

Banki nasion wobec starych i nowych wyzwań w ochronie roślin *ex situ*. Refleksje w 20. rocznicę utworzenia Banku Nasion rodzimej flory Polski w Warszawie-Powsinie

Adam KAPLER¹, Maciej NIEMCZYK¹, Piotr WALEROWSKI¹, Antoni KRZYŻEWSKI¹, Agata SMIEJA¹,
Arkadiusz NOWAK², Wiesław PODYMA¹, Jerzy PUCHALSKI¹

KAPLER A., NIEMCZYK M., WALEROWSKI P., KRZYŻEWSKI A., SMIEJA A., NOWAK A., PODYMA W., PUCHALSKI J. 2014. **Seed banks to old and new challenges in *ex situ* plant protection. Reflections on the 20th anniversary of the establishment of Polish native flora Seed Bank in Warsaw-Powsin.** *Wiadomości Botaniczne* 58(3/4): 89–100.

Our knowledge of the Polish vegetation as well as the precise threat categorization of withdrawing and rare plant species are still developing. Number of vascular plant taxa protected by Polish law also grows. *In situ* protection measures are more often supplemented by *ex situ* conservation measures carried out by botanic gardens and seed banks. After 20 years of activity, in 2013, the 500th seed sample has been secured in ultra-low temperatures in PAS BG CBDC Seed Bank at Warsaw-Powsin, in which resources of Polish rare and threatened vascular plant species exceeded 150 species, mostly endemics and relics, as well as flagship species of national parks.

Seed banks, established most often at the botanical gardens, create a reserve of plant genetic resources in case of its extinction at natural sites and in this way assist traditional methods of *in situ* conservation in national parks and reserves. ‘Global Strategy for Plant Conservation’ for 2011–2020 establishes an ambitious goal for botanical gardens and seed banks. 75% of endangered plant species should be maintained in *ex situ* collections, and 20% of them should be included in the program of restitution to the natural environment. Challenges for the seed banks are to develop effective methods of the long-term storage for all threatened taxa and to be involved in their restoration to the natural environment. Standardized methods of storage were developed by botanical gardens in cooperation with Royal Botanic Gardens Kew (UK). A development of knowledge about the natural phyto-hormones and artificial regulators, new technologies for asymbiotic and symbiotic cultures of cultivated orchids etc. gives expectancy for effective, safe and cheap conservation of diversity of species for which this is now impossible or very expensive. Seed banks, in addition to their primary function, using their resources and expertise, should be more involved in species’ reintroduction programs.

KEY WORDS: seed bank, botanic garden, *ex situ* conservation, endangered species, “FlorNaturOB” project

¹Polska Akademia Nauk – Ogród Botaniczny Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej w Powsinie, 02-973 Warszawa, ul. Prawdziwka 2, e-mail: bgpas@obpan.eu

²Uniwersytet Opolski, Samodzielna Katedra Biosystematyki, 45-052 Opole, ul. Oleska 22, e-mail: anowak@opole.uni.pl

WSTĘP

Wiemy coraz więcej o otaczającej nas florz i roślinności, o ich pochodzeniu, przemianach, zagrożeniach, tudzież o biernych i czynnych sposobach ochrony. Według najnowszych zestawień rodzima flora naczyniowa obejmuje około 2750 gatunków, z czego jedna trzecia zagrożona jest wyginięciem (Mirek et al. 2002, Mirek, Piękoś-Mirkowa 2009). Podanie precyzyjnej liczby gatunków zagrożonych w Polsce okazuje się niezwykle trudne, ponieważ każdy niemal rok przynosi nowe odkrycia zmieniające nasze postrzeganie stopnia zagrożenia poszczególnych taksonów, a więc i priorytetów konserwatorskich. Stwierdzone są nowe stanowiska najrzadszych, krytycznie zagrożonych roślin np.: sierpika różnolistnego *Serratula lycopifolia*, dzwoniecznika wonnego *Adenophora liliifolia*, azalii pontyjskiej *Rhododendron luteum* (Kruk, Cieślak 2011, Kurzac, Wylazłowska 2012, Rapa 2012, Wróbel 2012) lub oficjalnie uznanych za wymarłe w Polsce: dichostylis Michela *Dichostylis micheliana* (Kącki et al. 2003), przetacznika stokrotkowego *Veronica bellidioides* (Szczęśniak et al. 2011), sitniczki drobnej *Isolepis supina* (Michalczuk, Cwener 2011) i turzycy wyciągniętej *Carex extensa* (Bosiacka, Węclaw 2012). Niestety, częstsze są sytuacje odwrotne, kiedy dany gatunek okazuje się znacznie rzadszy i bardziej zagrożony w całej Europie Środkowo-Wschodniej niż wskazują na to dane literaturowe, np. dotyczy to takich gatunków jak: turzycy delikatna *Carex disperma* (Pawlikowski 2010, Uselis, Uselienė 2012), turzycy kulista *Carex globularis* (Pawlikowski et al. 2013), turzycy wąskolistna *Carex stenophylla* (Iwona Dembicz 15.03.2013 – informacja e-mailowa), piaskowiec trawiasty *Arenaria graminifolia* (Janina Jakubowska-Gabara 02.2012 – informacja e-mailowa, Maja Graniszewska 26.02.2012 – informacja e-mailowa), czy niżowa forma niebielistki trwałej *Swertia perennis* subsp. *perennis* (Pawlikowski, Wołkowycki 2010, Bierznoy-Bazille 2012).

Odpowiedzią na szybkie ustępowanie wielu sozofitów jest rozwój banków nasion dzikich gatunków. Powstały one z myślą o zasobach

genowych roślin uprawnych i ich dzikich krewnych, a z czasem przekształciły się w oddzielne instytucje (Puchalski 2000, 2004, Puchalski et al. 2013). Banki nasion poszerzały swoją działalność o rodzime gatunki dziko rosnące zagrożone wyginięciem, w tym o rośliny pozbawione bezpośredniego znaczenia gospodarczego i leczniczego, ale cenne dla nauki (jako endemity i relikty decydujące o wyjątkowości danej flory), dydaktyki i turystyki (jako gatunki sztandarowe parków narodowych i rezerwatów).

W niektórych krajach już od dawna funkcjonują banki nasion przeznaczone dla roślin uprawnych i dla osobliwości flor naturalnych danego państwa oraz jego dawnych i współczesnych terytoriów zamorskich (Puchalski 2000, 2004, Bonomi et al. 2007, Perez-Garcia et al. 2008, Vitt et al. 2010). Często banki te tworzą sieci organizacji prowadzących wymianę informacji oraz próbek nasion (Tab. 1). Nie ustają wysiłki nad uruchomieniem sieci banków nasion dla flor rodzimych ENSCRI (European Native Seed Conservation Research Infrastructure). Będzie ona koordynowała nie tylko działania banków nasion w Europie, ale także poza nią, np. w Federacji Rosyjskiej czy Republice Południowej Afryki (Kozioł 2007, Anderson 2008, Fronczak 2008, Gugala 2010).

W Rosji metodami kriogenicznymi zabezpiecza się nasiona florystycznych osobliwości Dalekiego Wschodu, w Czechach powstała kolekcja endemitów i reliktyw Sudetów, na Węgrzech rozbudowuje się Pannoński Bank Nasion przy ogrodzie botanicznym w Vácrátót, w Niemczech gromadzi się nasiona rodzimych gatunków pokrewnych roślinom użytkowym, przy czym kategorię tę interpretuje się szeroko, dążąc do zabezpieczenia 80% flory (Voronkova, Kholina 2010, Zahradníková, Harčariková 2010, Stevens 2011, <http://www.botanikuskert.hu/en/node/106>).

W Polsce również powstają nowe banki nasion: – przy Górskim Ogrodzie Botanicznym w Zakopanem – dla elementów alpejskich i endemitów zachodniokarpackich oraz dla karpackich ekotypów roślin bagiennych, znacznie rzadszych niż ekotypy niżowe,

Tabela 1. Banki nasion i sieci banków w Europie.
Table 1. Seed banks and its networks in Europe.

Lokalizacja banku lub zrzeszenia banków Seed bank or seed bank network localization	Pełna nazwa Name	Akronim Abbreviation	Data rozpoczęcia działalności Date of commencement of activity	Zabezpieczane grupy roślin Safeguarded plant groups
Wielka Brytania United Kingdom	Millennium Seed Bank Project	MSBP	2001	Docelowo flora całego świata Entire Earth's flora
Francja France	Banques de semences de la Mediterranee	GenMedOc	2004	Docelowo flora całego basenu Morza Śródziemnego Entire Mediterranean flora
Hiszpania Spain	Semence, Climate et Mediterranee	SemClimMed	2006	Docelowo flora całego basenu Morza Śródziemnego Entire Mediterranean flora
Hiszpania Spain	The Spanish Network of Genebanks for wild plants	RedBag	2002	Flora Płw. Iberyjskiego oraz Makaronezji Entire Iberian and Macaronesian flora
Portugalia Portugal	The Macaronesian Genebank	BaseMac	2000	Flora Płw. Iberyjskiego oraz Makaronezji Entire Iberian and Macaronesian flora
Włochy Italy	Rete Italiana Banche del germoplasma per la conservazione ex situ della flora spontanea	Ribes	2005	Flora Płw. Apenińskiego, Sycylii i Sardynii Entire Apennines Peninsula, Sicilian and Sardinian flora
Węgry Hungary	The Pannonian Seed Bank w Vácraátót	PanonMagBank	2010	Flora Panońskiego obszaru biogeograficznego Entire Pannonian biogeographic region flora
Polska Poland	Rada Ogródów Botanicznych i Arboretów w Polsce The Council of Botanical Gardens in Poland	ROBiA	2011	Flora całej Polski, koordynacja współpracy między bankami, tworzenie nowych banków nasion Polish flora, coordination of cooperation among banks, establishing of new seed banks
Polska Poland	Bank Nasion PAN Ogród Botaniczny-Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej w Powsinie Seed Bank of the Polish Academy of Sciences Botanical Garden - Center for Biological Diversity Conservation in Powsin	PAN OB-CZRB w Powsinie	1993	Flora Polski i ziem ościennych, stare odmiany i rasy lokalne żyta, dzicy przodkowie żyta, historyczne odmiany i dzicy przodkowie jabłoni domowej Polish flora and neighbouring lands, old varieties and landraces of rye, wild rye ancestors, historic varieties and wild ancestors of apple

Tabela 1. Kontynuacja

Polska Poland	Leśny Bank Genów „Kostrzyca” Kostrzyca Forest Gene Bank	LBG „Kostrzyca”	1995	Genotypy drzew leśnych, rośliny zielne i krzewinki prawnie chronione lub zagrożone wyginięciem Genotypes of forest trees, shrubs, herbaceous plants protected or endangered with extinction
Polska Poland	Bank nasion przy Górskim Ogrodzie Botanicznym w Zakopanem Seed Bank by Mountain Botanical Garden at Zakopane		2009	Flora Karpat, głównie polskich Tatr Carpathian flora mainly from Tatras
Unia Europejska European Union	European Native Seeds Conservation Network	ENSCONET	2004	Flora całej UE i ziem sąsiadnych Entire EU and adjacent countries flora

Na podstawie/After: <http://www.genmedoc.org/>, <http://www.semclimed.org/>, <http://www.bgc1.org/worldwide/article/384/>, [http://www-3.unipv.it/la-becove/conservazione/ribes.htm](http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ci/resource/doc/cdb/4-PT-report-cbd/at_download/file), <http://www.kew.org/science-conservation/save-seed-prosper/millennium-seed-bank>

– przy Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Adama Mickiewicza oraz Śląski Bank Nasion przy Ogrodzie Botanicznym w Mikołowie – w ramach programu „Ocena stanu populacji oraz ochrona *ex situ* wybranych, dziko rosnących gatunków roślin rzadkich i zagrożonych na terenie Polski – FlorNatur ROBiA”.

Ponadto są unowocześniane i wzbogacane o nowe próbki nasion istniejące od dawna instytucje, takie jak Bank Nasion Polskiej Akademii Nauk – Ogród Botaniczny Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej (PAN OB-CZRB) w Powsinie i Leśny Bank Genów „Kostrzyca” w Miłkowie koło Karpacza.

Dla ochrony *ex situ* w bankach nasion istotny jest fakt, że nie wszystkie gatunki roślin załączkowych wytwarzają diaspory generatywne znoszące silne wysuszenie (typu *orthodox*), co jest warunkiem niezbędnym przy zamrożeniu. Wiele gatunków, szczególnie form tropikalnych, wodnych oraz wielkonasiennych gatunków lasotwórczych Eurazji jak dęby, buk, jodła, produkuje nasiona tracące żywotność przy silnym wysuszeniu – nasiona te określane są nazwą *recalcitrant*. O ile nasiona typu *orthodox* znoszą wysuszenie do 3–6% wilgotności (dlatego też można je względnie łatwo deponować w niskich temperaturach), o tyle nasiona typu *recalcitrant* wymagają pracochłonnego i kosztownego przechowywania (Ellis et al. 1985, Hong, Ellis 1996). Jednak szybki rozwój wiedzy o fitohormonach i sztucznych regulatorach, odkrycie całych klas dotąd nieznanych hormonów roślinnych np. karrikin (odpowiedzialnych za stymulację kiełkowania nasion) oraz rozwój kultur asymbiotycznych storczyków budzą nadzieję na opracowanie metod długoterminowego zabezpieczenia materiału zarodkowego roślin o nasionach typu *recalcitrant*. W PAN OB-CZRB w Powsinie opracowano już unikatowe metody długoterminowego przechowywania zarodników i gametofitów paproci drzewiastych oraz rodzimych dla Polski paproci serpentynitowych (Mikuła et al. 2011, Rybczyński, Mikuła 2011). Na swoich autorów czeka jeszcze opracowanie metody wieloletniego przechowywania

zarodników, gametofitów i kultur komórek wi-
dlakowych i mszaków.

BANK NASION PAN OB-CZRB W POWSINIE JAKO REZERWA GENETYCZNA DO RESTYTUCJI GATUNKÓW

Bank Nasion PAN OB-CZRB w Powsinie został założony na początku lat 90. XX wieku. Jego powstanie wiązało się z widocznymi, coraz wyraźniejszymi, negatywnymi zmianami zachodzącymi w środowisku naturalnym, skutkującymi wymieraniem gatunków roślin, również na terenach od dawna chronionych (parki narodowe, rezerваты).

Przez długi czas to właśnie polowe kolekcje roślin chronionych lub/i zagrożonych, uprawianych w ogrodach botanicznych i arboretach, wspierały ochronę *in situ* na stanowiskach naturalnych. Jednak z czasem nasilenie procesu utraty siedlisk a także regulacje prawne dotyczące ochrony środowiska przy realizacji różnego rodzaju inwestycji wymusiły podejmowanie nowych działań. Akcje przesadzania okazów rzadkich gatunków i przenoszenia całych płatów siedlisk, zazwyczaj wykonywane doraźnie, często kończyły się niepowodzeniem (Żółkoś et al. 2010). Udana metaplantacje są dość kosztowne, czas- i pracochłonne (Dąbrowska et al. 1995, Węglarski, Jańczyk-Węglarska 2000), stąd potrzeba tworzenia rezerwy genetycznej w postaci banku nasion.

Bank Nasion w swym założeniu miał stanowić uzupełnienie metod ochrony *in situ* i tworzyć rezerwę w razie wyginięcia poszczególnych gatunków na ich naturalnych stanowiskach. Praktyka pokazała, że nasiona zdeponowane w Banku Nasion nie tylko tworzą trwałą rezerwę genetyczną ale wykorzystywane są do odtwarzania lub wzmacniania zanikających populacji. Dla wzmacniania populacji naturalnych oraz zakładania populacji zastępczych wykorzystuje się banki nasion jako źródło diaspor generatywnych i młodych okazów roślin, które uzyskuje się w czasie monitoringu żywotności przechowanych materiałów. Zarówno kolekcje *ex situ* w ogrodach botanicznych jak i zbiory w bankach nasion

stanowią wzajemnie wspierające się działania w ramach ochrony *ex situ* i łączą się z uzupełnieniem metod *in situ*. Dobrym przykładem tej komplementarności może być zakończona w październiku 2014 roku akcja wzmacniania populacji dzwonecznika wonnego *Adenophora liliifolia* w „Niedzielskim Lesie” (otulina Roztoczańskiego Parku Narodowego), wykonana po gruntownej poprawie stanu siedliska, w oparciu o sadzonki uzyskane z nasion przechowywanych w ciekłym azocie (Kapler et al. 2015). Sadzonki uzyskane podczas testów żywotności nasion lub zarodników i optymalizacji ich kriokonserwacji wykorzystano także do odbudowy tatrzańskich populacji traganka zwisłokwiatowego *Astragalus penduliflorus*, sasanki słowackiej *Pulsatilla slavica* i nerecznicy Villara *Dryopteris villarii* (Muranyi 2003, Delimat 2006, Piękoś-Mirkowa 2008, Piękoś-Mirkowa, Mirek 2008).

Działania podejmowane w Banku Nasion stanowią praktyczne wypełnienie międzynarodowych zobowiązań Polski w zakresie czynnej ochrony przyrody *ex situ* (Konwencja z Rio de Janeiro o Różnorodności Biologicznej z 5 czerwca 1992, Konwencja Waszyngtońska o Zakazie Handlu i Zwalczaniu Przemytu rzadkich i chronionych gatunków roślin i zwierząt, Program Ochrony Roślin Komisji do spraw Przetwarzania Gatunków IUCN, Globalna Strategia Ochrony Roślin, zwłaszcza cele VIII i IX, Europejskie Strategie Ochrony Roślin, Protokół z Nagoi dotyczący Dostępu do Zasobów Genowych oraz Uczciwego i Sprawiedliwego Podziału Korzyści z ich Wykorzystania, Światowy Strategiczny Plan dla Bioróżnorodności 2011–2020, etc.). Są też zgodne z kierunkami zrównoważonego rozwoju przyjętymi przez Rzeczpospolitą Polską w Konstytucji, aktach prawnych i innych strategicznych dokumentach (Ustawa o ochronie przyrody z dnia 16 kwietnia 2004 r., Krajowa Strategia Zachowania Różnorodności Biologicznej na lata 2007–2013, II Polityka Ekologiczna Państwa na lata 2002–2010, Ustawa o lasach z dnia 28 września 1991 r., zwłaszcza art. 6 pkt 1, art. 7 pkt 2 i art. 13a, Zarządzenie Dyrektora Generalnego Lasów Państwowych nr 17 z 24 lutego 2003 r., itd.) (Puchalski 2000, 2004, Puchalski, Walters 2008).

Jednym z celów Planu Strategicznego dla Różnorodności Biologicznej na lata 2011–2020, przyjętego podczas Dziesiątego Posiedzenia Konferencji Stron Konwencji o różnorodności biologicznej (CBD COP10) (Aichi Targets), jest zapobieżenie wyginięciu gatunków zagrożonych. Ambitnie zakłada się, że do roku 2020 zapobiegnie się wyginięciu znanych gatunków zagrożonych, a ich status ochrony, zwłaszcza gatunków najbardziej zmniejszających swoją liczebność, zostanie polepszony i zrównoważony. „Globalna Strategia Ochrony Roślin” na lata 2011–2020 w sformułowanych zadaniach precyzuje, że 75% zagrożonych gatunków roślin powinno znaleźć się w kolekcjach *ex situ* ogrodów botanicznych i banków nasion, a 20% spośród nich powinno zostać objętych programem restytucji do naturalnego środowiska (Sharrock 2012).

Jako metodę długotrwałego przechowywania nasion w Banku Nasion wybrano kriokonserwację – zabezpieczenie w ciekłym azocie w temperaturach od -160°C do -196°C . W odróżnieniu od standardowej metody przechowywania wykorzystywanej w większości europejskich i amerykańskich banków nasion (przechowywanie w temp. -20°C lub ultrasuszenie nasion – ang. *ultradrying of seeds*) (Puchalski 2000, 2004, Bonomi et al. 2007, Perez-Garcia et al. 2007, 2008, 2009, Vitt et al. 2010), ciekły azot umożliwia praktycznie bezterminowe przechowywanie nasion, bez konieczności ich regeneracji. Dzięki temu ma miejsce prawie całkowite zahamowanie procesów starzenia w tak niskiej temperaturze. To z kolei pozwala zabezpieczyć próbki przed naruszeniem ich stabilności genetycznej i uszczupleniem zgromadzonej puli genowej (Puchalski 2004, Kholina, Voronkova 2008, Puchalski et al. 2010, 2013, Voronkova, Kholina 2010); jest też wysoce korzystne w przypadku gromadzenia nasion szybko ustępujących gatunków wysokogórskich, o diasporach generatywnych z natury bardziej krótkowiecznych niż u ich nizinnych krewniaków (Mondoni et al. 2011). Doświadczenia prowadzone w Banku Nasion PAN OB CZRB od 1991 roku wykazały skuteczność metody kriokonserwacji w zabezpieczeniu

nasion dzikich gatunków (Muranyi 2002, 2003, Puchalski, Walters 2008).

W latach 2001–2005 pracownicy Banku Nasion współpracowali z górskimi parkami narodowymi – Bieszczadzkim, Pienińskim, Babogórskim, Tatrzańskim, a także z Kampinoskim Parkiem Narodowym. W tym okresie zdeponowano w Banku Nasion diasporę wielu rzadkich i cennych gatunków karpacczych, np.: sasanki słowackiej *Pulsatilla slavica*, mniszka pienińskiego *Taraxacum pieninicum*, pszonaka pienińskiego *Erysimum pieninicum* czy tojadu niskiego *Aconitum bucovinense* jak również zarodniki krytycznie zagrożonej paproci nerecznicy Villara *Dryopteris villari*, a także osobliwości KPN, m.in. dzwoniecznika wonnego *Adenophora liliifolia* czy goździka piaskowego pruskiego *Dianthus arenarius* subsp. *borussicus* (Ferchmin 2002, Muranyi, Wróbel 2006, Piękoś-Mirkowa 2008, Piękoś-Mirkowa et al. 2008, Wróbel 2008). Wtedy również do Banku trafiły próbki diaspor generatywnych m.in. różnecznika wschodniokarpacczego *Rhododendron kotschyannum* z ukraińskich Karpat (Graniszevska et al. 2004).

W latach 2010–2013 realizowano projekt „Ochrona *ex situ* dziko rosnących, zagrożonych i chronionych roślin w Polsce wschodniej – FlorNaturOB”, w ramach którego zabezpieczono nasiona 61 najrzadszych gatunków flory Polski ze 161 stanowisk, a także sporządzono szczegółową dokumentację tychże stanowisk (Puchalski et al. 2013). Po zakończeniu projektu (grudzień 2013 roku) w Banku Nasion zdeponowanych jest ponad 500 próbek 153 rzadkich, zagrożonych i chronionych gatunków polskiej flory (Tab. 2).

W czasie prac konserwatorskich aktualizowana jest wiedza na temat stanu zachowania *in situ* populacji rzadkich gatunków, z których nasiona są zbierane. Uzyskuje się również nowe informacje z zakresu biologii kiełkowania nasion, chorologii i fenologii kwitnienia na stanowiskach naturalnych.

Cenne doświadczenia zdobyte w czasie zabezpieczania nasion sasanki słowackiej i traganka zwisłokwiatowego *Astragalus penduliflorus* oraz spor nerecznicy Villara *Dryopteris villari* zdeponowanych w Banku Nasion posłużyły później

Tabela 2. Liczba próbek nasion roślin rzadkich, chronionych i ginących, zdeponowanych w Banku Nasion PAN OB CZRB wg kategorii zagrożenia.

Table 2. Status of seed samples of rare, protected and endangered plants managed in PAS BG CBDC Seed Bank according to species threat categories.

Kategoria zagrożenia Threat category	Liczba próbek Number of samples	Liczba gatunków Number of species
Chronione prawnie Protected by law	386	88
Czerwona Księga Polish Red Data Book	160	55
CR	82	27
EN	16	7
EW	3	1
LR	12	4
VU	42	16
Czerwona lista Polish Red List	214	72
E	94	29
EW	3	1
EX	4	1
R	34	16
V	79	25
Dyrektywa Siedliskowa Habitat Directive	60	18
Łącznie Total	509	153

do przeprowadzenia reintrodukcji ww. sozofitów w Tatrzańskim Parku Narodowym (Muranyi 2003, Piękoś-Mirkowa, Mirek 2004, 2008, Delimat 2006, Piękoś-Mirkowa 2008, Piękoś-Mirkowa et al. 2008).

PROCEDURY STOSOWANE W BANKU NASION

Nasiona zbierane są zgodnie z metodyką zbioru nasion wypracowaną w ramach Europejskiej Sieci Banków Nasion Flory Rodzimej ENSCONET

(ang. *European Native Seed Banks Conservation Network*). Już na etapie zbioru nasiona w miarę możliwości wyłuskuje się z owoców/owocostanów oraz oddziela zdrowe od uszkodzonych, słabo wykształconych, itp. Po dostarczeniu diaspor do banku nasion rozpoczyna się wieloetapowy i długotrwały proces przygotowywania próbek do zamrożenia:

PRZYGOTOWANIE NASION

Stosuje się tu metodykę wypracowaną w Royal Botanic Gardens Kew (UK), opisaną

w „Zaleceniach i Protokołach Banków Nasion” (http://ensconet.maich.gr/PDF/Curation_protocol_Polish.pdf) oraz wewnętrzne procedury Banku Nasion. Głównym celem tego etapu jest oddzielenie w pełni wykształconych nasion od pustych łupin nasiennych, nasion porażonych infekcjami oraz resztek owocni. Ze względu na różną wielkość nasion poszczególnych gatunków (np. wskaźnik masy 1000 nasion dla lindernii mułowej *Lindernia procumbens* wynosi 0,0052g, a dla rzepiku szczeciniastego *Agrimonia pilosa* 20,714g) oraz różnice morfologiczne (obecność włosków, haczyków, kolców, itp.) stosuje się różne metody oczyszczania. Najczęściej proces ten wykonywany jest ręcznie, przy pomocy sit laboratoryjnych lub używa się pneumatycznego separatora nasion.

SUSZENIE NASION W KONTROLOWANYCH WARUNKACH

Kolejnym etapem prac jest suszenie nasion. Jest to najważniejszy a zarazem najbardziej krytyczny etap przygotowania nasion do zabezpieczenia w banku. Obniżenie pierwotnego poziomu wilgotności próbki do poziomu ok. 6–8% jest niezbędne ze względu na niskie temperatury, w jakich nasiona zostaną zdeponowane (Ellis et al. 1985). Proces ten przeprowadzany jest w specjalnej komorze, w której nasiona podlegają powolnemu suszeniu w temp. +20°C i przy 20% wilgotności względnej.

OCENA ŻYWOTNOŚCI NASION

Najpewniejszą metodą oceny żywotności nasion dostarczonych do banku są testy kiełkowania. Testy te przeprowadzane są w komorach hodowlanych, w których, dzięki możliwości programowania temperatury, wilgotności i fotoperiodu (czasu trwania dnia i nocy), symulowane są warunki zbliżone do naturalnych (Ellis et al. 1985).

Ze względu na dużą różnorodność gatunków poddawanych ochronie *ex situ*, pochodzących często ze skrajnie różnych siedlisk, konieczne jest różnicowanie warunków kiełkowania. Część z nich wymaga zastosowania wyższej temperatury

i zmiennego oświetlenia, inne kiełkują tylko w chłodzie i w całkowitej ciemności. Różne jest także tempo kiełkowania – w zależności od gatunku waha się od kilku dni do kilku miesięcy.

Wiele gatunków wytwarza tzw. nasiona spoczynkowe, a ekologiczne, anatomiczne i fizjologiczne mechanizmy tego spoczynku mogą być bardzo różne (Baskin, Baskin 2004, 2008). Oznacza to, że ich skielkowanie może wymagać zastosowania dodatkowych zabiegów, takich jak: mokra stratyfikacja (przechłodzenie w temp. +4°C), skaryfikacja (nacięcie łupiny nasiennej) lub dodanie do podłoża fitohormonu – kwasu giberelinowego GA₃ (imitującego działania grzybów mikoryzowych).

Jeśli próbka okaże się żywotna – poddaje się ją dalszym etapom przygotowującym do zamrożenia. Siewki, które powstają w trakcie testów kiełkowania, przekazywane są do żywej kolekcji PAN Ogródu Botanicznego w Powsinie.

OCENA TOLERANCJI NA ZAMRAŻANIE

Próbki nasion po wyczyszczeniu, wysuszeniu i ocenie żywotności oceniane są pod kątem odporności na mrożenie do temperatury par ciekłego azotu. Głównym zagrożeniem wynikającym z procesu zamrażania jest krystalizacja wody zawartej w nasionach. Wzrost kryształów lodu może powodować uszkodzenia mechaniczne mrożonego materiału. Jednak dzięki wcześniejszemu obniżeniu zawartości wody w nasionach, możliwe jest bezpieczne zamrożenie nasion w ciekłym azocie (Engelmann 2004, Puchalski, Walters 2008).

Ze względu na możliwe różnice w reakcji nasion na proces mrożenia i tak skrajne warunki, prowadzone są testy mające na celu wybór optymalnego sposobu zamrażania. Stosowane są dwa podstawowe warianty zamrażania próby testowej:

- (i) immersja czyli bezpośrednio umieszczanie nasion w parach ciekłego azotu,
- (ii) stopniowe mrożenie z szybkością 0,5°C/min.

Nasiona po okresie 30 dni, są rozmrażane i ponownie oceniana jest ich żywotność. Dla większości testowanych próbek doświadczenia

wykazały doskonałą tolerancję przy mrożeniu bezpośrednim. Jeśli nie ma widocznych różnic pomiędzy żywotnością próbek mrożonych a niemrożoną kontrolą, wówczas całą próbkę, zgodnie z ustaloną metodyką, umieszcza się w ciekłym azocie.

PODSUMOWANIE

Negatywne zmiany zachodzące w środowisku naturalnym skutkują wymieraniem poszczególnych populacji, a nawet całych gatunków roślin, również na terenach od dawna chronionych (Dziewolski 1985, Michalik 1986, Zarzycki, Korzeniak 1992, Witkowska-Żuk, Ciurzycki 2000, Sołtys-Lelek, Barabasz-Krasny 2009). Niektóre gatunki roślin zachowały się jedynie w ogrodach botanicznych albo na stanowiskach zastępczych, stworzonych w oparciu o materiał zarodowy pozyskany z kolekcji ogrodów botanicznych i banków nasion (Maunder et al. 1998, Schoen, Brown 2001, Rucińska, Puchalski 2011). Banki nasion powstające najczęściej przy ogrodach botanicznych mają tworzyć rezerwę zasobów

genowych roślin w razie ich wyginięcia na naturalnych stanowiskach i stanowią uzupełnienie tradycyjnych metod ochrony *in situ* w parkach narodowych i rezerwach (Engelmann 2004, Puchalski 2004, Bonomi et al. 2007, Schulman, Lehvävirta 2011). W działającym od 20 lat Banku Nasion PAN OB-CZRB w Powsinie zdeponowano ponad 500 próbek nasion, zabezpieczając różnorodność biologiczną ponad 150 gatunków roślin rzadkich i ginących w Polsce oraz w krajach ościennych. Powstanie kolekcji umożliwiło także zebranie ciekawych obserwacji z zakresu biologii kiełkowania nasion, chorologii i fenologii kwitnienia na stanowiskach naturalnych.

Projekt „Ochrona *ex situ* dziko rosnących, zagrożonych i chronionych roślin w Polsce wschodniej – FlorNaturOB” sfinansowany został z funduszy unijnych Programu Operacyjnego „Infrastruktura i Środowisko”, w ramach konkursu 5.1.2 „Ochrona gatunków *ex situ*, ochrona zasobów genowych oraz budowa centrów rehabilitacji zwierząt” oraz ze środków krajowych z Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.



**INFRASTRUKTURA
I ŚRODOWISKO**
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI FUNDUSZ
ROZWOJU REGIONALNEGO



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Infrastruktura i Środowisko



Dofinansowano ze środków Narodowego Funduszu
Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej

LITERATURA

- ANDERSON S. (ed.) 2008. A sustainable future for Europe: the European strategy for plant conservation 2008–2014. Plantlife International (Salisbury, UK), Council of Europe (Strasbourg, France). [manuskrypt]
- BASKIN J., BASKIN C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* **14**: 1–16.
- BASKIN J., BASKIN C. 2008. Some considerations for adoption of Nikolaeva's formula system into seed dormancy classification. *Seed Science Research* **18**: 131–137.
- BIEREŃNOJ-BAZILLE U. 2012. Ocena stopnia zagrożenia niebieliski trwałej (*Swertia perennis*) w Polsce niżowej. W: A. ŁAWNICZAK (red.), Ekosystemy wodne i wodno-blotne na obszarach chronionych. Tucholski Park Krajobrazowy, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Tuchola – Poznań, s. 97–104.
- BONOMI C., ROSSI G., BEDINI G. 2007. A National Italian Network to improve seed conservation of wild native species ('RIBES'). W: N. MAXTED (ed.), Crop wild relative conservation and use. CAB International, Rome, s. 441–447.

- BOSIACKA B., WIĘCŁAW H. 2012. *Carex extensa* (Cyperaceae) rediscovered in Poland. *Polish Bot. J.* **57**(2): 371–374.
- DĄBROWSKA K., FRANSZCZAK-BYĆ M., SAWICKI R. 1995. Meta-plantacja i restytucja *Echium russicum* J. F. Gmel. i *Iris aphylla* L. (Metaplantation and restitution of *Echium russicum* and *Iris aphylla* L.) W: Z. MIREK, J. J. WÓJCICKI (eds), Szata roślinna Polski w procesie przemian. Materiały konferencji i sympozjów 50 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Botanicznego, Kraków 26.06 – 01.07.1995. Polskie Towarzystwo Botaniczne, Oddział Krakowski, Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Kraków, s. 77.
- DELIMAT A. 2006. Monitoring traganka zwisłokwiatowego *Astragalus penduliflorus* Lam. w latach 1997–2005 w Tatrzańskim Parku Narodowym. W: Z. MIREK, E. CIEŚLAK, B. PASZKO, W. PAUL, M. RONIQUIER (red.), Rzadkie, ginące i reliktowe gatunki roślin i grzybów. Problemy zagrożenia i ochrony różnorodności flory Polski. Materiały ogólnopolskiej konferencji naukowej, Kraków 30–31 maja 2006. Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, Zakład Systematyki Roślin Naczyniowych, Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Leśny, Kraków. Skład i druk: ABart, Kraków, s. 64.
- DZIEWOLSKI J. 1985. Zagadnienia wtórnej sukcesji lasu na polanach Tatrzańskiego Parku Narodowego. *Chrońmy Przyr. Ojczystą* **41**: 5–10.
- ELLIS R., HONG T., ROBERTS E. 1985. Handbook of seed technology for genebanks. Volume II. Compendium of specific germination information and test recommendations. International Board for Plant Genetic Resources. Handbooks for Genebanks, 3, Rome.
- ENGELMANN F. 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* **40**(5): 427–433.
- FERCHMIN M. 2002. [Lista próbek dostarczonych do Banku Nasion.] [manuskrypt]
- FRONCZAK K. 2008. Bank genów w Kostrzycy. *Przyr. Polska* **3**: 22–24.
- GRANISZEWSKA M., MURANYI R., PROKOPIV A. 2004. Methods of germination and cryogenic storage of rare species seeds from the Ukrainian Carpathians. *Visnyk of L'viv University, Series Biology* **36**: 153–159.
- GUGAŁA A. 2010. Główne założenia projektu „FlorNaturLBG – Ochrona *ex situ* zagrożonych i chronionych roślin, dziko rosnących w zachodniej Polsce”. *Studia i Materiały CEPL w Rogowie* **12**(25): 313–327.
- HONG T., ELLIS R. 1996. A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI Technical bulletin No.1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- KAPLER A., NIEMCZYK M., PUCHALSKI J., RAPA A., RADLIŃSKI B., BAJDAK T. 2015. Use of *Adenophora liliifolia* Bess.' seeds collected at „Dabrowa near Zaklików” (Rzeszów Province) to strengthen declining population at „Niedzieliski Las” (buffer zone of Roztocze National Park, Lublin Province). *Monographs of Botanic Gardens 2* (w przygotowaniu).
- KĄCKI Z., DAJDKO Z., SZCZĘŚNIAK E. 2003. Czerwona lista roślin naczyniowych Dolnego Śląska. W: Z. KĄCKI (red.), *Zagrożone gatunki flory naczyniowej Dolnego Śląska*. Instytut Biologii Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego, Polskie Towarzystwo Przyjaciół Przyrody „Pro Natura”, Wrocław, s. 9–64.
- KHOLINA A. B., VORONKOVA N. M. 2008. Conserving the gene pool of Far Eastern plants by means of seed cryopreservation. *Biology Bulletin* **35**(3): 262–269.
- KOZIOL C. 2007. Collecting and preservation of forest gene resources in Kostrzyca forest gene bank. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* **517**: 53–61.
- KRUK J., CIEŚLAK P. 2011. Nowe stanowisko sierpika różnolistnego *Serratula lycophilolia* na terenie Niecki Nidziańskiej. *Chrońmy Przyr. Ojczystą* **4**: 354.
- KURZAC M., WYLAZŁOWSKA J. 2012. Dzwonecznik wonny *Adenophora liliifolia* – nowe stanowisko w środkowej Polsce. *Chrońmy Przyr. Ojczystą* **68**(1): 65–69.
- MAUNDER M., HIGGINS S., CULHAM A. 1998. Neither common nor garden: the garden as a refuge for threatened plant species. *Curtis's Botanical Magazine* **15**(2): 124–132.
- MICHALCZUK W., CWENER A. 2011. Odnalezienie *Isolepis supina* (Cyperaceae) na Lubelszczyźnie. *Fragm. Florist. Geobot. Polon.* **18**(2): 435–442.
- MICHALIK S. 1986. Problemy ochrony biocenoz polan re-glowych w parkach narodowych polskich Karpat. *Chrońmy Przyr. Ojczystą* **42**(5): 16–27.
- MIKULA A., MAKOWSKI D., WALTERS C., RYBCZYŃSKI J. 2011. Chapter 13. Exploration of cryo-methods to preserve fern gametophytes. W: A. KUMAR, H. FERNANDES, A. REVILLA BAHILLO (eds), *Working with Ferns. Issues and Application*. Springer Science+Business Media, New York-Dordrecht-Heidelberg-London, s. 173–192.
- MIREK Z., PIĘKOS-MIRKOWA H. 2009. Fitogeograficzne aspekty endemizmu w Polsce. *Wiadom. Bot.* **53**(3–4): 7–30.
- MIREK Z., PIĘKOS-MIRKOWA H., ZAJĄC A., ZAJĄC M., PAUL W., RONIQUIER M., BERNACKI L., CIEŚLAK E., GŁOWACKI Z., LEDA M., MITKA J., PAŚNIK A., ROSTAŃSKI K., SZELĄG Z., WÓJCICKI J. J., ZALEWSKA-GAŁOZ J., ZIELIŃSKI J., ŻUKOWSKI W. 2002. Flowering plants and pteridophytes of Poland. A Checklist. Biodiversity of Poland, 1. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- MONDONI A., PROBERT R., ROSSI G., VEGINI E., HAY R. 2011. Seeds of alpine plants are short lived: implications for long-term conservation. *Ann. Bot.* **107**(1): 171–179.
- MURANYI R. 2002. Sprawozdanie z prac prowadzonych w ramach działalności podstawowej. Temat badawczy nr 1: „Opracowanie metod kiełkowania i kriogenicznego przechowywania nasion roślin zagrożonych i chronionych”. Warszawa-Powsin. [manuskrypt].

- MURANYI R. 2003. Cele i zadania Narodowego Banku Nasion w zachowaniu ginących i chronionych gatunków roślin naczyniowych flory polskiej. *Chrońmy Przyr. Ojczystą* 59(5): 28–38.
- MURANYI R., WRÓBEL I. 2006. Rola Narodowego Banku Nasion w ochronie zagrożonych gatunków roślin Pienińskiego Parku Narodowego. *Pieniny – Przyroda i Człowiek* 9: 79–85.
- PAWLIKOWSKI P. 2010. *Carex disperma* Dewey versus *Carex loliacea* L. (Cyperaceae): distribution, dynamics and conservation status in Poland. *Acta Soc. Bot. Poloniae* 79(4): 277–284.
- PAWLIKOWSKI P., WÓLKOWYCKI D. 2010. Nowe stanowiska *Swertia perennis* subsp. *perennis* (Gentianaceae) na torfowiskach północno-wschodniej Polski. *Fragm. Florist. Geobot. Polon.* 17(1): 25–36.
- PAWLIKOWSKI P., WÓLKOWYCKI D., ZANIEWSKI P., DEMBICZ I., TORZEWSKI K., ZARZECKI R., CAKAŁA A., KOTOWSKA K., GALUS M., TOPOLSKA K., KOZUB Ł. 2013. Vascular plants of the Mały Borek nature reserve in the Augustów Forest (NE Poland). *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu* 392, Ser. Botanika-Steciana 17: 61–65.
- PÉREZ-GARCÍA F., GONZÁLEZ-BENITO M., GÓMEZ-CAMPO C. 2007. High viability recorded in ultra-dry seeds of 37 species of Brassicaceae after almost 40 years of storage. *Seed Science and Technology* 35: 143–153.
- PÉREZ-GARCÍA F., GONZÁLEZ-BENITO M., GÓMEZ-CAMPO C. 2008. Germination of fourteen endemic species from the Iberian Peninsula, Canary and Balearic Islands after 32–34 years of storage at low temperature and very low water content. *Seed Science and Technology* 36: 407–422.
- PÉREZ-GARCÍA F., GÓMEZ-CAMPO C., ELLIS R. 2009. Successful long-term ultra-dry-storage of seed of 15 species of Brassicaceae in a genebank: variation in ability to germinate over 40 years and dormancy. *Seed Science and Technology* 37: 640–649.
- PIĘKOŚ-MIRKOWA H. 2008. Sasanka słowacka *Pulsatilla slavica* G. Reuss – EN. W: Z. MIREK, H. PIĘKOŚ-MIRKOWA (red.), Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 96–98.
- PIĘKOŚ-MIRKOWA H., MIREK Z. 2004. Conservation programme of vascular plant diversity in the Polish Tatra Mountains. *Biuletyn Ogródów Botanicznych Muzeów i Zbiorów* 13: 15–24.
- PIĘKOŚ-MIRKOWA H., MIREK Z. 2008. Nerecznica Villara *Dryopteris villarii* (Bellardi) Woy. ex Schinz. & Thell. – EW. W: Z. MIREK, H. PIĘKOŚ-MIRKOWA (red.), Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 50–51.
- PIĘKOŚ-MIRKOWA H., MIREK Z., DELIMAT A. 2008. Traganiek zwisłokwiatowy *Astragalus penduliflorus* Lam – CR. W: Z. MIREK, H. PIĘKOŚ-MIRKOWA (red.), Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 236–237.
- PUCHALSKI J. 2000. Genebanks in conservation of rare and endangered plants. *Biuletyn Ogródów Botanicznych Muzeów i Zbiorów* 9: 91–97.
- PUCHALSKI J. 2004. International programs for seed preservation of European native plants. *Biuletyn Ogródów Botanicznych Muzeów i Zbiorów* 13: 11–18.
- PUCHALSKI J., WALTERS C. 2008. Perspectives for cryo-preserving seeds and spores of native plants. *ENSCONews* 4: 3–4.
- PUCHALSKI J., KAPLER A., NIEMCZYK M. 2010. *Ex situ* conservation of Polish endangered plant species in botanical gardens. Botanic Gardens and Biodiversity. 200th Anniversary of University Botanic Gardens Ljubljana, European Botanic Gardens Consortium Meeting, Ljubljana, 12–16.05.2010. University Botanic Garden, University of Ljubljana & European Botanic Gardens Consortium, Ljubljana, Slovenia, s. 94–122.
- PUCHALSKI J., KAPLER A., NIEMCZYK M., SMIEJA A., WALEROWSKI P., KRZYŻEWSKI A., PODYMA W. 2013. Zachowanie *ex situ* w kriogenicznym banku nasion rzadkich, zagrożonych i chronionych gatunków flory polskiej jako efekt projektu „FlorNaturOB”. W: Rada Ogródów Botanicznych i Arboretów w Polsce, Kierunki i możliwości rozwoju ogrodów botanicznych i arboretów w Polsce XXI w. Materiały konferencyjne. XLII Zjazd Ogródów Botanicznych i Arboretów w Polsce, Kraków, 19–21 września 2013 r. Rada Ogródów Botanicznych i Arboretów w Polsce & Ogród Botaniczny Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, s. 19–21.
- RAPA A. 2012. Nowe stanowisko dzwonecznika wonnego *Adenophora liliifolia* w Dąbrowie koło Zaklikowa (Wyżyna Lubelska). *Chrońmy Przyr. Ojczystą* 68(1): 70–74.
- RUCIŃSKA A., PUCHALSKI J. 2011. Comparative molecular studies on the genetic diversity of an *ex situ* garden collection and its source population of the critically endangered Polish endemic plant *Cochlearia polonica* E. Fröhlich. *Biodiversity and Conservation* 20(2): 401–413.
- RYBCZYŃSKI J. J., MIKULA A. 2011. Chapter 10. Tree fern biotechnology: from spores to sporophytes. W: A. KUMAR, H. FERNANDES, A. REVILLA BAHILLO (eds), Working with Ferns. Issues and Application. Springer Science+Business Media, New York-Dordrecht-Heidelberg-London, s. 135–147.
- SCHOEN D., BROWN A. 2001. The conservation of wild plant species in seed banks: attention to both taxonomic coverage and population biology will improve the role of seed banks as conservation tools. *BioScience* 51(11): 960–966.
- SCHULMAN L., LEHVAVIRTA S. 2011. Botanic gardens in the age of climate change. *Biodiversity and Conservation* 20(2): 217–220.
- SHARROCK S. 2012. GSPC Global Strategy for Plant

- Conservation. A guide to the GSPC. All the targets, objectives and facts. Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK.
- SOLTYS-LELEK A., BARABASZ-KRASNY B. 2009. Skuteczność dotychczasowych form ochrony flory i szaty roślinnej w Ojcowskim Parku Narodowym. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* **39**: 89–102.
- STEVENS A. 2011. The German Seed Bank Network Project: seed banking of Crop Wild Relatives. W: P. KOJS (ed.), „Back to Eden”. Challenges for contemporary gardens. Katowice – Ustroń – Mikołów, 21–23 May. Conference proceedings. P. Kojs (ed.), Silesian Botanic Garden, Katowice – Ustroń – Mikołów, s. 23–30.
- SZCZĘŚNIAK E., KRUKOWSKI M., MALICKI M. 2011. Pojawy i stopień zagrożenia *Veronica bellidioides* (Scrophulariaceae) w Polsce. *Fragm. Florist. Geobot. Polon.* **18**(1): 3–9.
- USELIS V., USELIENE A. 2012. *Carex disperma* – not yet extinct species in old-growth swampy forests of Lithuania. *Botanica Lithuanica* **18**(1): 13–18.
- VITT P., HAVENS K., KRAMER A., SOLLENBERGER D., YATES E. 2010. Assisted migration of plants: changes in latitudes, changes in attitudes. *Biol. Conservation* **143**: 18–27.
- VORONKOVA N. M., KHOLINA A. B. 2010. Conservation of endemic species from the Russian Far East using seed cryopreservation. *Biology Bulletin* **37**(5): 496–501.
- WĘGLARSKI K., JAŃCZYK-WĘGLARSKA J. 2000. Aktywna ochrona gatunku zagrożonego wymarciem na przykładzie *Dianthus gratianopolitanus* Vill. z rezerwatu „Goździk siny w Grzybnie” (woj. wielkopolskie). *Badania Fizjograficzne nad Polską Zachodnią, Seria B.* **49**: 157–172.
- WITKOWSKA-ŻUK L., CIURZYCKI W. 2000. Sukcesja roślinności na terenach wyłączonych z wypasu owiec w Tatrzańskim Parku Narodowym w latach 1965–1994. *Ochr. Przyn.* **57**: 19–40.
- WRÓBEL D. 2012. Nowe stanowisko *Rhododendron luteum* (Ericaceae) w Kotlinie Sandomierskiej (południowo-wschodnia Polska). *Fragm. Florist. Geobot. Polon.* **20**(1): 136–139.
- WRÓBEL I. 2008. Mniszek pieniężny *Taraxacum pinnatum* Pawł. – CR. W: Z. MIREK, H. PIĘKOŚ-MIRKOWA (red.), Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków, s. 406–408.
- ZAHRADNÍKOVÁ J., HARČARIKOVÁ L. 2010. Banka semen ohrožených druhů rostlin Krkonoš. *Opera Corcontica* **47**: 211–230.
- ZARZYCKI K., KORZENIAK U. 1992. Roślinność łąkowa Pienin i jej przemiany w ostatnim sześćdziesięcioleciu. *Pieniny – Przyroda i Człowiek* **2**: 5–12.
- ŻÓŁKOŚ K., AFRANOWICZ R., BŁOCH-ORŁOWSKA J., MINASIEWICZ J. 2010. Problems of metaplantations of protected species – a case study of Sea Holly (*Eryngium maritimum* L.) and Dark Red Helleborine (*Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser). *Baltic Coastal Zone, Journal of Ecology and Protection of Coastline* **14**: 17–23.
- <http://www.genmedoc.org/> dostęp 4.10.2014.
- <http://www.semclimed.org/> dostęp 4.10.2014.
- <http://www.bgci.org/worldwide/article/384/> dostęp 4.10.2014.
- http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ei/resource/doc/cdb/4-PT-report-cbd/at_download/file/ dostęp 4.10.2014.
- <http://www-3.unipv.it/labecove/conservazione/ribes.htm/> dostęp 4.10.2014.
- <http://www.kew.org/science-conservation/save-seed-prosper/millennium-seed-bank/> dostęp 4.10.2014.
- <http://www.botanikuskert.hu/en/node/106/> dostęp 4.10.2014.
- http://ensconet.maich.gr/PDF/Curation_protocol_Polish.pdf/ dostęp 4.10.2014.