

UDK: 630\*22: 582.632.2

Prethodno saopštenje *Preliminary report*

## TRENDOVI U VEGETATIVNOJ PROPAGACIJI HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.)

Kovačević Branislav<sup>1</sup>, Orlović Saša.<sup>1</sup>

**Izvod:** Hrast lužnjak je drvenasta vrsta izuzetnog ekonomskog i ekološkog značaja čijem se unapređenju poklanja posebna pažnja. Vegetativni načini umnožavanja lužnjaka su interesantni sa aspekta klonskog šumarstva, a posebno formiranja vegetativnih semenskih plantaža. Pored klasičnih metoda vegetativne propagacije (kalemljenje i ožiljavanja zelenih reznica) danas se intenzivno radi na unapređenju metoda kulture tkiva. Posebno su interesantni mikropropagacija kulturom izbojaka i somatskom embriogenezom. Osnovni problem čine razlike u potencijalu genotipova za umnožavanje vegetativnim putem i adultni fiziološki status odraslih stabala. Danas se razvija niz tehnika kao pokušaj rešavanja ovih problema.

**Ključne reči:** juvenilnost, zelene reznice, kultura tkiva

### TRENDS IN VEGETATIVE PROPAGATION IN COMMON OAK (*Quercus robur* L.)

**Abstract:** Common oak is tree species of high economic and ecological importance and the improvement of this species is of special common interest. Vegetative propagation is interesting for clonal forestry and the establishment of vegetative seed orchards. Beside classical means of vegetative propagation (grafting and rooting of softwood cuttings) there is intensive work in the improvement of tissue culture methods now days. Special interest is in the micropropagation by axillary shoots and through somatic embryogenesis. Principal problems are caused by considerable differences among genotypes and adult physiological status of mature trees. In this work are presented some techniques that are proposed for resolving these problems.

**Key words:** juvenility, softwood cuttings, tissue culture

## 1. UVOD

Vrsta hrast lužnjak je vrsta od izuzetnog značaja za nizijsko šumarstvo Srbije. Najkvalitetnije šume se nalaze u Posavini kao i u severnom delu Podunavlja (kao produžetak „Slavonskog hrasta“). Značajan deo sastojina je tokom vremena devastiran, te se danas preduzimaju mere u pravcu revitalizacije ove vrste. Mere podrazumevaju kako povećanje površina tako i unapređenja kvaliteta sastojina u uzgojnom, ali i genetičkom smislu. Značajan oslonac unapređenja hrasta lužnjaka u genetičkom smislu čine semenske sastojine. Pretpostavka je da će se korišćenjem semena iz semenskih plataža oplemeniti devastirane populacije hrasta lužnjaka u

---

<sup>1</sup> Dr Kovačević Branislav, naučni saradnik, Dr Orlović Saša, naučni savetnik, Istraživačko-razvojni Institut za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu, Antona Čehova 13, 21000 Novi Sad

meri kojoj ne bismo mogli da očekujemo nakon obnove klasičnim načinom iz podrasta.

Pored semenskih sastojina koje su formirane posebnim merama selekcije i uzgoja iz već postojećih sastojina, tokom druge polovine prošlog veka formirane su i semenske sastojine propagacionim materijalom dobijenim od stabala superiornih fenotipskih karakteristika. Jedna vegetativna semenska sastojina je formirana kalemljenjem na lokalitetu „Banov Brod“ sedamdesetih godina prošlog veka, a od kraja prošlog veka radi se i na formiranju generativnih semenskih sastojina (Orlović i sar., 2001). Naša jedina vegetativna semenska sastojina je uspešno zasnovana kalemljenjem tj. heterovegetativnim putem, ali je zasnivanje vegetativnih semenskih plantaža na ovaj način složen i rizičan posao, vezan za tehničke i finansijske poteškoće.

## **2. VEGETATIVNO UMNOŽAVANJE HRASTA LUŽNJAKA**

Poslednjih decenija vegetativno umnožavanje hrasta lužnjaka je predmet mnogih istraživanja uglavnom usmerenih na metode autovegetativnog umnožavanja: ožiljavanje zelenih reznica i metode kulture tkiva (Chalupa, 1993). Hrast lužnjak je vrsta koju prati dosta problema u vegetativnom umnožavanju. Pre svega, izražen je problem ožiljavanja posebno ukoliko se ožiljavanju izbojci adultnih karakteristika. U tom smislu neophodno je obezbediti dobijanje izbojaka juvenilnog fiziološkog statusa. Sledeći problem, posebno u kulturi aksilarnih pupova (Chalupa, 1993), čini tzv. ritmički rast, odnosno „Quercus“ tipa rasta izbojaka hrasta, koji karakteriše periodično smenjivanje faza rasta i mirovanja tokom vegetacionog perioda (Borchert, 1975). Takođe je izražena varijabilnost među genotipovima, koja je u velikom broju slučajeva izražena kroz teškoće u ožiljavanju i multiplikaciji. Ispitivane metode propagacije redovno daju zadovoljavajuće rezultate samo na ograničenom broju genotipova. To je pogotovo slučaj u vegetativnoj propagaciji putem somatske embriogeneze. Međutim, ukoliko se planira formiranje vegetativnih semenskih plantaža neophodno je da budemo u mogućnosti da umnožimo sve ili barem najveći deo interesantnih genotipova.

### **2.1. Ožiljavanje zelenih reznica**

Prema Chalupa (1993) zelene reznice mogu da se koriste za umnožavanje interesantnih genotipova hrasta lužnjaka. Reznice adultnog fiziološkog statusa pokazuju jasno slabije rezultate ožiljavanja, a pored toga, problemi delimično nastaju i zbog veće verovatnoće kontaminacije mikroorganizmima i virusima (Prece i Read, 2003). U ispitivanjima koja se sprovode uglavnom radi razvoja metodologije, često se koristi juvenilni materijal dobijen od sejanaca. Ipak, veći značaj ima mogućnost propagacije elitnih adultnih biljaka, dakle biljaka u fazi kada je moguće oceniti većinu ekonomski značajnih osobina. U tu svrhu se koriste različite tehnike rejuvenilizacije ili obezbeđivanja propagacionog materijala što juvenilnijih karakteristika. Rezultati Chalupa (1993) ukazuju da se zadovoljavajući rezultati mogu dobiti korišćenjem vodenih izbojaka ili izbojaka koji se formiraju iz panja. Ovako dobijen propagacioni materijal imao je juvenilne karakteristike reznica dobijenih od sejanca. McGowran et al. (1998) navode autore koji su dobili

rejuvenilizaciju uzastopnim kalemljenjem na juvenilne podloge, forsiranjem izbijanja adventivnih izbojaka jakim orezivanjem ili iz panja, primenom regulatora rasta (posebno BAP-a) i metodama kulture tkiva. Rezultati do kojih su McGowan et al. (1998) došli kod lužnjaka, nisu dali potvrdu juvenilnosti izbojaka dobijenih nakon kalemljenja i jakog orezivanja. Naime, nakon uvođenja ovako dobijenog materijala u kulturu tkiva, morfološka svojstva izbojaka su ukazivala da su oni zadržali adultni fiziološki status, ali je ostavljena mogućnost da je rejuvenilizacija delimično postignuta. Uočili su i da biljka počinje da stiće adultni fiziološki status i pre generativne faze razvoja.

Preece i Read (2003) ukazuju na potrebu uzimanja uzorka iz tzv. juvenilnog konusa: dela stabla koje je formirano tokom juvenilne faze rasta. Adventivne izbojke iz ovog dela stabla karakteriše juvenilnost. Kod vrsta hrasta i bukve ovaj deo stabla može da se uoči zimi pošto se na njemu održavaju neotpalni listovi, pri čemu se izostanak opadanja listova smatra juvenilnom osobinom.

Za dobijanje materijala za vegetativno umnožavanje danas se dosta koristi forsirano izbijanje izbojka u kontrolisanim uslovima. Segmenti grana se postavljaju u posude sa vodom ili u supstrat (najčešće perlit), nekad i uz dodatak regulatora rasta. Vieitez et al. (1994) su uzgojem segmenata grana debljine 1-4 cm uzetih iz krošnje dobili izbojke koji su pokazivali juvenilne karakteristike. Valladares et al. (2006) su dobili da su segmenti debljine 2 do 4 cm davali izbojke bez obzira kada su tokom godine uzeti, ali su najbolji rezultati dobijeni ukoliko su segmenti uzeti u martu. Evers et al. (1993) su uspešno koristili i segmente do 80 cm u prečniku. Ovako velike segmente oni su postavljali horizontalno na perlit za razliku od prethodno navedenih autora koji su segmente postavljali uspravno. Izbojci dobijeni ovom metodom bi mogli da se u kontrolisanim uslovima ožile *ex vitro* metodom koju je opisao Chalupa (1993), tj. direktnom sadnjom u supstrat nakon tretmana stimulatorima ožiljavanja. Metod forsiranog izbijanja izbojaka se dosta koristi i za dobijanje materijala koji se uvodi u kulturu tkiva, o čemu će biti reči u nastavku.

Iako je ožiljavanje zelenih reznica slabo zastupljeno u našoj praksi rezultati ukazuju na mogućnost primene ovakvog propagacionog materijala ožiljavanjem u kontrolisanim uslovima koji uključuju i održavanje visoke vlažnosti vazduha „veštačkom maglom“ (Mančić et al., 1995).

## **2.2. Vegetativna propagacija u kulturi *in vitro***

### **2.2.1. Kultura izbojaka**

Razvoj problema vegetativne propagacije u kulturi *in vitro* je bio uslovljen specifičnostima hrasta lužnjaka koje se prvenstveno ogledaju u obezbeđivanju juvenilnosti i razbijanju dormantnosti materijala koji se koristi, problemima uzrokovanih prirodom ritmičkog rasta („*Quercus*“ tip rasta) prilikom uvođenja u kulturu tkiva i multiplikacije, kao i problemi obezbeđivanja uslova za intenzivni rast, multiplikaciju u ožiljavanje. Pri tome važan faktor čine i razlike među genotipovima. Evers et al. (1993) upozoravaju da te razlike mogu da budu uzrokovane i specifičnostima uslova u kojima biljka raste.

Pored ranije navedenih metoda navedenih izbojci juvenilnih karakteristika mogu da se dobiju iz horizontalno položenih eksplantata izbojka na čvrstu podlogu,

pri čemu im se prethodno odstrane apikalni i bazalni deo (San-Jose et al., 1990). Na ovaj način može i da se prevaziđe problem ritmičkog rasta i zatvaranja pupa jer se sukcesivno dobijaju novi izbojci. Prema McGowran et al. (1998) moguće je na osnovu uglja između eksplantata i novog izbojka, prečnika vrha izbojka i prečnika srednje internodije razlikovati u kulturi tkiva juvenilne (tanji prečnici izbojka, veći otklon od novog izbojka od eksplantata) od izbojaka adultnih karakteristika (deblji prečnici izbojka, manji otklon od novog izbojka od eksplantata). Na osnovu ovih svojstava oni, međutim, nisu dobili efekat porasta juvenilnosti materijala uzastopnim subkulturama, već ističu da materijal zadržava svoju adultnost. Praćenjem uspeha ožiljavanja Evers et al. (1993) i Sanchez et al. (1996) ukazuju da se rejuvenilizacija odvija, ali samo delimično.

Prisustvo BAP (benzil-aminopurina) u podlozi značajno doprinosi ostvarenju kontinuiranog umnožavanja. Značajan uticaj na rast izbojaka ostvaruje svetlost. Kratak dan, svetlo niskog intenziteta i slab udeo crvenog dela spektra doprinosi brzom zatvaranju terminalnog pupa. Niske temperature ( $< 20^{\circ}\text{C}$ ) takođe, pri čemu su optimalne temperature za otvaranje pupa  $20-25^{\circ}\text{C}$ , a za mlitplikaciju  $25-30^{\circ}\text{C}$  (Puddephat et al., 1997). Takođe je uočeno da su podloge siromašnije u makroelementima pogodne za uvođenje eksplantata u kulturu tkiva, a podloge bogatije makroelementima za multiplikaciju. Evers et al. (1993) su dodavali visoke koncentracije aktivnog uglja u podlogu prilikom uvođenja eksplantata ( $20\text{ g/l}$ ), pa i u narednoj subkulturi ( $5\text{ g/l}$ ), radi apsorpcije inhibitora rasta.

Ožiljavanje ovako dobijenih izbojaka može da se izvrši na više načina. Jedan je ubacivanje hormona za ožiljavanje (najčešće IBA) u podlogu, pri čemu se ovaj metod pokazao i najmanje efikasnim (Chalupa, 1993). Sledeći tretman podrazumeva kultivaciju izbojka na čvrstoj podlozi sa visokom koncentracijom IBA od jednog (Sanchez et al., 1996) do nekoliko dana (Chalupa, 1993) i prebacivanje na podlogu bez hormona. San-Jose et al. (1990) ističu tzv. quick-dip tj. kratkotrajno umakanje bazalnog dela izbojka u rastvor IBA visoke koncentracije ( $0.5-1\text{ gr/l}$ ). Sanchez et al. (1996) ukazuju na slučajevne pozitivnog efekta dodatnog petodnevnog perioda kulture u mraku, nakon tretmana sa IBA. Ipak, nakon  $24\text{ h}$  u podlozi sa IBA efekat dodatnog držanja u mraku nije imao efekta. Dodatak aktivnog uglja je redovno poboljšavalo uspeh ožiljavanja i razvoj korena, a primećena je i veća vitalnost izbojka čak i ako se nisu ožiljili. Pored navedenih i u ovom slučaju se može koristiti ex vitro metoda ožiljavanja koju je opisao Chalupa (1993). Međutim, rezultati Sanchez et al. (1996) ukazuju na povećan rizik od isušivanja izbojaka zbog slabog kontakta sa podlogom.

#### 2.2.2. Propagacija korišćenjem somatske embriogeneze

Poslednjih decenija se intenzivno radi na primeni somatske embriogeneze u masovnoj vegetativnoj propagaciji hrasta lužnjaka. Pored brze propagacije ovom metodom se stvaraju uslovi za ubacivanje željenih gena tehnologijom rekombinantne DNK, što ima posebnog značaja u oplemenjivanju drvenastih vrsta koje zahtevaju dosta vremena za postizanje generativne faze razvoja. Posebna povoljnost je što se materijal dobijen somatskom embriogenezom može smatrati juvenilnim, te se koristi i kao reper prilikom ispitivanja juvenilnosti (Evers et al., 1993; McGowran et al., 1998).

Problemi koji prate somatsku embriogenezu javljaju se od samog uvođenja u kulturu. Često su se kao polazni materijal koristili nezreli i zreli zigotni embrioni, što je bilo dobro za razvoj metodologije ali ne i za praktičnu primenu. Poslednjih godina objavljuju se i protokoli kojima se embriogene linije zasnivaju iz internodija izbojaka i listova hrasta lužnjaka. Pored izbojka iz sejanaca (Chalupa, 2005) koriste se i izbojci dobijeni nasilnim izbijanjem iz segmenata grana (Toribio et al., 2004). Podloge su standardne (WPM i MS), pri čemu su visoke koncentracije citokinina i auksina, uz dodatak kazein hidrolizata i glutamina. Kao neophodna faza za inicijaciju embriogenih kalusa se koristi rast u mraku, da bi embriogeni kalusi kasnije bili rekultivisani na podlogama sa nižom koncentracijom hormona. Valldares et al. (2006) su dobili embriogeni kalus na 0.9% eksplantata lista dobijenog na segmentima grana uzetih u maju, a 4,1% na eksplantatioma lista sa segmenata grana uzetim u novembru. Ipak, kod svih ispitivanih genotipova je dobijen embriogeni kalus. Značajan problem se zatim javlja prilikom klijanja embriona. Prema Chalupa (2005), uspeh klijanja embriona je u jasnoj korelaciji sa uslovima maturacije. Embrione treba postaviti na podlogu sa jakim osmotikumima, uz visoku koncentraciju ABA, a proces pomaže i desikacija i tretman niskim temperaturama. Uspeh germinacije u velikoj meri zavisi i od specifičnosti genotipa (Valldares et al., 2006).

Pojava koja prati održavanje kulture embriona je somaklonalna varijabilnost, tj. mogućnost promene genetičkog materijala usled samog procesa somatske embriogeneze. Ova pojava pože da se prati preko morfoloških parametara, citološki i DNK analizom. Interesantna je sa aspekta povećanja varijabilnosti i mogućnosti unapređenja nekih osobina, ali postaje problem ukoliko se želi da se genotip održi takav kakav jeste („true-to-type“). Valldares et al. (2006) analizirali DNK embriogenih linija hrasta lužnjaka korišćenjem RAPD metodologije, ali nisu našli razlike između njih i originalnog genotipa. Međutim, Wilhelm et al. (2005) su uočili nestabilnost nekih lokusa mikrosatelita koje smatraju rezultatom fiziološke nestabilnosti uzrokovane oksidativnim stresom. On su posebno izdvojili jedal lokus (QpZAG9) na kome je su uočili preko 28% (u proseku) slučajeva varijabilnost uzrokovanu somatskom embriogenezom. Oni smataju da ova genetička fleksibilnost predstavlja evolutivnu adaptaciju populacije biljaka. Ni jedna biljka regenerisana iz dobijenih embriogenih linija nije pokazala varijabilnost ni jednog ispitivanog lokusa, dakle samo su nepromenjene ćelije imale kapacitet da se regenerišu u biljke. Ipak, Henero et al. (2001) su korišćenjem AFLP metodologije našli razlike u DNK somatskih embriona poreklom od različitih listova istog stabla *Quercus suber* L. To je u skladu sa mišljenjem pokojnog prof. Tucovića da pupovi istog drveta predstavljaju jednu mikropopulaciju koja poseduje sopstvenu varijabilnost.

Jedan od načina ublažavanja rizika od somaklonalne varijabilnosti je smanjeni broj subkultura, što može da se postigne čuvanjem kultura, pa time i smanjenjem broja subkultura namenjenih održavanju linije. Najčešće se ispituje čuvanje u tečnom azotu (krioprezervacija) pri čemu se materijal prethodno priprema desikacijom (sušenje u vazdušnoj struji u laminaru ili sušenje u frižideru uz kontrolisano postepeno opadanje temperature), a uspešnije vitrifikacijom (naglo zamrzavanje u tečnom azotu razi izbegavanja formiranja ledenih kristala). Martinez et al. (2003) su razradili metodologiju za krioprezervaciju embriogenih kultura hrasta lužnjaka korišćenjem desikacije i vitrifikacije i njihovog čuvanja u tečnom azotu. Preece i Read (2003) navode i mogućnost inkapsulacije embriona

ali i pupova i rhova izbojaka u kalcijum-nartijumov alginatni gel, da bi se zatim ovakav materijal čuvao u frižideru ili tečnom azotu. Posebna pogodnost je što se u gel mogu staviti i mineralne materije, saharoza, materije za zaštitu (fungicidi npr.) ili regulatori rasteinja.

Od prednosti koje donosi razvoj metoda vegetativne propagacije u kulturi in vitro, najčešće se ističu: očuvanje superiornih genotipova, njihovo testiranje, klonsko šumarstvo, stvaranje uslova za unošenje gena tehnologijom rekombinantne DNK i drugo. Prevažodni cilj naših istraživanja je iznalaženje mogućnosti za masovno umnožavanje velikog broja superiornih genotipova u pravcu zasnivanja vegetativnih semenskih plantaža. S obzirom na značaj hrasta lužnjaka i potrebe za formiranjem vegetativnih semenskih plantaža započeo je rad na ovoj problematici u Insitutu za nizijsko šumarstvo i životnu sredinu. Istraživanja su usresređena na kulturu izbojaka. Pri tome se vodi računa i o optimalizaciji protokola u pravcu ublažavanja uticaja razlika među genotipovima na njihovu propagaciju in vitro. Pored rada koji je vezan za primenu kulture tkiva u šumarstvu, interesantan je i hortikulturni aspekt koji podrazumeva umnožavanja genotipova interesantnih za oplemenjivanje prostora. Rad na lužnjaku predstavlja poseban izazov s obzirom na poznato slab kapacitet za uzgoj ove vrste u kulturi tkiva. U tom smislu, mnoga saznanja do kojih dolazimo u radu sa njim mogu da budu korisno upotrebljena i u radu sa drugim intersantnim vrstama i obrnuto.

## LITERATURA

- Borchert, R (1975) Endogenous shoot growth rhythms and indeterminate shoot growth in oak. *Physiol. Plant.* 35:152-157
- Chalupa, V. (1993) Vegetative propagation of oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*) by cutting and tissue culture. *Ann Sci For* 50, Suppl 1, 295s-307s
- Evers, P., Vrmeer, E., van Eeden, S. (1993) Rejuvenation of *Quercus robur*. *Ann. Sci. For.* 50, Suppl. 1, 330s-335s.
- Honero, J.; Martinez, I.; Celestino, C.; Gallego, F.J.; Torres, V.; Torbio, T. (2001) Early checking of genetic stability of cork oak somatic embryos by AFLP analysis. *Int. J. Plant Sci.* 162: 827-833.
- McGowran, E., Douglas, G.C., Parkinson, M. (1998) Morphological and physiological markers of juvenility and maturity in shoot cultures of oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*). *Tree physiology* 18, 251-257.
- Mančić, A., Isajev, V. & Mataruga, M. (1995) Mogućnosti primene vegetativnog razmnožavanja kod tri vrste iz roda *Quercus*. U *Seminar "Proizvodnja šumskog sadnog materijala vegetativnim putem u JP SRBIJAŠUME"*, Novi Sad 1-3. mart, 6 str.
- Martinez, M.T.; Ballester, A.; Vieitez, A.M. (2003) Criopreservation of embryogenic cultures of *Quercus robur* using desiccation and vitrification procedures. *Cryobiology* 46: 182-189.
- Orlović, S., Erdeši, J., Radivojević, S., Obućina, Z., Janjatović, G. (2001). Semenske plantaže hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) – osnov za dalje oplemenjivanje u ravnom Sremu. *Šumarstvo* 1: 1-9

- Preece, J.E.; Read, P.E. (2003) Novel methods in micropropagation. *Acta Hort.* 616: 71-76.
- Sanchez, M.C., San-Jose, M.C., Ballester, A., Vieitez, A.M. (1996) Requirements for in vitro rooting of *Quercus robur* and *Q. rubra* shoots derived from mature trees. *Tree physiology* 16, 637-680.
- San-Jose, M.C.; Vieitez, A.M.; Ballester, A. (1990): Clonal propagation of juvenile and adult trees of sessile oak by tissue culture techniques. *Silvae Genetika* 39(2), 50-55.
- Toribio, M., Fernandez, C., Celestino, C., Martinez, M.T., San-Jose, M.C., Vieitez, A.M. (2004) Somatic embryogenesis in mature *Quercus robur* trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 76: 283-287.
- Valladares, S., Sanchez, C., Martinez, M.T., Ballester, A., Vieitez, A.M. (2006) Plant regeneration through somatic embryogenesis from tissues of mature oak trees: true-to-type conformity of plantlets by RAPD analysis. *Plant Cell Rep.* 25: 879-886
- Vieitez, A.M.; Concepcion Sanchez, M.; Amo-Marco, J.B.; Ballester, A. (1994) Forced flushing of branch segments as a method for obtaining reactive explants of mature *Quercus robur* trees for micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 37 (3): 287-295
- Wilhelm, E.; Hristoforoglu, K.; Fluch, S.; Burg, K. (2005) Detection of microsatellite instability during somatic embryogenesis of oak (*Quercus robur* L.). *Plant Cell Rep.* 23: 790-795

**Summary**

**TRENDS IN VEGETATIVE PROPAGATION IN COMMON OAK**

by

*Kovačević Branislav, Orlović Saša.*

*Common oak is tree species of high economic and ecological importance in lowland forestry of Serbia. Beside implementation of cultivation techniques in stands the improvement of this species is needed to be done in genetic sense. That is why the special attention is paid to the establishment of seed orchard, particularly by vegetative means of propagation. Beside classical means of vegetative propagation (grafting and rooting of softwood cuttings) there is intensive work in the improvement of tissue culture methods now days. Special interest is in the micropropagation by axillary buds and through somatic embryogenesis. Principal problems are caused by considerable differences among genotypes, adult physiological status of mature trees and rhythmic shoot growth that is characteristic for this species. Juvenile propagules could be obtained by using the material with juvenile characteristics ("juvenile cone" in the adult tree) or by means of rejuvenation. The most promising way of rejuvenation is through somatic embryogenesis. Softwood cuttings should be used from plant's shoots with juvenile status or shoots gained by forced shoot flush from branch segments of „juvenile cone“. Micropropagation by axillary buds is promising technique for propagation of common oak. It ensures „true-to-type“ propagation and fairly fast production of material of interesting genotype. There are also techniques for criopreservation of buds and axillar tips. Rooting of oak shoots is rather difficult. Procedures include treatments with IBA in medium or in „quick dip“-solution, and implementation of active charcoal. However, only partial rejuvenilisation was achieved through axillary shoot culture. Thus, original material should already have juvenile characteristics before its implementation in tissue culture. Several protocols for somatic embryogenesis from leaf and shoots are developed in recent years. Beside juvenile physiological status in regenerated plants, somaclonal variability was not found in them, so far. Gained embryos could be criopreserved by several techniques. Differences among genotypes in their competence for mentioned methods imply for optimization of these methods specifically for particular genotype and in general. Considering significance of common oak in lowland forestry of Serbia Institute for lowland forestry and environment is interested in application and optimization of all means of vegetative propagation on this species.*