

GENETSKA ANALIZA STAROG HVARSKOG ČEMPRESA (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* (Mill.) Gord.)

GENETIC ANALYSIS OF THE OLD CYPRESS OF HVAR
(*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* (Mill.) GORD.)

Svetlana CVJETAN*, Davorin KAJBA**, Nikola PAVIČIĆ*** I Ivan PEJIĆ***

SAŽETAK: Stari hvarske čempresi (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* (Mill.) Gord.) starosti je oko 300-350 god., karakterističnog je fenotipa i neobičnog morfološkog izgleda grana, što je potaknulo istraživanja njegova genotipa. Rezultati RAPD analize sugeriraju da je stari čempres, u vrtu Franjevačkog samostana u Hvaru, introducirani genotip iz nekog drugog zemljopisnog područja. Sigurnija potvrda bila bi moguća uz analizu većeg broja genotipova s otoka Hvara i kod barem 100 RAPD lokusa. Dva mlađa stabla čempresa u vrtu Franjevačkog samostana u Hvaru nisu vegetativni potomci starog stabla, već su vjerojatno njegovi generativni potomci. Stari hvarske čempresi moguće je autovegetativno razmnožiti putem ožiljenica zelenih reznica uz primjenu IBA u koncentraciji od 4000 ppm, unatoč njegovoj procijenjenoj dobi od 300-350 god. Istraživani genotipovi koji pripadaju var. *sempervirens* iskažali su bolji potencijal vegetativnog razmnožavanja od onih koji pripadaju var. *horizontalis*.

Ključne riječi: *Cupressus sempervirens*, genetska analiza, RAPD.

1. UVOD – Introduction

Kada bi čovjek opisivao ljepotu i znamenitosti otoka Hvara, mogao bi nabrazati mnoštvo povijesnih i kulturnih spomenika, no samozatajno i pomalo povučeno, u tišini i duhovnom utočištu, u vrtu Franjevačkog samostana u gradu Hvaru raste jedan čempres s neobičnim izgledom grana. O fenomenu tog čempresa specifičnog fenotipa, procijenjene starosti od oko 300 do 350 godina, raspravljali su mnogi, od posjetitelja do znanstvenika. Visok je sedam metara, a grane su mu duge do osam metara i u presjeku imaju eliptičan oblik, a ne cilindričan koji je svojstven svim horizontalnim tipovima čempresa (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* (Mill.) Gord.). Zbog toga je vjerojatno jedan od najinteresantnijih čempresa na svijetu (Jurčić 1998).

Pradomovina čempresa (*Cupressus sempervirens* L.) je Perzija, Mala Azija i istočno Sredozemlje, na našem dijelu eumediterrana se udomaćio, o čemu je najbolje svjedočanstvo njegova prirodna regeneracija na mnogim lokalitetima priobalnog i otočnog dijela srednje i južne Dalmacije. Ne tvori kompaktne sastojine, već raste u većim ili manjim grupama te pojedinačno uprskan u postojeću autoktonu vegetaciju (Vidaković 1993). Svojim karakterističnim habitusom estetski obogaćuje, oživljava i osvježuje jadranski krajolik, dajući mu jedan topli mediteranski ugođaj.

Stari hvarske čempresi, zbog svog neobičnog morfološkog izgleda grana, potaknuto je ideju da se istraži eventualna posebnost njegova genotipa, te da se eventualno utvrdi da li je nastao kao rezultat modifikacija ili mutacija. Utjecaj okolinskih čimbenika, ponajprije dostupnosti vode, kod čempresa može dovesti do fenotipskih promjena (Schiller 1993). Čempres je posađen u zapadnom dijelu terase dvorišta Franjevačkog samostana u gradu Hvaru. Procjenjuje se da je star 300 - 350

* S. Cvjetan, diplomant Agronomskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu

** Doc. dr. sc. D. Kajba, Šumarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu

*** Doc. dr. sc. N. Pavičić i doc. dr. sc. I. Pejić, Agronomski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu

godina. Poznat je kao "Roselijev čempres", jer ga je prema predaji posadio talijanski slikar Matteo Roselli (1578-1650) koji je navodno zbog slaba zdravlja boravio u franjevačkom samostanu u Hvaru, međutim o tome nema nikakvih pisanih dokaza. Čempres je vjerojatno saden kada je u XVII. st. uređivana najgornja terasa. Zavod za zaštitu prirode dana 21. rujna 1961. godine donio je Rješenje kojim se ovo stablo proglašava zaštićenom prirodnom rijetkošću. Upisan je u registar Ministarstva zaštite okoliša i prostornog uređenja kao sponmenik prirode.

Uz stari čempres u istom dvorištu nalaze se dva čempresa koji su po predaji sjemenjaci starog čempresa. Posadio ih je 1963. godine pok. fra Venko Gugić rodom iz Blata na Korčuli, za vrijeme svog desetogodi-

šnjeg službovanja u Hvarskom samostanu (Vinko Caračić - usmena predaja). Da bi se ova informacija provjerila, kao i utvrdilo eventualno klonsko porijeklo od starog čempresa, u istraživanje su uključena i ova stabla.

Također, potpuno je neistražena genetska varijabilnost čempresa koji rastu na otoku, ali i šire. Primjenom molekularnih markera željeli smo utvrditi stupanj genetske srodnosti genotipa atipičnog starog hvarskega čempresa s jedinkama rasprostranjenim u okolici i u priobalju. Genetska analiza čempresa pomoću izoenzimskih markera potvrdila je njihovu korisnost (Raddi i sur., 1990, Papageorgiou i sur. 1993), dok o primjeni DNA (RAPD) markera kod čempresa nismo našli literaturnih podataka.

2. MATERIJAL I METODE RADA – Material and working methods

Za potrebe genetske analize izvršeno je kloniranje (autovegetativno razmnožavanje) devet jedinki čempresa porijeklom sa tri lokaliteta (Tab. 1). Razmnožavanje je provedeno pomoću zelenih reznica ubranih 6. 4. 1997. na lokaciji Hvar i 4. 5. 1997. na lokaciji Diklo

kod Zadra. Pikiranje reznica provedeno je u plasteniku Zavoda za šumarsku genetiku i dendrologiju, Šumarskog fakulteta u Zagrebu tijekom 7. 4. 1997. (lokalitet Hvar) i 6. 5. 1997. (lokalitet Diklo).

Tablica 1. Klonovi uključeni u genetske analize
Table 1. Clones included in the genetic analysis

Lab. kod Lab. code	Genotip Genotype	Starost Age (god/yrs)	Oznaka klona Clone sign	Porijeklo Origin
CS-1	<i>C. sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	30	-	Vrsnik, otok Hvar
CS-5	<i>C. sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	300	V-599	Franjevački samostan u Hvaru
CS-6	<i>C. sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	25	V-597	Franjevački samostan u Hvaru
CS-7	<i>C. sempervirens</i> var. <i>sempervirens</i>	25	V-598	Franjevački samostan u Hvaru
CS-9	<i>C. sempervirens</i> var. <i>sempervirens</i>	20-30	V-601	Diklo kod Zadra
CS-10	<i>C. sempervirens</i> var. <i>sempervirens</i>	20-30	V-605	Diklo kod Zadra
CS-11	<i>C. sempervirens</i> var. <i>sempervirens</i>	20-30	V-603	Diklo kod Zadra
CS-13	<i>C. sempervirens</i> var. <i>sempervirens</i>	20-30	-	Diklo kod Zadra
CS-15	<i>C. sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	30	-	Pitve, otok Hvar
CS-16	<i>C. sempervirens</i> var. <i>horizontalis</i>	20-30	V-602	Diklo kod Zadra

Reznice su tretirane alkoholnom otopinom IBA (b-indol maslačna kiselina) u koncentraciji 4000 ppm. Zakorijenjene reznice su tijekom proljeća 1998. godine presadene u kontejnere.

Za ekstrakciju DNA korišteno je biljno tkivo s mlađih i adultnih stabala. Tkiva sa odraslih stabala uzeta su 11. 11. 1999. i potom čuvana u hladnjaku na -20 °C. Svježe tkivo sa sadnica uzimano je na sam dan ekstrak-

cije (25. 11. 1999.). Izolacija i pročišćavanje genomske DNA obavljeno je iz svježeg tkiva listova uzorka čempresa prema CTAB metodi (Doyle i Doyle 1990). RAPD - PCR reakcije odvijale su se u volumenu 25 µl koji je sadržavao: 20 ng genomske DNA; 1 U Taq polimeraze "Sigma" i 2,5 µl PCR 10x pufera iz kompleta s enzymom; 2,5 µl dNTP (2,5 mM od svakog nukleotida); 7,5 pmola primera i 3,0 µl MgCl₂ (konz. 25mM). Za generiranje DNA polimorfizma korišteno je 16 oligonukleotidnih primera (Operon, Almeda, CA) A-01, A-02, A-03, A-04, A-05, A-06, A-07, A-08, C-01, C-02, C-03, C-05, C-06, C-07, C-08, C-09.

PCR reakcije odvijale su se u aparatu MJ Research PTC-100 u sljedećem temperaturom profilu: 5 min 95 °C; zatim 45 ciklusa (30 sec. 94 °C, 30 sec. 36 °C, 60 sec. 72 °C) i završno 72 °C sedam minuta.

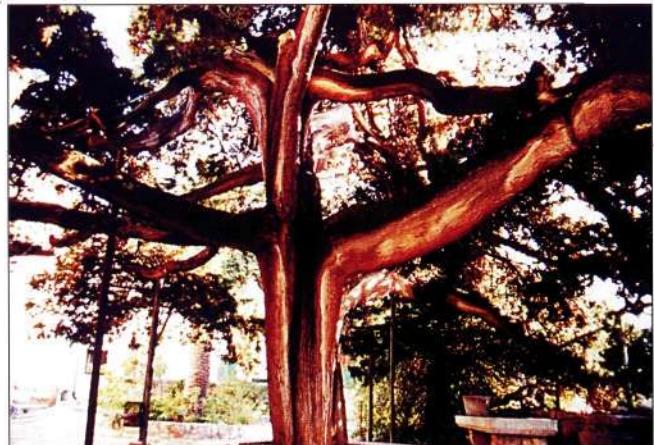
Produkti reakcije separirani su u horizontalnoj elektroforezi s 1,3 % agaroznim gelom i detektirani bojenjem s etidium bromidom i UV svjetлом. Fotografirana

nje je obavljeno Polaroid filmom Tip 677. RAPD markeri se vide kao više crtica unutar jedne uzdužne pruge. Pojava i relativni položaj tih crtica predstavljaju genotipsku specifičnost marker-alel. Na fotografiji gela očitavano je prisutnost (1) i odsutnost (0) fragmenata za polimorfne bandove. Očitavani su samo dobro vidljivi i jasni bandovi, kako bi preciznost analize bila što veća. Iz ukupno izdvojena 23 polimorfna lokusa izračunat je indeks sličnosti, "Simple Matching" koeficijent (Rohlf 1990), za sve moguće parove analiziranih genotipova čempresa: $SM_{(ij)} = m_{(ij)} / n_{(ij)}$ gdje je $SM_{(ij)}$ mjeri genetske sličnosti između genotipa *i* i genotipa *j*, $m_{(ij)}$ je broj poklapanja istovjetnog stanja na datom lokusu (1-1 or 0-0) između genotipova *i* i *j*, a $n_{(ij)}$ je ukupni broj mogućih usporedbi između genotipova *i* i *j*.

Iz izračunatih vrijednosti genetske sličnosti provedena je hijerarhijska grozdasta analiza (Hierarchical cluster analysis) prema UPGMA algoritmu uz pomoć NTSYS-pc paketa (Rohlf 1990).

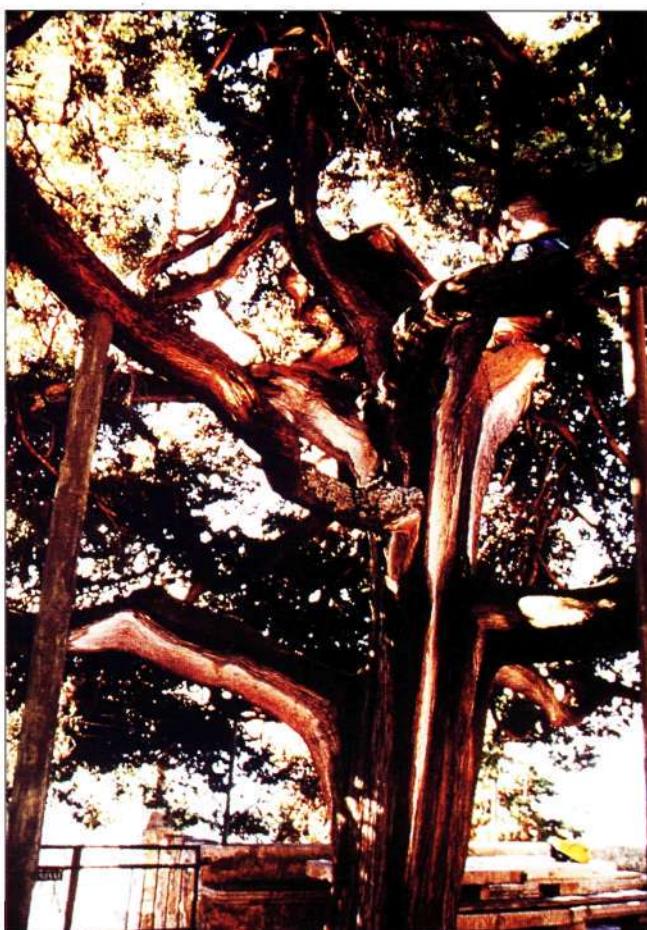
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA – Results of investigations and discussion

Staro stablo hvarskog čempresa visoko je sedam metara i zbog nepostojanja vertikalnog vrha, račva se u dvije strane te mu je habitus poprimio izrazito kišobranast izgled (Sl. 1). Ne zna se točno da li je vrh slomljen



Slika 1. Habitus starog hvarskog čempresa
Figure 1. Habitus of the old cypress of Hvar

vjetrom ili čempresi zbog starosti i u određenoj dobi gube vrh. Obujam pri dну debla je 200 cm, do visine od 1,5 m obujam doseže 220 cm. Prvo razgranjenje je na visini od 2,5 m. Grane odstupaju široko od debla i na presjeku su eliptične. Na toj razini grane su duge 7-8 m, i imaju obujam 120 cm. Obujam na vrhu grane se smanjuje na 60 cm. Grane su raspucate, srčika je propala tako da je ostalo svega 10-15 cm živog tkiva. Vršne grane nisu tako izdužene u prostoru, već pri vrhu imaju zavojit oblik, zadržavajući karakterističan plosnat iz-



Slika 2. Izgled vršnih grana starog hvarskog čempresa
Figure 2. Appearance of the old Hvar cypress top branches

boje. Važno je primijetiti da na grani prve razine, koja se pruža smjerom jug-sjever, pri završetku izbija grana izrazitog vertikalnog rasta, pa se dobiva dojam da na tom gorostasu raste još jedan mali čempres horizontalnog oblika.

Izbojci na granama su usmjereni na sve strane, oko 1 mm debeli, okrugli ili četeverobridni, lišće je ljuskasto, unakrsno nasuprotno poredano, sitno jajoliko, tupo, tamnozeleno. Češeri su sjajni, smeđi do sivi, okruglasti do eliptični, na 2-3 cm dugi, sastoje se od 8-14 ljušaka, obilnog uroda. Hvarske čempresi cvate redovito kao i drugi u rano proljeće i obilno rodi. Istraživanjem nasljeđivanja dviju glavnih karakteristika čempresa, var. *sempervirens* i var. *horizontalis*, utvrđeno je da su oni uvjetovani sa četiri alelomorfne forme jednog gena (Panetsos 1967).

Rezultati autovegetativnog razmnožavanja istraživanih genotipova čempresa, navedenih u Tablici 1., dali su vrlo dobar uspjeh zakorjenjivanja, kako kod mlađih tako i kod starog stabla čempresa. Uspješno je presaćeno od 8,3 do 53,3 % zakorijenjenih reznica čempresa tretiranih sa IBA, a također i kod netretirane kontrole dobiveni su rezultati od 2,0 do 60,0 %, zavisno od klo-

na. Samo genotip V 600 nije iskazivao potencijal zakorjenjivanja reznica.

Uz primjenu hormona (IBA), iznenađujući je najbolji rezultat postigao genotip V 599 (Stari hvarske čempres). On je imao čak 53,3 % uspješno presaćenih sadnica. S obzirom na dob ovog genotipa, te da nije primjenjena metoda rejuvenizacije, rezultati zakorjenjivanja starog hvarske čempresa vrlo su značajni za eventualno masovnije vegetativno razmnožavanje. Istraživanja uspješnih metoda zakorjenjivanja različitih formi čempresa, nakon provedenog cijepljenja (heterovegetativnog razmnožavanja) proveo je Franclet (1969).

Na temelju zbirnih podataka za istraživane genotipove dobiveno je da var. *sempervirens* pokazuje tendenciju boljeg zakorjenjivanja od var. *horizontalis*, bez obzira na porijeklo selekcioniranih stabala.

Za izračunavanje SM indeksa i provedbu "grozdašte" (cluster) analize izvršeno je očitavanje lokusa elektroforegrama. RAPD markeri su tzv. dominantni markeri, gdje se bilježi prisutnost fragmenata određene molekulske mase (alel=1), odnosno njegova odsutnost na očekivanom mjestu (alel=0). Iz ovih binarnih podataka izračunate su vrijednosti indeksa sličnosti (Tab. 2).

Tablica 2. Indeksi genetske sličnosti (SM) između analiziranih genotipova čempresa, izračunati iz RAPD podataka.

Table 2. Genetic similarity indices (SM) among all analyzed cypress genotypes computed from RAPD data.

Uzorak	CS-1	CS-5	CS-6	CS-7	CS-9	CS-10	CS-11	CS-13	CS-15
CS-1	1,00								
CS-5	0,26	1,00							
CS-6	0,31	0,57	1,00						
CS-7	0,41	0,41	0,75	1,00					
CS-9	0,65	0,15	0,37	0,66	1,00				
CS-10	0,73	0,34	0,15	0,41	0,75	1,00			
CS-11	0,73	0,34	0,36	0,58	0,60	0,65	1,00		
CS-13	0,43	0,39	0,47	0,66	0,70	0,60	0,26	1,00	
CS-15	0,91	0,34	0,36	0,33	0,55	0,65	0,73	0,35	1,00
CS-16	0,38	0,47	0,70	0,66	0,55	0,42	0,33	0,66	0,38
SM-avg*	0,53	0,36	0,44	0,54	0,55	0,52	0,50	0,50	0,51

* prosjek SM vrijednosti jednog genotipa sa svim drugim analiziranim genotipovima

* average SM values for one genotype with all other analyzed genotypes

Vrijednosti SM indeksa, tj. relativne sličnosti svih mogućih parova genotipova (njih 45) variraju od 0,91 u slučaju para CS-1 i CS-15, što predstavlja visoku sličnost, do 0,15 kod para CS-5 i CS-9, što predstavlja značajnu različitost genoma. Iz prosječne vrijednosti SM indeksa jednog genotipa sa svima drugima vidi se da je genotip CS-5 (stari hvarske čempres) relativno male genetske sličnosti s većinom drugih genotipova.

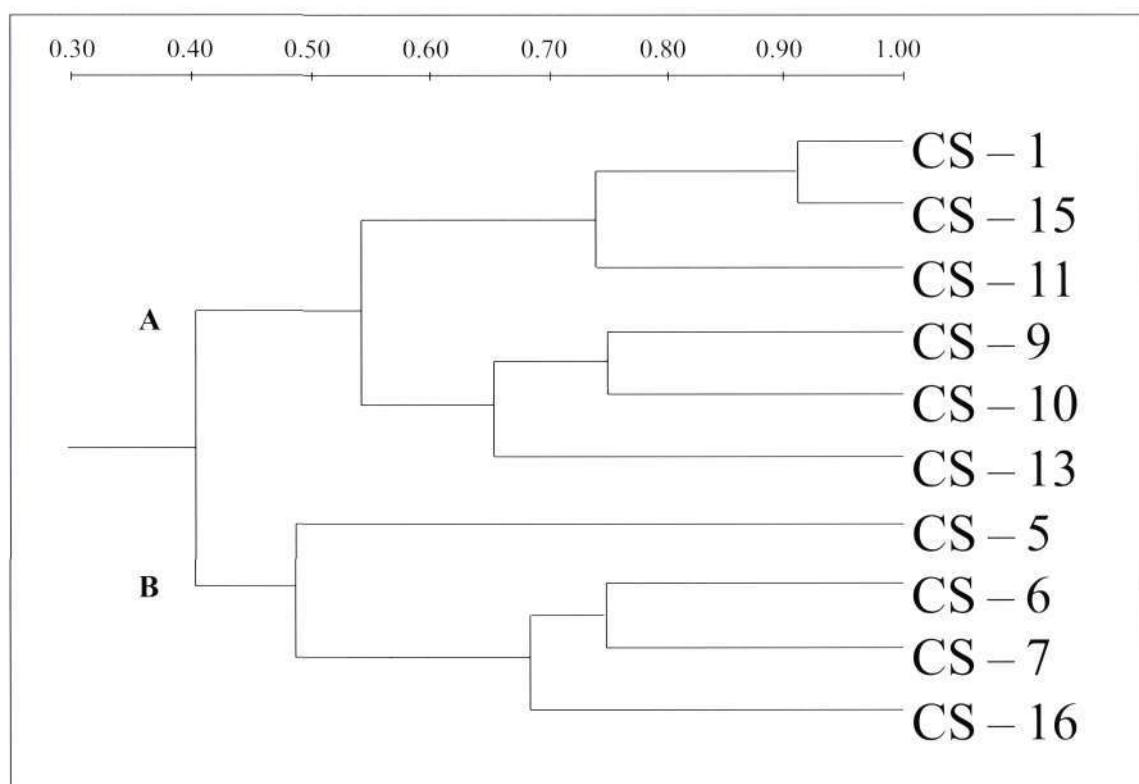
Glede činjenice da se stari hvarske čempres fenotipski razlikuje u otklonu i obliku grana od ostalih genotipova var. *horizontalis* uključenih u istraživanje, manja srodnost CS-5 sa CS-1, CS-15 i CS-16 sugerira da ta različitost nije posljedica okolinskih uvjeta.

Manja srodnost s genotipovima CS-9, CS-10, CS-11 i CS-13 je očekivana, jer su ova tri genotipa prostorno vrlo udaljeni od CS-5 i pripadaju var. *sempervirens*.

Genotip CS-5 pokazuje najveću srodnost s genotipom CS-6 ($SM = 0,57$) koji je jedan od njegovih mogućih generativnih potomaka horizontalnog izgleda (Vinko Čarić - usmena predaja). Drugi prepostavljeni potomak (CS-7) je nešto manje srođan ($SM = 0,41$). No, ta dva genotipa, uz izuzetak CS-16, ipak su u najvećem srodstvu sa CS-5 u odnosu na sve druge uzorke. Iz toga slijedi da su ova dva genotipa vjerojatno generativni potomci genotipa CS-5. Ostaje nejasna "bliskost" CS-16 koji po svom porijeklu i fenotipu znatno odudara od starog hvarskog čempresa. Istraživanja na drugim vrstama pokazuju da je broj potrebnih polimorfnih RAPD lokusa (fragmenata) za pouzdanu procjenu genetske sličnosti znatno veći od broja u ovome radu (Pejić i sur. 1998) pa ovo odstupanje može biti posljedica nedovoljnog uzorka genoma, ali i posljedica eksperimentalne pogreške druge vrste. Uz pretpostavku da je čempres kao vrsta vrlo heterozigotan, generativni potomci mogu

biti genetski vrlo udaljeni od majčinskog genotipa. Slično je slučaj kod vinove loze (Maletić i sur. 1999) ili npr. hrasta (Streff i sur. 1998).

U usporedbi sa svim ispitivanim genotipovima, genotip CS-5 ima relativno mali SM indeks, što dodatno upućuje na njegovu moguću posebnost u odnosu na druge istraživane genotipove. Veličina genetske različitosti naspram drugih genotipova, kao i njegov položaj u dendrogramu upućuju na mogućnost da je on introduciran iz nekog udaljenog geografskog područja. Uz iznimku CS-16, dendrogram potvrđuje naprijed navedene konstatacije (Sl. 3). Genotipovi CS-1 i CS-15 čine jednu skupinu (cluster) sa visokom genetskom sličnošću ($SM=0,91$). Jedan tip je iz Pitava, a drugi iz Vrsnika na otoku Hvaru. Ta dva mjesta su udaljena svega 3 km pa je ova sličnost logična. Većina genotipova var. *sempervirens* su međusobno grupirani s vrijednošću SM indeksa koji se u najvećem broju slučajeva kreće od 0,58-0,75.



Slika 3. Relativna sličnost deset genotipova čempresa (*Cupressus sempervirens* L.) na temelju 23 RAPD lokusa.
Figure 3. Relative similarity among ten cypress genotypes (*Cupressus sempervirens* L.) based on 23 RAPD loci.

Ako se dendrogram podijeli u dvije velike skupine (A i B), svi genotipovi iz franjevačkog samostana Hvar čine jednu skupinu (B), uz ranije spomenutu iznimku genotipa CS-16. Skupinu A čine svi ostali uzoreci koji su prostorno udaljeni od 20 do 250 km od franjevačkog samostana Hvar. Prema tomu, prostorna udaljenost nije bila odlučujuća za značajnu genetsku udaljenost starog čempresa i njegovih potomaka. Iz ovog slijedi da je genotip starog čempresa bitno različit u odnosu na druge

analizirane uzorke, što upućuje na mogućnost njegove introdukcije iz geografski udaljenog područja. Uz pretpostavku da ga je prema legendi posadio talijanski slikar Matteo Rosseli (Jurčić 1998) nije isključeno da ga je on donio iz neke druge zemlje. Inače, Hvar je u vrijeme prije više od 300 godina bio vrlo prometno mjesto, a i sami Franjevci oduvijek su putovali i imali razvijen osjećaj za vrtnu umjetnost. Stoga je mogućnost introdukcije vrlo vjerojatna.

4. ZAKLJUČCI - Conclusions

1. Rezultati RAPD analize sugeriraju da je stari čempres, u vrtu Franjevačkog samostana u Hvaru, introducirani genotip iz nekog drugog zemljopisnog područja. Sigurnija potvrda bila bi moguća uz analizu većeg broja genotipova s otoka Hvara i kod barem 100 RAPD lokusa;
2. Dva mlađa stabla čempresa u vrtu Franjevačkog samostana u Hvaru nisu vegetativni potomci starog stabla, već su vjerojatno njegovi generativni potomci;
3. Stari hvarske čempres moguće je autovegetativno razmnožiti putem ožiljenica od zelenih reznica uz primjenu IBA u koncentraciji od 4000 ppm, unatoč njegovoj procijenjenoj dobi od 300-350 god.;
4. Istraživani genotipovi koji pripadaju var. *sempervirens* iskazali su bolji potencijal vegetativnog razmnožavanja od onih koji pripadaju var. *horizontalis*.

5. LITERATURA – References

- Doyle, J. i Doyle, J., 1990: Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12:13-15.
- Francllet, A., 1969: Mass production of selected forms of Cypress. 2nd FAO/IUFRO World Consult. For. Tree Breed., Washington, str. 10.
- Jurčić, I., 1998: Pogled u razvoj Hvarskih vrtova: Povijesni vrtovi, perivoji i parkovi primorske Hrvatske - simpozij (ur. D. Grgurević), str. 90-91. Sveučilišna knjižnica u Splitu.
- Maletić, E., Sefc, K. M., Steinkellner, H., Karoglan Kontić, J., Pejić, I., 1999: Genetic characterization of Croatian grapevine cultivars and detection of synonymous cultivars in neighboring regions. Vitis 38:79-83.
- Panetsos, C. P., 1967: Inherited differences between populations and individuals of *Cupressus sempervirens*. For. Res. Institute, Athens, No. 17, p. 19.
- Papageorgiou, A. C., Bergmann, F., Gillet, E., Hattemer, H. H., 1993: Genetic analysis of isoenzyme variation in Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.). Silvae Genetica 42 (2-3): 109-111.
- Pejić, I., Ajmone - Marsan, P., Morgante, M., Kozumplik, V., Castilioni, P., Tarami-
- no, G., Motto, M., 1998: Comparative analysis of genetic similarity among inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs and AFLPs. Theor. Appl. Genet. 97: 1248-1255.
- Raddi, S., Di Leonardo, V., Sufra, M., 1990: The use of biochemical markers to distinguish cypress clones. Progress in EEC Research on Cypress Diseases. Commission of the European Communities, Report EUR 12493:43-49.
- Rholf, F. J., 1990: NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.60, New York Exeter Publishing Ltd.
- Schiller, G. 1993: Foliage resin composition of *Cupressus sempervirens* L. as affected by environmental factors. Silvae Genetica 42 (6): 297-301.
- Streiff, R., Labbe, T., Bacilirei, R., Steinkellner, Glössl, J., Kremer, A., 1998: Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. Molecular Ecology: 317-328.
- Vidaković, M., 1993: Četinjače, morfologija i variabilnost. Grafički zavod Hrvatske i Hrvatske šume, str. 194-196.

SUMMARY: The old cypress of Hvar (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* (Mill.) Gord., is about 300-350 years old, with a characteristical phenotype and an unusual morphological branch appearance, that incited the research of its genotype. The results of RAPD analysys suggest that the old cypress, in the garden of Franciscan monastery, is an introduced genotype from another geographical region. A more reliable confirmation would be possible by the analysis of a larger number of genotypes from the island of Hvar and with at least 100 RAPD loci. Two younger cypress trees in the garden of Franciscan monastery in Hvar are not vegetative progeny of the old tree, but more likely its generative progeny. The old cypress of Hvar can be propagated autovegetatively by means of rootings of summer cuttings using IBA in concentration of 4000 ppm, in spite of its age estimated to 300-350 years. The researched genotypes belonging to the var. *sempervirens* showed a better potential for vegetative propagation than those belonging to the var. *horizontalis*.

Key words: *Cupressus sempervirens*, genetic analysis, RAPD.