byly vypracovány především u hospodářsky významných druhů jeřábů jako je *Sorbus torminalis* (Dujíčková et al. 1991, Malá et al. 2005, Malá et al. 2009), *S. aucuparia* (Chalupa 1983, 1987; Malá et al. 2005; Lall et al. 2006) a *S. domestica* (Arrillaga et al. 1991; Dujíčková et al. 1991, Meier-Dinkel 1998, Miko et al. 2004, Nikolaou et al. 2008, Ďurkovič & Mišalová 2009, Malá et al. 2011, Piagnani et al. 2012). Tyto druhy jsou využívány především pro produkci dřeva. Jeřáby rostou pomalu, jejich dřevo je velmi tvrdé a pevné. Dřevo jeřábu břeku (*S. torminalis*) patří mezi nejvíce ceněné (Demesure et al. 2000).

V nedávné době (Máchová et al. 2013) byly vypracovány mikropropagační protokoly také pro některé české endemické druhy jeřábů nebo pro ty, které byly za endemické dřívě považovány (*Sorbus alnifrons*, *S. bohemica*, *S. gemella*, *S. querneae*, *S. hardeggensis*, *S. rhodanthera* a *S. sudetica*). Jsou významné především z ekologického hlediska, pro zvýšení biodiverzity lesních ekosystémů. Některé endemické druhy jeřábů se nacházejí a dobře prosperují i na extrémních stanovištích, kde běžné druhy dřevin nerostou.

Mikropropagace zahrnuje čtyři základní fáze: iniciační (založení primární kultury), multiplikační (zmnožení výhonů), zakořeňovací (tvorba kořenů) a aklimatizaci rostlin (Hartmann et al. 2011). V iniciační a multiplikační fázi se u mnoha rostlinných druhů včetně jeřábů používá BA (benzyladenin), cytokinin, který je velmi účinný pro indukci výhonů, a navíc je cenově dostupný v porovnání s ostatními cytokininy (Werbrouck 1995, Bairu et al. 2007). Pro větší multiplikační efekt je cytokinin BA často kombinován s auxinem IBA (kyselina indolyl-3-máselná) např. u *Sorbus aucuparia* (Chalupa 2002), u *S. torminalis* (Malá et al. 2009), u *S. redliana* (Ördögh et al. 2006), u *S. domestica* (Malá et al. 2011).

Nejnáročnější fází mikropropagace je obecně u dřevin zakořeňovací fáze a převod rostlin do nesterilních podmínek (aklimatizace). U většiny publikovaných mikropropagačních protokolů jeřábů zakořeňovací fáze probíhala jednofázově na živných médiích v *in vitro* podmínkách za přítomnosti auxinů. Pro tvorbu kořenů u jeřábů *in vitro* je často využívána IBA v kombinaci s NAA (kyselina  $\alpha$ -naftyloctová) např. u *Sorbus torminalis* a *S. aucuparia* (Chalupa 1987, 2002). Suvorova et al. (1990) použila pro zakořeňování jeřábů IBA v kombinaci s IAA (kyselina indolyl-3-octová). Jeong & Sivanesan (2015) indukoval rhizogenezi u *Sorbus commixta* na médiu pouze s IBA.

Dalším způsobem, jak dosáhnout rhizogeneze u některých druhů jeřábů je dvoufázové zakořeňování (*in vitro*), které spočívá v expozici výhonů na médiu s vysokým obsahem auxinu a poté přenos na médium bez růstových regulátorů. Tento způsob zakořeňování se

osvědčil např. u sedmi, v převaze českých druhů jeřábů (Máchová et al. 2013). V první fázi byly výhony kultivovány krátkodobě (sedm dní) na agarovém médiu s vysokým obsahem NAA bez přítomnosti světla (vytvořeny základy kořenů). V druhé fázi byly výhony přeneseny na agarové médium bez růstových regulátorů a další vývoj rostlinek probíhal na světle. U sedmi druhů jeřábů v průměru zakořenilo 66 % výhonů na médiu s NAA, mezi jednotlivými druhy jeřábů byly nalezeny rozdíly. Použití IBA se neosvědčilo, v průměru zakořenilo pouze 20 % výhonů.

Šedivá et al. (2021) dosáhla u *Sorbus × abscondita* nejlepších výsledků zakořenění výhonů na MS médiu (Murashige a Skoog 1962) s 3 mg/l IBA (56 %), zatímco s NAA pouze u 6,7 % výhonů. V případě *Sorbus omissa* tvorba kořenů nebyla dosažena.

Dalším způsobem indukce kořenů je zakořeňování mikrovýhonů nesterilně. Šedivá et al. (2021) dosáhla dobrých výsledků u čtyř endemických jeřábů (*Sorbus gemella*, *S. omissa*, *S. × abscondita* a *S. × kitaibeliana*) při zakořeňování mikrořízků v rašelinovém substrátu s perlitem bez ošetření růstovými stimulatory. U všech druhů byla dosažena rhizogeneze, v průměru zakořenilo 74 % mikrovýhonů. Genotyp hrál významnou roli při zakořeňování, mezi jednotlivými druhy jeřábů byly nalezeny významné rozdíly.

U *Sorbus domestica* měl na kapacitu zakořeňování významný vliv fyziologický stav primárního explantátu, ze kterého byly *in vitro* kultury odvozeny. Bylo zjištěno, že maximální zakořeňovací schopnost byla dosažena u výhonů odvozených z juvenilního materiálu (87 %), zatímco výhony, které pocházely z *in vitro* kultur odvozených z dospělých stromů, zakořenilo pouze 33 % výhonů (Arrillaga et al. 1991).

U *Sorbus torminalis* bylo zvýšení tvorby kořenů dosaženo náhradou BA v multiplikační fázi, derivátem cytokininu MeOBAPR 6-(3-methoxybenzylamino)-9-β-D-ribofuranosylpurin (Malá et al. 2009). Příčinou může být hromadění derivátů BA v pletivech nově vytvořených výhonů, což u některých druhů způsobuje růstové abnormality a inhibice tvorby kořenů (Werbrouck 1995, Bairu et al. 2007).

Úspěšnost množení jeřábů v *in vitro* podmínkách je ovlivněno několika faktory: stářím donorové rostliny, typem explantátu, genotypem, složením kultivačního média a růstovými regulatory (Yang et al. 2012), proto je nezbytné pro každý druh jeřábu optimalizovat mikropropagační protokol.

### 3. SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Novost předložené metodiky spočívá ve vypracování množitelských postupů v podmínkách *in vitro* pro čtyři domácí druhy jeřábů, dva endemické (*Sorbus gemella*, *S. omissa*) a dva hybridogenní (*S. × abscondita*, *S. × kitaibeliana*). Množitelské postupy pro tyto druhy nebyly doposud publikovány. Metodika také obsahuje nové poznatky o možnostech generativního rozmnožování výše uvedených druhů, a to především z hlediska schopnosti tvořit semena, jejich životaschopnosti a podmínek klíčení.

Mikropropagační postup se skládá ze čtyř základních fází (založení primární kultury, multiplikace výhonů, zakořeňování a aklimatizace). Odvození *in vitro* kultury u jeřábů lze poměrně bez obtíží provést z meristémů vrcholových nebo úžlabních pupenů, a to z jedinců různého stáří (Malá et al. 1999). Problematická je však indukce kořenů u mikrořízků jeřábů v *in vitro* podmínkách. Máchová et al. (2013) optimalizovala zakořeňování některých českých endemických jeřábů v *in vitro* podmínkách náhradou BA v multiplikační fázi za derivát cytokininu MeOBAPR. Vlastní indukce kořenů probíhala *in vitro* na médiu s vysokým obsahem NAA a další vývoj kořenů probíhal na médiu bez růstových regulátorů.

Existují i další řešení, a to zakořeňování mikrořízků v nesterilních podmínkách v substrátu. V experimentech byl během projektu testován vliv pudrového stimulatoru Rhizopon® AA,

který obsahoval IBA v různé koncentraci. Tento způsob byl poprvé otestován také pro endemické jeřáby. Na základě našich experimentů byl optimalizován postup zakořeňování v nesterilních podmínkách pro *Sorbus gemella*, *S. omissa*, *S. × abscondita* a *S. × kitaibeliana*. U *Sorbus omissa* a *S. abscondita* byly pro porovnání založeny také experimenty, kdy byly kořeny indukovány sterilně na agarovém médiu s přidavkem IBA nebo NAA v různé koncentraci. Rhizogeneze bylo dosaženo pouze u *S. × abscondita* a maximálně zakořenilo 56 % výhonů, u *S. omissa* nezakořenil ani jeden výhon. Jestliže byly mikrořízky zakořeňovány v rašelinovém substrátu, u obou druhů se výrazně zvýšila tvorba kořenů a dosahovala přes 90 %, a to bez ošetření růstovými stimulanty. Tento způsob zakořeňování v nesterilních podmínkách, rašelinovém substrátu bez aplikace růstového stimulantu se osvědčil u všech čtyř testovaných druhů jeřábů. Oproti dříve publikovaným postupům zakořeňování jeřábů v *in vitro* podmínkách, byl proces zakořeňování v nesterilních podmínkách zjednodušen tím, že byl navozen bez přítomnosti auxinů a zakořeňování probíhalo současně s aklimatizací (Šedivá et al. 2020, 2021).

U generativního rozmnožování byl optimalizován množitelický postup zahrnující sběr plodů, jejich luštění, přípravu semen před výsevem a způsoby vhodného výsevu, včetně použitých substrátů. Nejlepších výsledků bylo dosaženo přímým výsevem semen v optimální době zralosti (konec září) do standardizovaného výsevního substrátu. Klíčivost se obvykle pohybovala mezi 60–80 %.

## 4. METODICKÝ POSTUP

### 4. 1. Mikropropagace

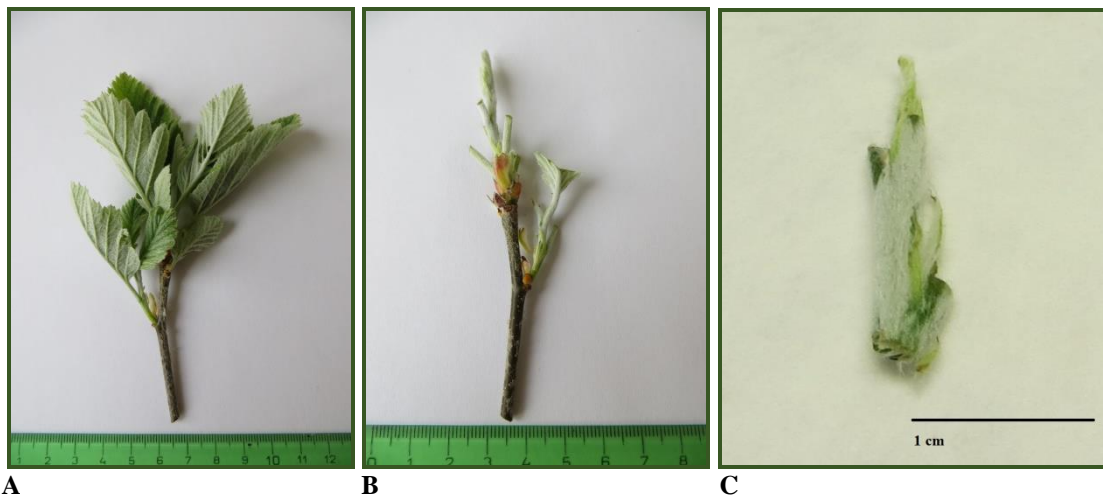
#### 4. 1. 1. Založení primárních kultur a multiplikace výhonů

V jarním období (duben–květen) se odebírají výhony (10–15 cm) z obrostu ze spodní části kmene nebo ze spodní části koruny. V případě, že jsou k dispozici pro odběr stromy různého stáří, z fyziologického hlediska je odběr nejlepší z nejmladších jedinců. Před sterilizací jsou výhony částečně odlistěny, to znamená, že se ponechá část řapíku (0,5 cm), aby během sterilizace nedošlo k poškození pupenů (Obr. 2 A,B). Povrchová sterilizace se provede 50% roztokem bělidla SAVO® (1,4% chlornan sodný) s kapkou Tweenu 20 (smáčedlo), nádoba s roztokem a výhony se uzavře a nechá se třepat na třepačce po dobu 15 min. Pak se nádoba přemístí do flow-boxu a výhony se sterilně promývají ve sterilní vodě 3 × po 10 min. Jako primární explantát se použije stonkový segment s vrcholovým pupenem nebo jednonodální segment (1–1,5 cm). Primární explantát se upraví tak, že se odstraní zbylé části řapíků (Obr. 2 C), poté se explantát vertikálně umístí na iniciačního MS médium.

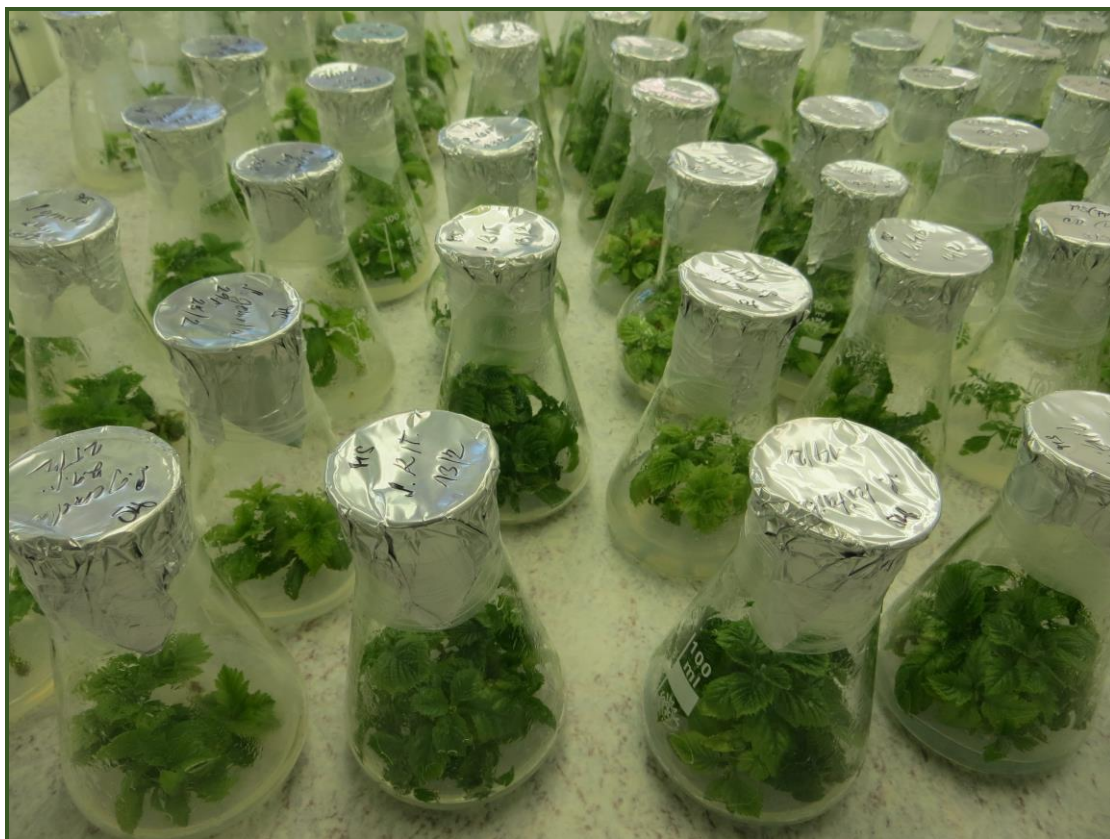
Příprava média spočívá v rozpuštění anorganické složky s vitaminy (Duchefa) v destilované vodě. Roztok média se dále doplní o růstové regulátory (0,5 mg/l BA; 0,1 mg/l IBA), sacharózu (20 g/l) a agar (7 g/l). Pro potlačení mikrobiální kontaminace se do kultivačního média přidává PPM (Plant Preservative Mixture, USA). Před autoklávováním se upraví pH hydroxidem draselným (KOH) na hodnotu 5,8. Kultivační nádoba (100 ml Erlenmeyer baňka) obsahuje 25 ml média. Nádoby s kulturami jeřábů se umístí do kultivační místnosti a kultivují se při 16-hod fotoperiodě, intenzitě světla 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a teplotě 22  $\pm 1$  °C. Primární kultury jsou každé 3–4 týdny přeneseny na čerstvé kultivační medium stejného složení.

Poté co z vrcholového nebo axilárního pupenu vyroste výhon (proliferace), a dosáhne kolem 2–3 cm, rozdělí se na polovinu a kultivuje se na čerstvém MS médium stejného složení jako ve fázi iniciační. Jakmile se začínají vytvářet trsy výhonů (multiplikace), jednotlivé výhony se oddělí a pro zvýšení počtu nově vytvořených výhonů se výhony rozdělí na jednonodální

segmenty, které se umístí vertikálně na médium. Většinou se vytvoří 2–4 výhony v závislosti na druhu jeřábu (Obr. 3,4). Interval přenosu na čerstvé živné médium se pohybuje mezi 4–5 týdny.



**Obr. 2 A, B, C:** Úprava rostlinného materiálu pro založení *in vitro* kultury: A – Narašený výhon jako zdroj primárního explantátu; B – Úprava výhonu před sterilizací Savem; C – Úprava primárního explantátu ve sterilních podmínkách



**Obr. 3:** Multiplikující kultura jeřábů *Sorbus* sp. po 4 týdnech na MS médiu s BA a IBA



**Obr. 4:** Detail multiplikující kultury u *Sorbus omissa*

#### **4. 1. 2. Zakořeňování a aklimatizace rostlin**

Pro zakořeňování vybraných endemických jeřábů se v první fázi napěstují výhony ve sterilních podmínkách a pak se zakoření nesterilně v rašelinovém substrátu bez přítomnosti růstových regulátorů.

Mikrořízky se odebírají z 8–10 týdnů starých *in vitro* kultur kultivovaných na MS médiu s růstovými regulátory (0,5 mg/l BA + 0,1 mg/l IBA). Trsy výhonů se vyjmou z kultivační nádoby pinzetou a oddělí se na jednotlivé výhony. Úprava mikrořízky spočívá v odstranění spodních listů, redukci listové plochy u velkých listů a šikmým seříznutím báze stonku ostrým skalpelem. Optimální délka mikrořízky je kolem 2,5 cm (Obr. 5). Takto upravené mikrořízky se ponoří se na 1 min do roztoku Previcuru Energy (0,15 %). Tvorba kořenů probíhá v plastových miskách (14 × 8,5 × 5 cm) se čtyřmi otvory (Obr. 5). Misky jsou naplněny vlhkým propařeným množárenským substrátem (rašelina a perlit, 1:1, v/v), do kterého se zapichují mikrořízky (18 ks/misku). Misky (3 ks) se vloží do plastických boxů s průhledným víkem s větráním (40 × 20 × 20 cm, Minipa, Česká republika). Boxy s mikrořízkou se umístí do kultivační místnosti s umělým osvětlením do 16 hod fotoperiody, s teplotním režimem 24/19 ± 1°C (den/noc). Po 1 týdnu se otevřou větrací otvory víka pro lepší aklimatizaci rostlin. Zálivka se obvykle provede 1 × týdně kohoutkovou vodou. Substrát nesmí být přemokřen, jinak dochází k hnití rostlin. Po 5–6 týdnech se zakořenělé rostliny vyjmou opatrně ze substrátu (Obr. 6), dlouhé kořeny se mohou mírně zkrátit a přesází se do květináčů (ø 8 cm) do rašelinového substrátu Remix-D (Rekyva, Siauliai, Litva) a jsou přeneseny do skleníku s teplotou 18/15 °C (den/noc). Po prokořenění se rostliny pravidelně přesazují do větších květináčů. V prvním roce je nutné, aby rostliny přezimovaly ve studeném skleníku (Obr. 7).





**Obr. 5:** Zakořeňování mikrořízků *Sorbus omissa* v nesterilních podmínkách: detail upraveného mikrořízku; zakořenělé rostliny



**Obr. 6:** Zakořeněné mikrořízky *Sorbus × abscondita* v množárenském substrátu.





**Obr. 7:** Produkce rostlin u jeřábů odvozených z *in vitro* kultur: mladé rostliny ve skleníkových podmínkách – detail *Sorbus* × *abscondita*; detail *S. omissa* (zleva).

## 4. 2. Generativní rozmnožování

V přírodních podmínkách jeřáby povětšinou vykazují tzv. střídavou plodnost. Zpravidla tak přichází semenné roky, kdy jeřáby bohatě plodí, následované obdobím ročního či dvouletého odpočinku, kdy je plodnost do různé míry omezena, nebo nedochází v takové míře k vývoji životaschopných semen. V průběhu řešení projektu mezi lety 2018–2021 byla zvýšená plodnost modelových druhů s dostatkem vyvinutých semen zaznamenána pouze v sezóně roku 2020. Značné množství plodů bylo zaznamenáno především v populacích *Sorbus gemella* a na jedincích nově rozeznávaného hybridogenního druhu předpokládané rodičovské kombinace *S. gemella* × *S. torminalis*, který byl rozpoznán teprve v průběhu řešení projektu. Oba tyto druhy byly zařazeny do výsevních pokusů pro stanovení optimálního množitelského postupu generativní cestou. Posledně jmenovaný druh byl do pokusů zařazen jako náhrada za jeden z modelových druhů, *S. omissa*, který sice též bohatě plodil, ze sebraného množství 500 malvic však nebylo vyluštno ani jedno životaschopné semeno. Všechna byla buď abortovaná, nebo napadená hmyzími larvami. S tímto problémem se populace jeřábu opominutého potýkají dlouhodobě. Neschopnost vytvořit životaschopná semena souvisí jak s absencí většího množství jiných druhů jeřábů (potřebných, coby dárců pylu pro oplození jader zárodečného vaku z důvodu vývinu endospermu nezbytného pro výživu embrya) v okolí kvetoucích jedinců, tak se vzájemnou izolací jednotlivých rostlin ve stinném dubovém porostu. Obdobná situace byla zjištěna i u jedinců *S. × kitaibeliana* a *S. × abscondita*, které se podařilo rozmnožit metodou *in vitro*.

### 4. 2. 1. Sběr plodů pro výsevy semen

Malvice pro výsev jeřábů je možno odebírat ve fázi jejich ukončeného růstu, a to od začátku jejich vybarvování až do úplné zralosti, kdy jsou plody charakteristicky vybarvené a změkklé. V nižších a středních polohách se zpravidla jedná o období od začátku září do konce října či začátku listopadu.

Při odběru malvic v brzkých termínech (přibližně na začátku září) je jejich barva většinou zelená, pouze první z nich (exponované ke slunci na osvětlené straně stromů) začínají měnit barvu do odstínů oranžové (obr. 8). V této fázi jsou již semena fyziologicky zralá a po jejich vylúštění typicky vyvinutá a zbarvená. Tuto variantu je možné zvolit v případě přímých výsevů z důvodu snadnějšího klíčení semen díky nízké koncentraci inhibičních látek. Stratifikace v tomto případě není na místě. Nevýhodou je pracnější luštění semen kvůli dosud pevným pletivům plně nedozrálého mezokarpu a endokarpu malvic.





**Obr. 8:** Malvice *Sorbus gemella* v prvním termínu odběru (1. 9. 2020) pro výsevní pokusy. Ročov, západně exponované svahy mezi vrchy Čihadlo a Podhora.

Snadnější cestou, zejména z důvodu luštění semen, je odebírat malvice plně vybarvené a změkklé (tzv. konzumní zralost), kdy mají typickou barvu a konzistenci dužniny (obr. 9). Tento termín obvykle nastává od konce září do konce října. V této fázi již jsou klíčící schopnosti semen výrazněji ovlivněny inhibičními látkami vznikajícími ve zrajících malvicích. Pokud ale nesbíráme plody přezrálé (zčernalé, s blátivou dužninou, většinou již opadávající z rostliny), nemají tyto látky při vhodném způsobu výsevu na klíčení výrazný vliv. Pokud byly plody přezrálé, je lépe je stratifikovat.



**Obr. 9:** Malvice *Sorbus gemella* v druhém termínu odběru (23. 9. 2020) pro výsevní pokusy. Konětopy, západně exponovaný svah opukového plata 400 m východně obce.

Malvice by měly být odebírány do sáčků v požadovaném množství (z jedné dobře vyvinuté malvice lze obvykle získat jedno nebo dvě životaschopná semena). Matečné rostliny by měly být zaměřeny přístrojem GPS nebo jinak označeny. O sběrech ohrožených rostlin by měla být vždy vedena přísná evidence. Pro označování sběrů se osvědčilo používat příslušný číselný kód sběru vzniklý kombinací pořadového čísla zaměřeného bodu v GPS přijímači a poslední dvojicí čísel daného kalendářního roku oddělených lomítkem. Číselný kód slouží též k případné zpětné identifikaci matečné rostliny. Ke sběru je vhodné též přidat formou poznámky údaj o lokalitě či dendrometrické údaje mateřské rostliny.

#### **4. 2. 2. Příprava semen před výsevem**

Malvice by měly být luštěny bezprostředně po jejich zapsání do evidenčních formulářů. V případě varianty sběru plně nedozrálých malvic je luštění náročnější kvůli dosud pevné dužnině. Malvice musí být mechanicky narušeny větším tlakem pevných předmětů nebo rozkrojeny tak, aby nedošlo k rozříznutí semen. Tato metoda není vhodná pro větší množství malvic. Díky optimální době zralosti v případě druhé varianty jsou semena z malvic lehce dostupná jejich jednoduchým mechanickým roztláčením mezi prsty (ve větším množství je možné nechat dužninu vykvasit a semena se pak vymyjí). Po vyluštění je možné přistoupit k testu životaschopnosti semen máčením ve vodní lázni. Semena, která plavou při hladině nebývají většinou klíčivá.

Výsevní truhlíky by měly být ošetřeny přípravkem proti houbovým chorobám a umístěny do ohrazeného prostoru chráněného pletivem proti vniknutí hlodavců (Obr. 10). Kvůli kontaminaci houbovými patogeny (např. rodu *Phytophthora*) ze závlahové vody z vodotečí



nebo rybníků (používané pro zálivku běžných kultur rostlin) by měla být pro zálivku výsevu používána pouze pitná nebo dobře přečištěná voda.

#### 4. 2. 3. Metoda přímého výsevu

Semena vyséváme ihned po vyluštění a zkoušce životaschopnosti máčením. Truhlíky s vysetými semeny je zapotřebí umístit do nevytápěného prostoru (pařeniště, skleníku), kde stratifikace probíhá v (polo)přirozených podmínkách po dobu vegetačního klidu až do nástupu klíčení v jarním období. Případná přelehla semena (semena, která díky inhibičním látkám nevyklíčila v první vegetační sezoně po výsevu) je možné ponechat, po přepikýrování vzešlých semenáčů, ve výsevních truhlících do příštího roku. Tato metoda je technologicky jednodušší. Vynecháním fáze stratifikace zjednodušíme výsevní postup o pracnou manipulaci se semeny při jejich uskladňování a následném výsevu.



**Obr. 10:** Metoda přímého výsevu použitá pro druhy *Sorbus gemella* a *S. gemella* × *S. torminalis*. V horní části jsou umístěny varianty výsevů obou druhů označených jmenovkami pro pozdější identifikaci, ve spodní části jsou výsevy plovoucích semen pro zjištění jejich skutečné životaschopnosti.

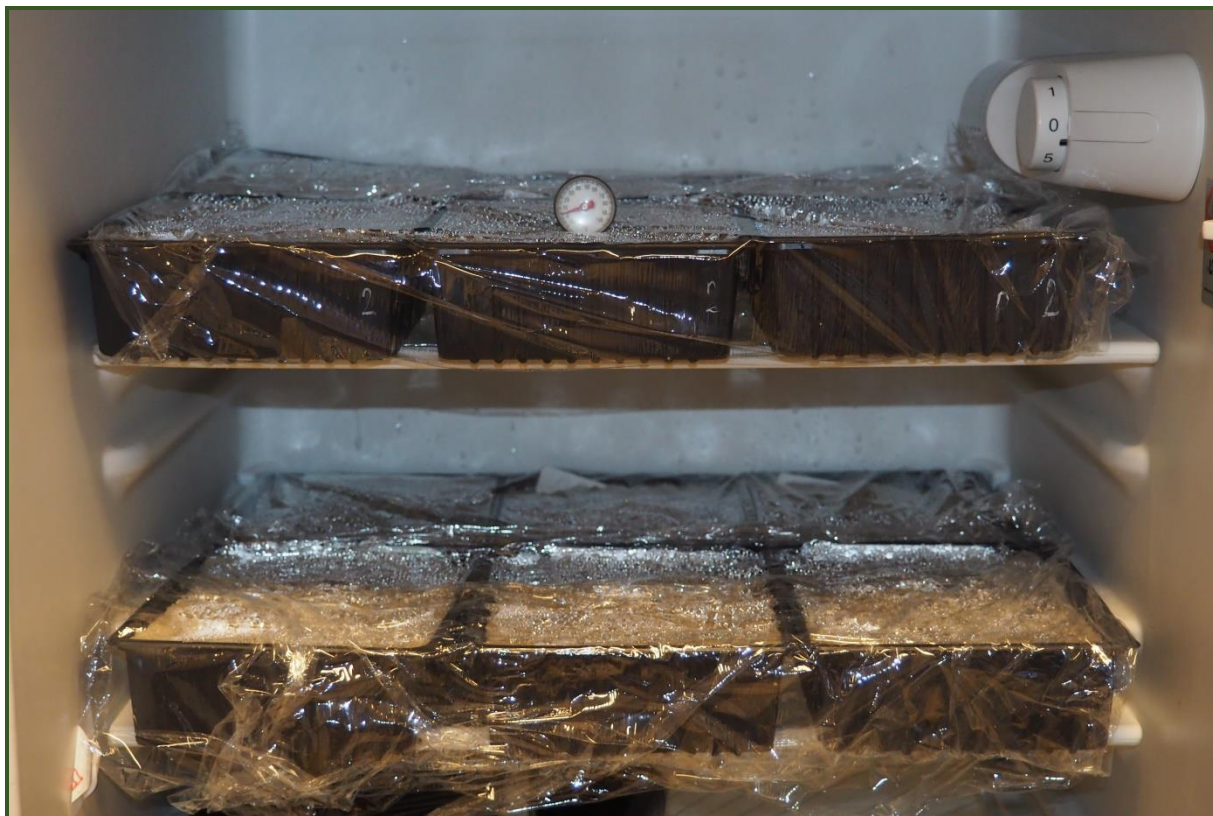
#### 4. 2. 4. Metoda stratifikace<sup>1</sup>

Semena pro tuto metodu ukládáme do truhlíků (ošetřených přípravkem proti houbovým chorobám) s vlhkým křemičitým pískem. Truhlíky by měly být uskladněny v chladicích boxech po dobu tří měsíců při teplotě 1–8 °C (Obr. 11). Inhibice klíčení je překonána tím

<sup>1</sup> Stratifikace je proces uložení semen ve vlhku při nízkých teplotách, při němž dojde k dozrání semen, k rychlejšímu ukončení klidového období a odstranění překážek klíčení. Tímto způsobem se napodobují podmínky ve volné přírodě během zimy.

rychleji, čím bližší je teplota bodu mrazu. Výsev stratifikovaných semen můžeme naplánovat na dobu předjaří, probíhá od obvykle února do začátku března do stejných druhů substrátů jako v případě metody přímých výsevů.

Pokud zamýšlíme víceleté skladování semen, je třeba je dobře vymýt, vyčistit, usušit a uložit při teplotě těsně pod 0 °C ve vzduchotěsně uzavřených nádobách (Bärtels 1988).



**Obr. 11:** Truhlíky se stratifikovanými semeny *Sorbus gemella* a *S. gemella* × *S. torminalis* uchované v lednici při 0°C.

#### 4. 2. 5. Substráty pro výsev

Pro výsevy byly testovány tři typy výsevních substrátů. Prvním byl speciální výsevní substrát od firmy Gramoflor (složení: jemná bílá rašelina – 65 %, perlit 15 %, písek 20 %). Druhý substrát byl vlastnoručně smíchaný z vrchovištní rašeliny a křemičitého písku v poměru 2:1 (reakce substrátu byla upravena na neutrální pH pomocí mletého vápence). Třetí variantou byl výsev do čistého křemičitého písku jemné frakce.

Nejlépeších výsledků bylo dosaženo přímým výsevem semen v optimální době zralosti (konec září) do standardizovaného výsevního substrátu. Klíčivost se obvykle pohybovala mezi 60–80 %.

### 5. POPIS UPLATNĚNÍ

Metodika bude sloužit jako návod pro množení vybraných druhů jeřábů v *in vitro* podmínkách a klasickým generativním rozmnožováním. Vzhledem k optimalizaci mikropropagačního postupu pro čtyři odlišné endemické druhy jeřábů bude použitelná i pro další druhy jeřábů.

Uvedená metodika se uplatní především pro zachování a reprodukci cenných genotypů *Sorbus gemella*, *S. omissa*, *S. × abscondita* a *S. × kitaibeliana*. Podle této metodiky byl již vyprodukován mladý materiál u všech jmenovaných druhů. Všechny výše uvedené druhy jsou součástí sbírek Dendrologické zahrady VÚKOZ, v. v. i. v Průhonicích. Výpěstky *Sorbus × abscondita* z *in vitro* kultury byly použity pro pokusnou výsadbu k posílení populace na opukových stráních v blízkosti Kladna-Švermova (Obr. 12).





**Obr. 12:** Výsadba mladých rostlin jeřábů (*Sorbus* × *abscondita*) původem z *in vitro* kultur na opukových stráních v blízkosti Kladna-Švermova.



Rozsah uplatnění metodiky je přímo vázán na laboratoře explantátových kultur v komerční a výzkumné sféře a následně pro školkařské podniky, které se zabývají produkcí dřevin. Měla by být používána také pracovníky lesní správy příslušných oblastí při rozmnožování výše uvedených modelových druhů jeřábů a jejich opětovné výsadbě na stanoviště. Metodika bude také sloužit jako podklad pro příslušná pracoviště Ministerstva životního prostředí usnadňující vykonávání činností státní správy. Poslouží rovněž k doplnění poznatků při praktické ochraně jeřábů a přispěje k nastolení udržitelného stavu populací modelových druhů a jejich dlouhodobě účinné ochraně.

## 6. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Vypracování postupu mikropropagace pro vybrané endemické jeřáby má především neekonomické aspekty. Tyto množitelské postupů podpoří množení endemických jeřábů, a tím i většího používání a rozšíření ve výsadbách jak v lese, tak ve volné krajině. Nové znalosti získané především u mikropropagace těchto druhů jeřábů, mohou být využity při komerčním množení dalších dřevin.

## 7. SEZNAM POUŽITÍ LITERATURY

- Arrillaga I., Marzo T. & Segura J. (1991): Micropropagation of juvenile and adult *Sorbus domestica* L. – Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27 (3): 341–348.
- Bairu M. W., Stirk W. A., Doležal K. & Van Staden J. (2007): Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? – Plant Cell, Tissue and Organ Culture 90 (1): 15–23.
- Bärtels A. (1988): Rozmnožování dřevin. – Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Benedíková M. (2009): Metodické postupy množení a pěstování jeřábu oskeruše (*Sorbus domestica* L.). – Lesnický průvodce 3/2009: 1–17.
- Bílá J. (2015): Zdroje variability v *Sorbus aria* agg. – Diplomová práce. [Depon in: Katedra botaniky Přírodovědné fakulty UK]. 104 p.
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Čížková L. (1997): Testování vegetativního množení listnatých dřevin. Výroční zpráva projektu „Záchrana genofondu vybraných listnatých dřevin v přírodních lesních oblastech Jihomoravských úvalů Moravských Karpat“. – Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Jíloviště-Strnady.
- Dagenbach H. (1981): Der Speierling, ein seltener Baum in unseren Wäldern und Obstgärten. – AFZ/Der Wald, Allgemeine Forst Zeitschrift für Waldwirtschaft und Umweltvorsorge 9 (10).
- Demesure B., Le Guerroué B., Lucchi G., Prat D. & Petit R. J. (2000): Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). – Ann. For. Sci. 57: 63–71.
- Dickinson T. A. & Campbell C. S. (1991): Population Structure and Reproductive Ecology in the *Maloideae* (*Rosaceae*). – Systematic Botany 16: 350–362.
- Dujíčková M., Malá J. & Chalupa V. (1991): Vegetativní množení *Sorbus torminalis* (L.) Crantz a *Sorbus domestica* L. *in vitro*. – Práce VÚLHM 77: 27–48.

- Ďurkovič J. & Mišalová A. (2009): Wood formation during *ex vitro* acclimatisation in micropropagated true service tree (*Sorbus domestica* L.). – *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 96: 343–348.
- Grimanelli D., Leblanc O., Perotti E. & Grossniklaus U. (2001): Developmental genetics of gametophytic apomixis. – *Trends in genetics* 17: 597–604.
- Hartmann H. J., Kester D. E. & Davies F. T. (2011): *Hartmann and Kester's plant propagation: Principles and practices*. 8<sup>th</sup> Ed., Prentice Hall, New Jersey.
- Hoebee S. E. et al. (2007): Mating patterns and contemporary gene flow by pollen in a large continuous and a small isolated population of the scattered forest tree *Sorbus torminalis*. – *Heredity* 99: 47–55.
- Hrdoušek V. (ed.), Krška B., Špišek Z., Bakay L. & Šedivá J. (2014): *Oskeruše, strom pro novou Evropu*. – Petr Brázda – vydavatelství.
- Chalupa V. (1983): *In vitro* propagation of willows (*Salix* spp.), European mountain-ash (*Sorbus aucuparia* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). – *Biologia Plantarum* 25 (4): 305–307.
- Chalupa V. (1987): Vegetativní rozmnožování listnatých dřevin řízkou a metodou *in vitro*. – *Lesnictví* 33 (6): 501–510.
- Chalupa V. (2002): *In vitro* propagation of mature trees of *Sorbus aucuparia* L. and field performance of micropropagated tree. – *Journal of Forest Science* 48(12): 529–535.
- Jankun A. & Kovanda M. (1986): Apomixis in *Sorbus sudetica* (Embryological studies in *Sorbus* 1). – *Preslia* 58: 7–19.
- Jankun A. & Kovanda M. (1987): Apomixis and origin of *Sorbus bohemica* (Embryological studies in *Sorbus* 2). – *Preslia* 59: 97–116.
- Jeong B. R. & Sivanesan I. (2015): Micropropagation of *Sorbus Commixta* Hedl. – *Propagation of Ornamental Plants* 15(4): 142–146.
- Kociánová M. & Štursová H. (1986): Revize rozšíření a ekologie jeřábu krkonošského (*Sorbus sudetica*). – *Opera Corcontica* 23: 77–110.
- Kociánová M., Štursová H. & Zahradníková J. (2005): Klonální růst endemického jeřábu *Sorbus sudetica* v Krkonoších. – *Opera Corcontica* 42: 99–105.
- Kovanda M. (1999): Jeřáby (*Sorbus*) České republiky a jejich ochrana. – *Příroda* 15: 31–47.
- Lall S., Mandegaran Z. & Roberts A. V. (2006): Shoot multiplication and adventitious regeneration in *Sorbus aucuparia*. – *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 85 (1): 23–29.
- Lepší M. & Lepší P. (2017): *Sorbus* L. – jeřáb in Štěpánková J., Chrtek J. & Kaplan Z. (eds): *Dodatky ke Květeně České republiky, svazkům 1–9*. In: *Taxonomy and variability of selected Sorbus taxa*. – Ph.D. Thesis Series, No. 3: 259–313, University of South Bohemia, Faculty of Science, School of Doctoral Studies in Biological Sciences, České Budějovice, Czech Republic, 321 pp.
- Liljefors A. (1953): Studies on propagation, embryology, and pollination in *Sorbus*. – *Acta Horti Bergiani* 16: 277–329.
- Liljefors A. (1955): Cytological studies in *Sorbus*. – *Acta Horti Bergiani* 17: 47–113.
- Máchová P., Malá J., Cvrčková H., Dostál J. & Buriánek V. (2013): *In vitro* reproduction of rare and endemic species of rowan tree. – *J. For. Sci.* 59: 386–390.
- Malá J., Cvrčková H., Máchová P. & Dostál J. (2011): Mikropropagace jeřábu oskeruše (*Sorbus domestica* L.). – *Lesnický průvodce. Certifikovaná metodika* 4/2011.
- 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: 219–224.
- Malá J., Máchová P., Cvrčková H., Karady M., Novák O., Mikulík J., Hauserová E., Greplová J., Strnad M. & Doležal K. (2009): Micropropagation of wild service tree (*Sorbus*



- tormalis* (L.) Crantz): the regulative role of different aromatic cytokinins during organogenesis. – *Journal of Plant Growth Regulation* 28 (4): 341–348.
- Meier-Dinkel A. (1998): *In vitro* Vermehrung von Speierling (*Sorbus domestica* L.). – *Corminaria* 9: 9–13.
- Miko M., Gažo J. & Biroščíková M. (2004): *In vitro* klonové množenie genetických zdrojov jarabiny oskorušovej (*Sorbus domestica* L.) z územia Slovenska. – *Acta Fytotechnica et Zootechnica* 7 (4): 85–89.
- Murashige T. & Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. – *Physiologia Plantarum* 15: 473–497.
- Nikolaou P., Zagas D., Scaltsoyiannes V., Balas E., Xilogianni V., Tsoulpha P., Tsaktsira M., Voulgaridou E., Iliev I., Triantafyllou K. & Scaltsoyiannes A. (2008): Advances in the micropropagation of service tree (*Sorbus domestica* L.). – *Propagation of Ornamental Plants* 8 (3): 154–157.
- Piagnani M. C., Zaccheo P. & Crippa L. (2012): Micropropagation of service tree (*Sorbus domestica* L.): role of some factors on *in vitro* proliferation and rooting, and *extra vitro* acclimatization. – *Agrochimica* 6: 219–233.
- Pías B. & Guitián P. (2006): Breeding system and pollen limitation in the masting tree *Sorbus aucuparia* L. (*Rosaceae*) in the NW Iberian Peninsula. – *Acta Oecologica* 29: 97–103.
- Preece J. E. (1997): Axillary shoot proliferation. – In: Geneve R. L., Preece J. E., Merkle S. A. (eds.), *Biotechnology of ornamental plants*. – Cab International, USA, p. 35–44.
- Rich T. C. G., Houston L., Robertson A. & Proctor M. C. F. (2010): *Whitebeams, rowans and service trees of Britain and Ireland. A monograph of British and Irish Sorbus L.* – BSBI Handbook No. 14. Botanical Society of the British Isles, London.
- Richards A. J. (2003): Apomixis in flowering plants: an overview. – *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 1085–1093.
- Suvorova V. V., Kuznetsova S. M. & Udachina E. G. (1990): Slyusarenko Mass clonal propagation of hybrid *Sorbus*. – *A. G. Byulleten' Glavnogo Botanicheskogo Sada* 156: 78–83.
- Šedivá J., Businský R., Drahošová H., Podrábská K., Pospíšková M., Velebil J. & Zýka V. (2020): Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2019 za projekt TH03030037, Metody záchrany unikátního českého genofondu jeřábů (rod *Sorbus*). – Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v. v. i., Průhonice.
- Šedivá J., Businský R., Drahošová H., Podrábská K., Pospíšková M., Velebil J. & Zýka V. (2021): Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2020 za projekt TH03030037, Metody záchrany unikátního českého genofondu jeřábů (rod *Sorbus*). – Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v. v. i., Průhonice.
- Tripepi R. R. (1997): Adventitious shoot regeneration. – In: Geneve R. L., Preece J. E., Merkle S. A. (eds.), *Biotechnology of ornamental plants*. – Cab International, USA, p. 45–72.
- Werbrouck S. P., van der Jeugt B., Dewitte W., Prinsen E., Van Onckelen H. A. & Debergh P. C. (1995): The metabolism of benzyladenine in *Spathiphyllum floribundum* 'Schott Petite' in relation to acclimatisation problems. – *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 14 (10): 662–665.

## 8. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- Businský R. (2009): Endemické jeřáby České republiky (rod *Sorbus*, čeleď *Rosaceae*). – *Acta Pruhoniana* 93: 37–46.

- Businský R. & Dostálek J. (2000): Výzkum domácího genofondu ohrožených a ochranu vyžadujících dřevin a návrh na jejich aktivní ochranu. – 23 p., ms. [Průběžná zpráva projektu 0131 výzkumného záměru VÚKOZ 01; depon. in: Knihovna VÚKOZ, Průhonice].
- Lepší M., Velebil J. & Lepší P. (2011): Pěstování a adventivní výskyt *Sorbus austriaca* v České republice. – Zprávy Čes. Bot. Společ. 46: 209–221.
- Šedivá J., Businský R., Pospíšková M., Velebil J., Drahošová H., Zýka V. (2021): Conservation methods of the unique Czech gene pool of whitebeams (the genus *Sorbus*). – Acta Horticulturae, 1324: 41–46.
- Velebil J. (2012): *Sorbus omissa*, a new endemic hybridogenous species from the lower Vltava river valley. – Preslia 84: 375–390.
- Velebil J. (2014): Genofond rodu *Sorbus* L. (jeřáb) v Průhonicích – historie a současný stav. – Acta Pruhoniana 108: 73–87.
- Velebil J. & Businský R. (2016): *Sorbus ×thuringiaca*, the correct name for the diploid hybrid between *Sorbus aria* and *S. aucuparia* (*Rosaceae*). – Taxon 65 (2): 352–360.
- Walter V. (2001): Rozmnožování okrasných stromů a keřů. – Nakladatelství Brázda, Praha.
- Yang L. Li Y & Shen H. (2012): Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryo cultures of mountain ash (*Sorbus pohuashanensis*). – Plant Cell, Tissue and Organ Culture 109: 547–556.

## 9. DEDIKACE

Metodika „Postupy množení vybraných endemických jeřábů klasickou generativní metodou a mikropropagací“ byla vypracovaná jako výstup projektu TAČR-TA03030037 Technologická agentura ČR – „Metody záchrany unikátního českého genofondu jeřábů (rod *Sorbus*)“. Číslo osvědčení MZE-69418/2021-18145, Ministerstvo zemědělství ČR.