

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA PRAHA**

**FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ**

**Katedra dendrologie a šlechtění dřevin**



**VYUŽITÍ IN VITRO METOD PRO ZVÝŠENÍ ZASTOUPENÍ  
PLANÝCH OVOCNÝCH DŘEVIN V LESNÍCH POROSTECH**

**Bakalářská práce**

Lucie Byloková

**Obor: DHSSL**

**Vedoucí práce: Ing. Jan Vítámvás, Ph.D.**

**Strakonice 2012**

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**

Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin

Fakulta lesnická a dřevařská

# **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Byloková Lucie

Hospodářská a správní služba v lesním hospodářství

Název práce

**Využití in vitro metod pro zvýšení zastoupení planých ovocných dřevin v lesních porostech**

Anglický název

**In vitro method for proportion of wild fruit trees species.**

---

## **Cíle práce**

Zpracovat literární rešerše rodů zahrnujících plané ovocné dřeviny vhodné pro vnášení do lesních porostů a vypracovat a navrhnout metodiky jejich množení pomocí in vitro metod.

## **Metodika**

1. Literární rešerše rodů zahrnujících plané ovocné dřeviny vhodné pro vnášení do lesních porostů, zohlednit i jejich stanovištní, klimatické a vegetační nároky.
2. Rozbor literatury s ohledem na možnosti rozmnožení planých ovocných dřevin in vitro metodami
3. Navržení vhodné metodiky pro rozmnožení popsaných planých ovocných dřevin.
4. Na základě navržené metodiky vytvořit a zhodnotit ekonomickou kalkulaci pěstování dřevin in vitro.

## **Harmonogram zpracování**

1. Vyhledání a zpracování literárních zdrojů k problematice popisu druhů
  2. Vyhledání a zpracování literárních zdrojů k problematice množení druhů
  3. Navržení metodiky rozmnožování druhů
-

## Rozsah textové části

30 - 40 stran

## Klíčová slova

Mikropropagace, biodiverzita, Malus, Pyrus, Prunus, Sorbus

## Doporučené zdroje informací

Jain S. M., Ishii K., 2003. Micropropagation of woody trees and fruits. Springer. 840 pp.

Palombi, M., Lombardo, B., Caboni, E., 2007. In vitro regeneration of wild pear (*Pyrus pyraeaster* Burgsd) clones tolerant to Fe-chlorosis and somaclonal variation analysis by RAPD markers. *Plant Cell Reports* 24(4): 489-496.

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* 50(4): 216-221.

## Vedoucí práce

Vítámvás Jan, Ing., Ph.D.

## Termín odevzdání

duben 2012

prof. Ing. Jaroslav Kobliha, CSc.

Vedoucí katedry



prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan fakulty

V Praze dne 12.4.2012

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: „Využití in vitro metod pro zvýšení zastoupení planých ovocných dřevin v lesních porostech“ zpracovala samostatně podle pokynů vedoucího práce z dostupných zdrojů a s použitím uvedené literatury.

Ve Strakonících 29.4.2012

.....

Lucie Byloková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Děkuji svému vedoucímu práce Ing. Janu Vítámvás, Ph.D. a Ing. Vladimíru Janečkovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při zpracovávání mé práce. Dále děkuji Gabriele Skalákové, DiS. vedoucí laboratoře Školky Forest Olešná za umožnění provedení pokusu a za účinnou praktickou pomoc a pracovníkům ÚHÚL pobočka České Budějovice za konzultace při zpracovávání dat ze systému ERMA.

## ABSTRAKT

Bakalářská práce má poskytnout rámcový přehled o využití planých ovocných dřevin v lesním hospodářství včetně přehledu zdrojů pro sběr semenného materiálu. Dosavadní poznatky o množení těchto dřevin metodou *in vitro* uvedené v odborné literatuře. Obsahuje zdokumentování (metodiky) průběhu a postupu vlastního praktického pokusu množení dřeviny metodou *in vitro*. Cílem práce je na vlastním pokusu popsat metodiku postupu množení dřevin *in vitro* a propočtem nákladů zjistit jsou-li takto vypěstované sazenice schopné cenově konkurovat sazenicím vypěstovaným běžným způsobem.

Klíčová slova: *in vitro*, dřeviny, sazenice,

This thesis shows a general overview of the uncultivated fruit tree species and their usage in forestry including the summary of sources of gathering the seeds. Up to now findings about this fruit tree species propagating *in vitro* method stated in specialized literature. My work contains the methodology of progress and procedure in my own practical experiment of fruit tree species propagating *in vitro* method. The aim of my work is the methodology description of the procedure in fruit tree species propagating *in vitro* coming out of my own practical experiment and findings of the calculation of costs if cultivated seedlings in this way are able to compete the price of the ordinarily planted seedlings.

Key words: *in vitro*, tree species, seedlings

## Obsah

1	ÚVOD.....	1
2	LITERÁRNÍ REŠERŠE .....	3
2.1	Literární rešerše.....	3
2.1.1	Základní pojmy .....	3
2.1.2	Metoda <i>in vitro</i> .....	4
2.1.3	Ovocné plané dřeviny – <i>Malus, Pyrus, Prunus</i> .....	8
2.1.4	Ostatní významné ovocné dřeviny lesních porostů .....	11
2.1.5	Hospodářské využití dřevin .....	12
2.2	Výskyt divokých ovocných dřevin na našem území historie a současnost.....	13
2.3	Výskyt jednotlivých dřevin v lesních porostech .....	15
2.4	Zdroje uznané pro sběr reprodukčního materiálu .....	16
3	METODIKA PRÁCE .....	19
4	Metodika množení <i>in vitro</i> .....	20
4.1	<i>Malus sylvestris</i> – postup množení <i>in vitro</i> .....	20
4.2	<i>Malus sylvestris</i> - fáze převodu.....	27
4.3	Shrnutí provedeného pokusu.....	29
5	EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ .....	30
6	ZÁVĚR .....	32
7	POUŽITÁ LITERATURA .....	33
8	POUŽITÉ WEBOVÉ ADRESY.....	35

# 1 ÚVOD

Má práce je zaměřena na pěstování sadebního materiálu lesnicky využitelných ovocných dřevin metodou *in vitro*.

Toto téma bylo zvoleno vzhledem k současnému stále se snižujícímu zastoupení a využití takzvaných divokých ovocných dřevin v lesním hospodářství a jejich poměrně obtížnému množení.

Metoda *in vitro* je patrně jednou z mála cest jak dřeviny, které jsou mnohdy zařazeny do „Černého a červeného seznamu cévnatých rostlin České republiky“, vrátit do našich lesů i přesto, že se nejedná o dřeviny s vyloženě dřevoprodukční funkcí.

V případě ovocných dřevin, při použití v lesnictví, mají význam jejich ostatní funkce. V první řadě se jedná o výrazný krajinný prvek, který podtrhává ráz krajiny v kulisách lesních porostů, obnovy a údržby zeleně, ale také praktického, neboť ovocné dřeviny mohou plnit meliorační a zpevňující funkci v porostu.

Ovocné dřeviny rostou většinou v rozptýlené zeleni, která plní několik základních funkcí. Udržuje v rovnováze ekologické vazby a vytváří přirozené podmínky pro tvorbu biotopů původním rostlinám a živočichům. Z hlediska meliorační funkce se velmi často ovocné stromy používají na osazování skládek a při výsadbě větrolamů. Vzhledem k nenáročným živným podmínkám je vhodná výsadba na málo plodné půdě. Neopomenutelná je i izolační funkce dřevin, kdy například ořešák se používá k optické bariéře.

Všechny ovocné dřeviny patří mezi medonosné rostliny poskytující včelám pyl, nektar a medovici. V neposlední řadě je nutné zdůraznit funkci dřevin i pro zvěř a ptactvo, pro které jsou vítaným zdrojem plodů a tím jim zpestřují potravu.

Bohužel tyto funkce jsou, z hlediska legislativy, v případě *Malus sylvestris* a *Pyrus pyraeaster*, opomíjeny. Na rozdíl od jeřábů a třešně ptačí, nebyly tyto dvě dřeviny zařazeny



ani jako přimíšené a vtroušené do rámcového vymezení CHS uvedeného v příloze č. 4 vyhl. 83/1996Sb. o zpracování oblastních plánů rozvoje lesů a vymezení hospodářských souborů.

Cílem práce bude nejen zdokumentování postupu množení a pěstování těchto dřevin metodou *in vitro* na příkladu *Malus sylvestris*, ale také porovnání výsledné prodejní ceny sazenic vypěstovaných metodou *in vitro* a generativně vypěstovaného sadebního materiálu. V tomto případě bude nutné zohlednit u generativního množení náklady na získávání semenného materiálu, jeho následnou stratifikaci, potažmo klíčivost a energii klíčení a zohlednit tak časovou náročnost jednotlivých metod.

## 2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

Legislativně je problematika řešena například v zákonech: „Lesní zákon“ 289/1995Sb. a související prováděcí předpisy a vyhlášky, zákon 326/2004Sb. o rostlinolékařské péči, zákon 387/2005 Sb. o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů..., a zákon 114/1992Sb. o ochraně přírody a krajiny.

Bylo použito také internetových zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu literatury a jiných zdrojů.

### 2.1 Literární rešerše

#### 2.1.1 Základní pojmy

Agar - přírodní polysacharid s vysokou gelující schopností, který se získává z červených řas a slouží pouze k převodu živného média do pevné podoby (Linhart, a kol. 2007).

Autokláv - přístroj používaný ke sterilizaci, pracující na bázi vysoké teploty a tlaku, kdy základními faktory sterilizace jsou teplota a časový úsek po který sterilizace probíhá (Linhart, a kol. 2007).

Červený seznam – stanovuje stupeň ohrožení jednotlivých druhů rostlin a živočichů na základě současných vědeckých poznatků (Procházka, a kol., 2001)

Dřevina – cévnatá vytrvalá rostlina se schopností druhotného tloustnutí dřevnatého stonku. Díky vrstvě dělivých buněk (kambiu) se můžou směrem dovnitř od této vrstvy tvořit buňky dřeva a vnějším směrem buňky lýka. Tím je umožněno druhotné tloustnutí dřevin a tvorba dřevnatých nadzemních kmenů (URL 5).

Erlenmeyerova baňka - laboratorní nádoba kuželovitého tvaru s rozšířeným dnem a zúženým válcovitým hrdlem. Byla pojmenována po německém chemiku Emilu Erlenmeyerovi, který ji vytvořil v době svého působení na mnichovské Polytechnice (Linhart, a kol. 2007).

In vitro - termín z latiny, který se používá v biologii a dalších oborech. Doslovný překlad znamená „ve skle“. V praxi se jedná o vegetativní množení organismů v laboratorních nádobách ať již skleněných, nebo v současné době také plastových (Linhart, a kol. 2007).

In vivo - termín překládaný jak o „v živém“ používaný při pozorování organismů v přirozených podmínkách (Linhart, a kol. 2007).

Makroelementy – základní prvky jako například kyslík, vodík, uhlík a další jejich obsah ve výživě se pohybuje až v desítkách procent (Linhart, a kol. 2007).

Mikroelementy – prvky (například měď, mangan, železo a další), obsah ve výživě bývá v desetinách procenta, zajišťují růst, některé jsou pro život nepostradatelné, jiné působí pouze jako stimulanty (Linhart, a kol. 2007).

Mikropropagace – zahrnuje jednotlivé metody technik *in vitro*. Výsledkem jsou rostlinné explantáty, které vznikly při klonování rostlinného materiálu.

Multiplikační fáze - jedná se o etapu množení *in vitro*, kdy dochází ke zmnožovacímu procesu. Z původního preparátu vyrůstají nové výhonky (Linhart, a kol. 2007).

Laminární box (flowbox) - zařízení filtrující v laboratoři vzduch a tím vznikají sterilní podmínky při preparaci materiálu (Linhart, a kol. 2007).

Planě rostoucí dřevina – jedinec nebo kolonie rostlinných druhů, jejichž populace se udržuje v přírodě samovolně (Zákon č.114/ 1992 Sb.).

Rostlinné explantáty - izolované rostlinné buňky, pletiva a části rostlin pěstované na živných půdách, nebo médiích ve sterilním prostředí většinou v laboratorních podmínkách (Linhart, a kol., 2007).

## **2.1.2 Metoda *in vitro***

### **Metoda *in vitro* historie**

Jedná se techniku, kdy dochází ke kultivaci rostlinných buněk, pletiv a orgánů mimo mateřský organismus a k množení dochází v umělých podmínkách.

První pokus provedl profesor F. C. Steward z Cornellské univerzity již v roce 1971. Do nádoby s živným roztokem umístil shluk buněk mrkvového kořínku a tu následně vložil do zařízení, které se neustále otáčelo. Během již tří týdnů se mu počet buněk rozmnožilo

na osminásobek, následně se vytvořily i kořínky. Po vysazení se podařila vypěstovat celá mrkev. Tento pokus odstartoval biotechnologickou metodu „*in vitro*“ (URL 3).

### **Metoda *in vitro* současnost**

Od počátečního stádia vzniku prošla tato metoda velkým vývojem. V současné době lze hovořit o neodmyslitelné součásti volby vhodného způsobu vegetativního rozmnožování velkého počtu druhů rostlin a dřevin, významných nejen z hlediska zemědělského, ale i lesnického a zahradnického (URL 3).

Princip techniky je založen na výběru teoreticky libovolné části organismu, která je vložena do uzavřené a sterilní nádoby, tzv. Erlenmeyerovy baňky, obsahující uměle vytvořené živné médium - agar. Takto připravený preparát je uložen do kultivační místnosti, kde jsou uměle simulovány podmínky zabezpečující zdravý vývoj. Tento lze ovlivňovat vnějšími podmínkami v kultivační místnosti, teplotním a světelným rozpětím, živným médiem. Cílem celého principu techniky je vypěstování životaschopné rostliny, či dřeviny a za pomoci adaptabilního procesu přenést takto vypěstovaný preparát do přirozených podmínek.

Technika „*in vitro*“ vychází z poznatku, že každá buňka rostlinného organismu je schopna za určitých podmínek vytvořit nového jedince.

Velmi důležité je dodržovat hygienické zásady. Již vybraná část organismu, která je použita jako preparát musí projít sterilizací. Vhodně zvolené živné médium a podmínky v kultivační místnosti zabezpečí kladný výsledek množení (Kolektiv autorov, 2010).

### **Materiál pro množení**

Získávání vhodného materiálu pro množení ohrožených druhů zejména jabloně lesní a hrušně plané je velmi komplikováno rozptýleným výskytem jedinců a absencí semenných porostů.

Šindelář (2002) vidí jako další důvod nedostatečného zastoupení těchto dřevin v nedocenení jejich lesnického významu, který je patrný již v historickém vývoji. Lesní

hospodářství je zaměřeno spíše cestou rychle rostoucích dřevin v druhové skladbě porostů. K záchraně ohrožených druhů dřevin bylo přistoupeno až v devadesátých letech minulého století prováděním inventarizace a následné identifikace. Tímto došlo k podchycení kvalitních jedinců, ze kterých bylo možné po odebrání materiálu pro reprodukci, množit *in vitro*. Je ale velmi náročné vyhledat a určit tyto dřeviny jako plané, Tato forma je nezbytná pro určení kritérií jejich záchrany a vytvoření genových zdrojů. Problémem se jeví také sprašování s kulturními dřevinami, nebo naopak se může jednat o zplanělé kulturní dřeviny.

Materiál pro využití množení metodou *in vitro* u jabloní a hrušní je získán z dormantních pupenů ještě před narašením v průběhu měsíců února až dubna. Jedná se o jedince s charakteristickými morfologickými znaky. Pro založení *in vitro* populace je dodržován minimální počet 30 jedinců (Malá, a kol. 2005).

### **Výhody a nevýhody metody *in vitro***

Jako každá jiná metoda i *in vitro* má své výhody a nevýhody. Jde v podstatě o nový, moderní postup k získávání nových jedinců. S vývojem lidstva se bude jistě zdokonalovat i toto rozmnožování.

Výhodou metody mikropropagace je získávání zdrojového materiálu z dospělých, často již málo plodících stromů. Jsou to jedinci, kteří mohou přispět k zachování biodiverzity, a v případě planých ovocných dřevin k zachování druhu. Čehož příkladem je záchrana ohrožené populace jilmu habrolistého v přírodní lesní oblasti Polabí. Materiál lze namnožit rychle, efektivně, bez ohledu na roční období. Díky biotechnologiím byl vytvořen klonový archiv uložený v explantátové bance Výzkumného ústavu lesního hospodářství a myslivosti. Využitím tohoto postupu byly zařazeny do klonového archivu i další dřeviny - dub letní, jilm horský, třešeň ptačí, lípu srdčitou, jabloň lesní, hrušeň polní, jeřáb břek, jeřáb oskeruše, jeřáb ptačí, jeřáb sudetský, jeřáb krasový a jeřáb český (Malá, Šíma, 2000).

Další výhodou množení metodou *in vitro* je získávání poměrně velkého počtu jedinců z jednoho vzorku v krátkém čase bez poškození matečné rostliny. Tato technologie může

vést ke zvýšení zastoupení kvalitních dřevin v porostech a tím zároveň přispět k větší stabilitě daných porostů (Chalupa, 2001).

Často jsou vyjadřovány obavy z využití klonování, vegetativního množení a šlechtění vůbec, z důvodů snížení genetické variability. Jestliže je tato metoda využita v rámci šlechtitelského programu, je její využití v tomto směru bez větších rizik. Cílem programů je zajištění materiálu z co nejvyššího počtu kvalitních zdrojů. Podstatnou zásadou při určování zdrojů je také jeho rajonizace, která je založena na testování materiálu v různých podmínkách. Testování je prováděno s ohledem na případná budoucí rizika (Kobliha, 2000).

Jako největší nevýhodou metody *in vitro* z hlediska materiálního je finanční náročnost. Množení vegetativní bude vždy podstatně dražší, než množení generativní a tedy většinou použita pro množení okrasných dřevin a rostlin. V lesnictví se uplatňuje především u vzácných či jinak zajímavých genotypů (Pospíšil, Kobliha, 1988). Vedle finanční nevýhody lze ještě zahrnout pracnost se získáváním mikrořízků, zkušenost pracovníků a neopomenutelná energetická náročnost (URL 3).

Jako nevýhoda z hlediska praktického je v možnosti nebezpečí genetické degradace, protože se vyprodukují identické klony. Aby bylo toto nebezpečí potlačeno a zůstala zachována určitá genová variabilita, je třeba množit materiál s různými genetickými vlastnostmi. A následně vše pečlivě zaznamenávat a značit materiálu (URL 6).

### **Význam množení *in vitro***

Významem množení metodou *in vitro* je zlepšení dědičných vlastností DNA při zachování taxonomie. Jedná se o komplex metod, které svým zpracováním materiálu lze nazvat netradičními postupy. Kladem celého technologického úsilí je produkce rostlin ve velmi krátkém časovém období a na malém prostoru. Vychází z předpokladu, že explantáty byly odebrány z geneticky kvalitních jedinců, nebo bylo použito geneticky modifikovaných buněk. Pro listnaté dřeviny je nejvhodnější rozmnožování za použití orgánových kultur. Tyto kultury jsou geneticky stabilní a nedochází k chromozomovým

změnam. Koeficient zmnožení je velký a lze jej dosáhnout i odběrem vzorků i ze semenáčků. Naopak u rozmnožování konifer dochází k lepšímu výsledku rozmnožování *in vitro* za použití somatických embryí. Produkuje se velké množství identických rostlin v krátkém čase z malých explantátů. (Chalupa, 2000)

### 2.1.3 Ovocné plané dřeviny – *Malus*, *Pyrus*, *Prunus*

#### **Jabloň lesní – *Malus sylvestris***

Původní rozšíření jableoní je v mírném pásu evropského a asijského kontinentu.

Obecně lze jableoně považovat za patrně nejstarší člověkem cíleně pěstované ovocné dřeviny, zbytkové nálezy jsou dokládány již v době neolitické. První zmínky o šlechtění jableoní pocházejí pak z druhého tisíciletí před naším letopočtem. K většímu rozvoji šlechtění dochází v době starověkého Říma, Kato ve druhém století před naším letopočtem popsal zhruba třicet odrůd. O dvě stě let později bylo známo již sto osmdesát odrůd (URL 4).

Zpočátku dobře odrůstající dřevina v deseti letech dosahující výšky okolo třech metrů. V následujícím decenniu můžeme očekávat přírůst 1 – 1,5 metru. V pozdějších letech se růst zpomaluje a zpravidla končí ve čtyřicátém roce, kdy dosahuje průměrné výšky 6 – 8 metrů.

#### **Nároky:**

Jabloň je náročná na světlo, dobře snáší plné oslunění až po mírný polostín. Z tohoto důvodu je vhodné ji sázet do porostních okrajů nebo na místa v porostu osluněná. Jedná se většinou o louky uvnitř lesních komplexů, zvěřní políčka, prostory okolo lesních školek a semenných sadů jiných dřevin. Vyžaduje spíše hlubší živné půdy s vyšší propustností, dobře zásobené vodou. Trvalé zamokření jí neprospívá. Díky odolnosti proti vzdušným exhalacím jsou jableoně používány do alejových výsadeb okolo cest a v oblastech s vyšší prašností, v tomto případě se však nejedná o *Malus sylvestris*, ale o kulturní odrůdy z původní jableoně lesní vyšlechtěné. V lesním prostředí vysazujeme jableoně jako solitéry nebo do menších velmi rozvolněných skupin. Po výsadbě je nutná individuální ochrana,

neboť se jedná o dřevinu velmi atraktivní pro zvěř, která ji poškozuje okusem (Úradníček, Maděra, 2001).

### **Habitus:**

Stromy o výšce pět až sedm metrů, pouze ve výjimečných případech dorůstají až deset metrů. Koruna je poměrně široká, hustě olistěná, polokulovitá. Kmen je zpravidla nižší s šedohnědou borkou v pozdějším věku šupinatou. Zbarvení letorostů je hnědé na koncích plstnatě bílé s trny. Květy jsou světle růžové, uspořádané v malých chocholících. Kveté od dubna do června. Plodem jsou žluté trpké malvice, někdy s červenými skvrnami dozrávající koncem léta.

### **Užití:**

Jabloň lesní není využívána jako produkční dřevina i když je její tvrdé dřevo s hnědým až červenohnědým jádrem ceněno v nábytkářství a řezbářství. V lesních porostech plní funkci estetickou a v neposlední řadě poskytuje atraktivní potravu pro zvěř. Ve školkařství a ovocnářství byla používána jako podnože pro roubovance (Heike, 1978).

### **Hrušeň planá (polnička) – *Pyrus pyraster***

Dřevina původem z vyšších poloh Malé Asie odkud se rozšířila do Řecka, kde byly okolo roku 287 před naším letopočtem písemně zaznamenány první čtyři odrůdy. Z řecké oblasti se hrušeň dostala na území Apeninského poloostrova, kde bylo známo v druhém století před naším letopočtem. Ze stejného období byla nalezena semena *Pyrus pyraster* na území Švýcarska a Německa (Nečas, a kol. 2004).

Hrušeň, je poměrně pomalu rostoucí dřevina, ve čtyřiceti letech se její výška pohybuje mezi čtyřmi až devíti metry. U nejvyšších exemplářů byla naměřena výška 20 metrů.

### **Nároky:**

Je světломilnou dřevinou, i když dobře snáší i polostín. Pro růst jsou nejpříznivější hlubší živné půdy jílovitohlinitého nebo hlinitého typu. Hrušeň není náročná na půdní obsah vody, dobře se vyrovnává i s přísuškem. Na suchých stanovištích však roste hůře a někdy tvoří křovitou formu. Podobně jako jabloň se dobře vyrovnává se zakouřeným prostředím, kultivary se využívají k výsadbám na stanoviště ohrožená exhalacemi. Stromy



jsou poměrně otužilé vůči mrazům, pouze na vlhkých stanovištích za obzvláště vysokých mrazů může dojít k namrznání. Dřevina je poškozována okusem zvěří zvláště v mladém věku, než se vytvoří borka.

### **Habitus:**

Kmen je rovný s hladkou kůrou hnědého zbarvení v prvních čtyřech letech, poté začne kůra praskat a zbarvení se mění na hnědou až hnědošedou. Koruna je hustá většinou jehlanovitého tvaru. Silné základní větve přecházejí v poměrně tlusté letorosty mající trny. Hrušně jsou díky svému kořenovému systému se silným křovitým kořenem a bohatě větvenými postranními kořeny stabilními dřevinami, dobře odolávajícími i silným poryvům větru (Heike, 1978).

### **Květ:**

Květy jsou bílé pětičetné složené do chocholíku. Kvete od dubna do června.

### **Plod:**

Plody jsou malvice hruškovitého tvaru žlutozeleného až žlutého zbarvení někdy s červenými skvrnami, dozrávající v září. Plod *Pyrus pyraeaster* je kulovitý zelený. (Úradníček, Maděra, 2001)

### **Třešeň ptačí – *Prunus avium***

Dřevina, jejíž původ je uváděn z Malé Asie, v některých pramenech se však uvádí, že se jedná o původní dřevinu evropskou. Poměrně vysoký strom s nízkou nasazenou vejčitou korunou, dorůstající výšky mezi 20 až 25 metry, jen zřídka byly nalezeny exempláře vyšší. V prvních deseti letech dosahuje výšky tří až čtyř metrů, výškový přírůst vrcholí ve 40 roce života (Úradníček, Maděra, 2001).

### **Nároky:**

K růstu třešni vyhovují středně hluboké půdy, svěží s mírnou vlhkostí a dobře propustné. Dřevina poloslunná, proto je pro ni vhodné stanoviště spíše na okrajích porostů, i když na půdách dobře zásobených vodou uspokojivě odrůstá i uvnitř porostu. I třešeň je odolná vůči vzdušnému znečištění

**Habitus:**

Třešeň, je zařazena do typu „avium“ – na nižším kmenu je vejčitá koruna, jejíž spodní větve mnohdy vyrůstají vodorovně (Heike, 1978).

**2.1.4 Ostatní významné ovocné dřeviny lesních porostů****Jeřáb ptačí – *Sorbus aucuparia***

Původní evropská dřevina rozšířená prakticky na celém území Evropy. Menšího vzrůstu, se štíhlou řídkou korunou. Dosahuje výšky do 15 m, průměr kmene ve výčetní výšce se pohybuje do 50 cm. Poměrně dlouhověká dřevina dožívající se až 150 let. Jeřáb ptačí je světlomilnou dřevinou, která v mládí snáší zástin. Je ho možné považovat za pionýrskou dřevinu, snadno obsazuje zabuřené holiny v lese. Má velké ekologické rozpětí, pokud jde o potřebu vody. Roste na nejrůznějších druzích půd. Špatně snáší zasolení a trpí loupáním vysoké zvěře (Heike, 1978).

V lesnictví využíván jako přípravná dřevina do náhradních porostů v imisemi postižených horských oblastech. Plody, jeřabiny, jsou zdrojem potravy pro ptactvo a zvěř (Úradníček, Maděra, 2001).

**Jeřáb muk – *Sorbus aria***

Dřevina keřovitého i stromového habitu dosahující výšky až 14 m, s kmenem do 25 cm v průměru, dožívá se 100 let.

Roste v jižní a střední Evropě; na severu se vyskytuje nejdále v jižní Skandinávii. V České republice se mu daří především na vápencových půdách a zásaditých vyvěřelinách. Je to teplomilná a světlomilná dřevina odolná vůči suchu. Listy jsou střídavé, podlouhle eliptické a dvakrát pilovité, na lícni straně lesklé a zelené, na rubu šedobílé a plstnaté. Květy jsou bílé a vytvářejí laty podobné květenstvím jeřábu ptačího; květy měří asi 15 mm. Muk kvete v červnu (Heike, 1978). Kališní lístky přetrvávají i po odkvětu v době plodu. Plod je tmavočervená kulovitá malvice dlouhá asi 1,5 cm, dozrává v září. Malvice mají plstnaté stopky a bělavá plst bývá i okolo zbytků kališních lístků. Dobrá včelí pastva a bohatá potrava pro ptactvo (Úradníček, Maděra, 2001).

### **Jeřáb břek – *Sorbus torminalis***

Středně velký strom, s rovným kmenem a košatou korunou, dorůstající do výšky až 25 metrů, s průměrem kmenem až 1,3 metru. Dožívá se až 300 let. Jeho dřevo se používá na výrobu hudebních nástrojů, zejména fléten.

Malvice dozrávající na podzim jsou drobné, hnědé, světleji tečkované, požitelné, moučně sladké, chutí připomínají datle. Je stín snášející dřevina, roste na půdách v létě vysychajících, upřednostňuje živné horniny, jako například vápenec, čedič. Byl vždy vtroušenou dřevinou a dnes patří k ohroženým (Heike, 1978).

Je to perspektivní dřevina pro výsadby v biokoridorech, větrolamech a jiných ochranných výsadbách. Velmi se hodí do bažantnic a všude tam, kde je potřeba se postarat o potravu ptactva (Úradníček, Maděra, 2001).

### **Ořešák černý – *Juglans nigra***

Dřevina původem ze severoamerického kontinentu. Poměrně rychle odrůstá, v deseti letech se její výška pohybuje mezi pěti a šesti metry, ve čtyřicátém roce dosahuje až 25 metrů. U nejvyšších exemplářů byla naměřena výška 45 metrů (jen výjimečně i více). Habitus závisí na prostředí, ve kterém roste. V zápoji tvoří vysoký kmen s vejčitou korunou, kdežto jako solitér vytváří korunu rozložitou na nižším kmeni. U některých jedinců byl naměřen průměr kmenu ve výčetní výšce 200 cm (Heike, 1978). Ořešák je dřevinou, které vyhovují hlubší živnější svěží půdy, dokáže však uspokojivě odrůstat i na sušších šterkovitých stanovištích. Na sušších stanovištích se jeho přírůst zpomaluje. Ořešák je poměrně odolný vůči mrazům a znečištění. V lesnictví se u nás tato dřevina uplatňuje na Moravě, kde je vysazován na dubová stanoviště.

Plodit začíná v patnáctém roce, plodem jsou oříšky obalené zdužnatělou češulí s kamenným oplodím (Úradníček, Maděra, 2001).

#### **2.1.5 Hospodářské využití dřevin**

Některé z ovocných dřevin mohou mít i poměrně velký hospodářský význam. Lze to ukázat na příkladu ořešáku černého, který je pěstován na LHC Židlochovice. Na tomto LHC byly cíleně podporovány porosty ořešáku většinou na stanovištích lužního typu.

Dřevina zde dobře odrůstá a není kromě vytloukání jinak zvěří významně poškozována. U ořešáku byla zaznamenána příznivá produkce dřevní hmoty. V kvalitních porostech je udávána hektarová zásoba okolo 700 m<sup>3</sup>. Vzhledem k tomu, že se jedná o introdukovanou dřevinu, musí být jeho pěstování přizpůsobeno platné legislativě. Je alternativou přispívající k naplnění zásad trvale udržitelného hospodaření v lesích. Právě ořešák slouží jako příklad ovocné dřeviny, která může mít výraznější hospodářský význam. (Hrib, 2007)

Fakulta lesnická a dřevařská, České zemědělské univerzity v Praze se specializuje na šlechtitelské aktivity třešně ptačí. Cílem projektu je zvýšení jakosti a produkce dřeva. Takto vyšlechtěnou dřevinu využít na zalesňování nelesních půd. Aby mohlo dojít k objektivnímu vyhodnocení, byl průzkum prováděn po celé ČR (Kobliha, Janeček, 2007).

Podstatně významněji se v posledních letech pracuje s výzkumem odrůstání a šlechtění třešně ptačí, a to ať již na našem území, nebo v dalších evropských státech. Intenzivní výzkum probíhá na ŠLP Kostelec nad Černými Lesy.

Dřevo třešně je ceněno na dřevařském trhu a v poptávce předstihuje například dub i buk. Z kmenového dříví se pro červenohnědou barvu vyrábí cenný nábytek. Již ve věku 60 – 80 let lze vypěstovat kmenovinu, která se využívá pro dýhárenské účely.

Je velmi důležité zvolit pro tuto dřevinu vhodné stanoviště, pak je její přírůst v prvních letech velmi rychlý. Většinou se třešeň pohybuje v kulturách v nadúrovni. U třešně se pohybuje průměrný roční přírůst na hranici 0,3 m<sup>3</sup> (Stojecova, 2008).

## **2.2 Výskyt divokých ovocných dřevin na našem území historie a současnost**

Ovocné dřeviny byly vždy součástí naší krajiny. Již v archeologických nálezech z doby neolitické jsou na našem území zaznamenány zbytky plodů některého ovoce. V této době však nemůžeme počítat s tím, že by se jednalo o plody cíleně pěstované, mnohem pravděpodobnější je získávání ovoce z divoce rostoucích stromů. K systematictějšímu a cílenějšímu pěstování ovocných dřevin u nás patrně dochází až v době keltské, díky silnému vlivu vyspělejších civilizací z jižní Evropy, kde k šlechtění ovocných dřevin, podle dochovaných záznamů, docházelo již dva tisíce let před naším letopočtem.

S vývojem civilizace postupoval také rozmach šlechtění ovocných dřevin. Ve středověku byly tyto aktivity podporovány výnosy samotných panovníků, ať již Karla IV., Rudolfa II. nebo Josefa II. Cílem bylo vždy dosáhnout odrůd s větší odolností, vyšší plodivostí a samozřejmě lepší kvalitou chuti a vzhledu. K roubování sloužily jako podnože právě volně rostoucí dřeviny, tento postup se ostatně dochoval až do současnosti. Vzhledem k hustotě osídlení středověké krajiny, intenzitě zemědělské výroby a do tereziánské doby prakticky nulovému plánovanému lesnímu hospodářství lze předpokládat, že výskyt volně v přírodě rostoucích původních ovocných dřevin byl nesrovnatelně vyšší než v současnosti (Chadt, 1913).

Od druhé poloviny 18. století se zintenzivněním lesního hospodářství a zvýšením osidlování hůře přístupných lesnatých pohraničních území dochází k přeměně krajiny, původně zalesněné oblasti byly vykáceny, vznikaly nové osady, jejichž obyvatelstvo se zabývalo většinou sklářstvím a lesnictvím. Vzhledem k méně příznivým podmínkám se zemědělství orientovalo především na pastvinářství a pěstování plodin, které hlavně zajišťovaly obživu místnímu obyvatelstvu. Je nutné zdůraznit, že právě v období od druhé poloviny 19. století až po konec druhé světové války, přes výrazné odlesňování některých území, byly právě volně rostoucí ovocné dřeviny ponechávány na pastvinách. Zvířatům poskytovaly v letních měsících stín, na podzim pak plody (Zecha, 1980).

K největšímu úbytku volně rostoucích ovocných dřevin dochází za posledních 70 let. Vlivem kolektivizace a vzniku velkých JZD došlo ke scelování polí. Tvorba velkých lánů s vykácením linií mezí, remízů a solitérů, patrně zlikvidovala velký počet těchto dřevin. Stejně tak současná orientace lesního hospodářství především na produkci dřeva a ekonomickou výnosovost jednotlivých dřevin k zachování našich původních ovocných druhů nepřispívá. Bylo by však dobré si uvědomit, že kvalitní dýhárenské výřezy některých těchto dřevin mohou svou cenou za metr kubický i několikrát převýšit cenu hospodářských dřevin.

Najít ve volné přírodě původní takzvaně divoké ovocné dřeviny může být v dnešní době problematické. Zvláště u některých druhů se většinou jedná o zplanělé kulturní odrůdy.

Určit jedná-li se o původního nebo zplanělého jedince je velmi těžké, někdy takřka nemožné.

### 2.3 Výskyt jednotlivých dřevin v lesních porostech

V současné době výskyt ovocných dřevin v porostech buď stagnuje, nebo vykazuje mírný nárůst vyjma ořešáku černého, který zaznamenal za posledních pět let pokles takřka o jednu polovinu co do rozlohy v hektarech.

Pokles je mimo jiné způsoben omezeným počtem zdrojů reprodukčního materiálu. Jestliže se zaměříme na námi sledované dřeviny, tedy na hrušeň a jabloň zjistíme, že se rozloha jejich výskytu v porostech zvýšila, ale pouze nepatrně. Za posledních pět let činil nárůst u hrušně osm hektarů a u jabloně dokonce pouze pět hektarů. Tento stav odráží současný důraz na hospodářské využití lesních porostů.

Tabulka č. 1 udává výskyt ovocných dřevin v hektarech z celkové rozlohy 2 594 938 lesních porostů na území České republiky. Většina porostů, s deklarovaným výskytem ovocných dřevin, se rozkládá na území Moravy. Z následující tabulky jasně vyplývá, že ovocné dřeviny, i kdybychom sečetli rozlohu všech, nezaujímají v lesních porostech ani jedno procento (URL 1).

Tabulka č.1 - Vývoj zastoupení jednotlivých dřevin v lesních porostech v ha (ÚHÚL Brandýs nad Labem).

Dřevina		2006	2007	2008	2009	2010
<b>hrušeň</b>	<b>HR</b>	17	20	21	21	25
<b>jabloň</b>	<b>JB</b>	52	53	54	54	57
<b>třešeň ptačí</b>	<b>TR</b>	554	579	628	647	665
<b>jeřáb ptačí</b>	<b>JR</b>	7 022	7078	7089	6945	6835
<b>břek</b>	<b>BRK</b>	53	70	78	79	79
<b>muk</b>	<b>MK</b>	5	6	6	6	6
<b>orešák černý</b>	<b>OC</b>	70	37	38	35	38

## 2.4 Zdroje uznané pro sběr reprodukčního materiálu

Vzhledem k tomu, že je práce zaměřena na návrat takzvaně planých ovocných dřevin do lesního prostředí, je nutno brát v potaz pravidla pro výsadbu dřevin do lesa. Tato problematika je v současné době řešena zákonem 149/2003 Sb. ve znění pozdější novelizace 387/2005 Sb., kterou byl zároveň novelizován zákon 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny.

Tento zákon udává, že pro uvádění sadebního materiálu do oběhu musí být používán sadební materiál z uznaných zdrojů pro sběr sadebního materiálu. Ovšem toto legislativní nařízení se týká hlavně sadebního materiálu, který je předmětem obchodu a také pokud je záměrem čerpat na zalesnění dotace. V tomto případě musí být sadební materiál vždy z uznaných zdrojů pro sběr. Jestliže se vlastník lesa rozhodne sázet do svého lesa dřeviny bez deklarovaného původu – může, není-li to v rozporu s jiným legislativním nařízením.

Většinou by tento rozpor mohl nastat v souvislosti se zákonem 114 o ochraně přírody a krajiny, kde jsou deklarována omezení na takzvaně introdukované a dovážené dřeviny. Ze zcela laického pohledu by mělo být v zájmu majitele lesa použít pro výsadbu materiál ze zdroje, který má deklarovaný původ, což by mělo být zárukou určité kvality sadebního materiálu. Bohužel je smutnou skutečností, že v současné době rozhoduje ve velké míře o výběru sazenic cena, což má za následek nárůst počtu sazenic z méně kvalitních zdrojů a to se pochopitelně následně odráží i na kvalitě pěstovaných porostů.

Zdroje reprodukčního materiálu jsou rozděleny dle vyhlášky na kategorie - identifikované, selektované, kvalifikované a testované a co do druhu na – zdroj semen, porost, semenný sad, rodičovský strom, klon a směs klonů. V označení uznaných zdrojů reprodukčního materiálu je také vyznačena fenotypová klasifikace daného zdroje A, B, C. Podle údajů, které se mi podařilo získat z databáze ÚHÚL je současný stav v rozloze a počtu uznaných zdrojů reprodukčního materiálu ovocných planých dřevin na území České republiky velmi alarmující.

V současné době je evidováno 8 semenných sadů třešně ptačí o celkové rozloze 8,61 ha a 2 semenné sady pro jeřáb břek s plochou 1,72 ha. Pro ostatní dřeviny jabloň, hrušeň, jeřáb muk, jeřáb ptačí a ořešák černý není žádný semenný sad založen.

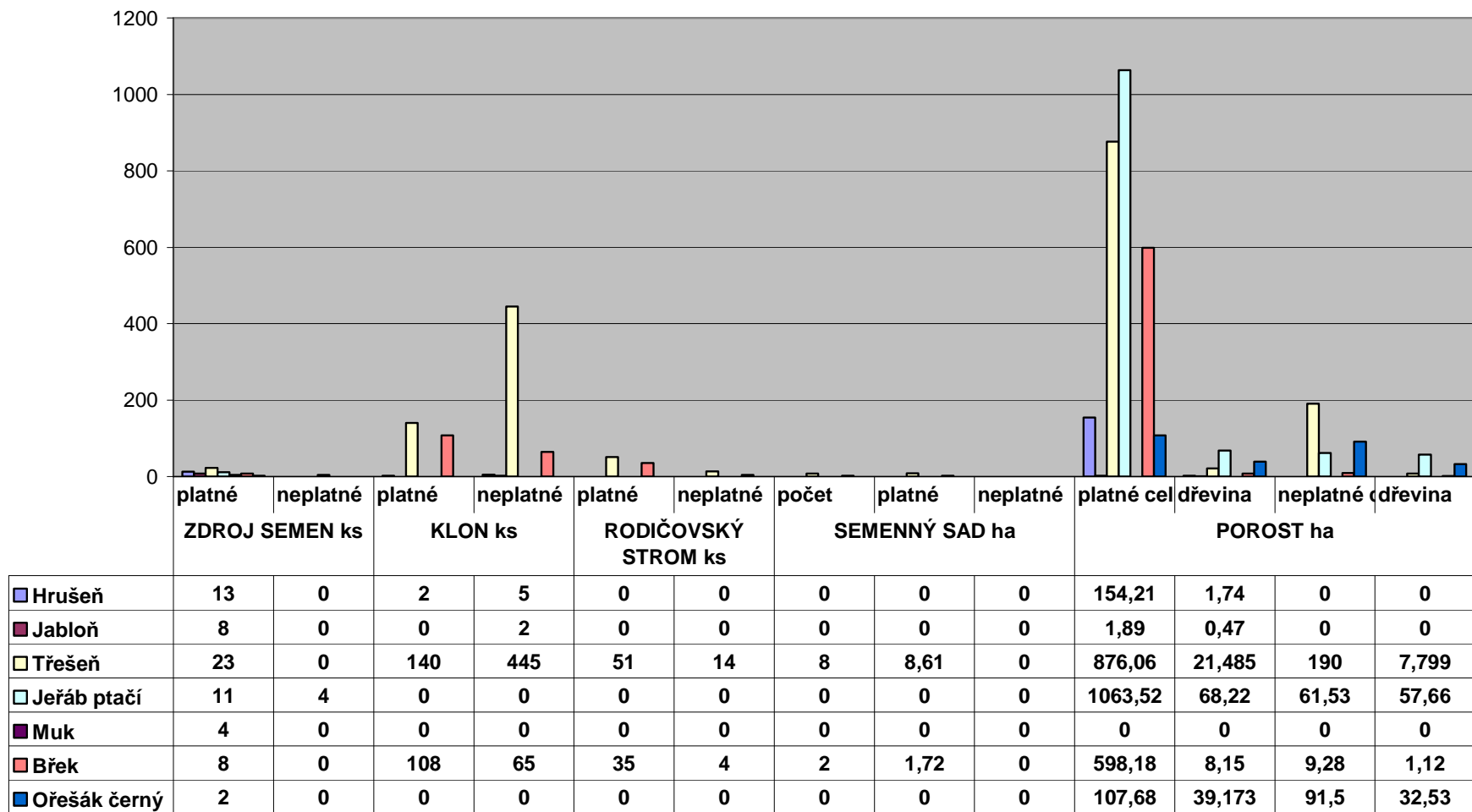
V uznaných porostech pro sběr semenného materiálu je evidována největší plocha dřeviny pro jeřáb ptačí 68,22 ha, ořešák černý 39,17 ha a třešeň ptačí 21,49 ha, naproti tomu porosty uznané pro sběr hrušně polničky vykazují rozlohu dřeviny pouze 1,74 ha a jabloně lesní 0,47 ha.

Možnou příčinou tohoto nízkého stavu zdrojů u jabloně a hrušně může být neznalost. Obecně panuje představa, že pro sběr semenného materiálu mohou být uznány pouze lesní porosty. V praxi však mohou být pro sběr semenného materiálu uznány zdroje mimo les. Přehled všech uznaných zdrojů pro sběr semenného materiálu, je zpracován v grafu č.1. Jeho součástí je také tabulka hodnot získaných analýzou dostupných dat (URL 1).



Graf č.1

## PŘEHLED UZNANÝCH ZDROJŮ RM



### 3 METODIKA PRÁCE

Z dostupných zdrojů budou shromážděny údaje o jednotlivých dřevinách jejich zastoupení a biologické nároky.

Základní informace o metodě *in vitro* a jejím dosavadním využití při množení lesnický upotřebitelných dřevin a zakládání jejich semenných sadů, bude získán studiem a citacemi částí již publikovaných odborných statí.

Z databáze ÚHÚL Brandýs nad Labem formou analýzy dat bude zjištěno zastoupení jednotlivých dřevin v lesních porostech České republiky. Dále vypracován přehled uznaných zdrojů reprodukčního materiálu pro sběr osiva, které lze uvádět do oběhu v souladu se zákonem 289/1995 Sb. O lesích a zákonem 149/2003 Sb. O uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin.

Ve spolupráci s laboratoří *in vitro* ve školce Forest Olešná bude zdokumentován postup a vývoj populací *Malus sylvestris* množných metodou *in vitro*. Spolu s pracovníky laboratoře bude založen pokus s několika jedinci *Malus sylvestris*, od přípravy média přes multiplikační fázi až po samotný převod do venkovního prostředí. Souběžně se vzorky *Malus sylvestris* bude probíhat i pokus s *Pyrus pyraeaster*. Vzhledem k doporučenému rozsahu práce bude popsán podrobněji průběh u *Malus sylvestris* a případné odchylky *Pyrus pyraeaster* zhodnoceny v závěrečném shrnutí pokusu. Porovnání ekonomické náročnosti generativního množení s množím *in vitro*, proběhne výslednou cenou sazenic s ohledem na dopěstování do výsadby schopného stádia. S tímto zhodnocením také bude zjištěna doba, ve které jsou sazenice vypěstované *in vitro* připravené k výsadbě.

K práci bude ve spolupráci s pracovníky laboratoře využíváno kompletní zařízení laboratoře školek Forest Olešná.

## 4 Metodika množení *in vitro*

### 4.1 *Malus sylvestris* – postup množení *in vitro*

Pro pokus množení *in vitro* byly vybrány vzorky ze čtyř uznaných zdrojů *Malus sylvestris*. Z nichž byly preparovány vzorky pro následný pokus množení *in vitro*. Z každého bylo nasazeno po deseti kusech vzorků do deseti sklenic pro multiplikační fázi pokusu. Celkový počet vzorků z jednoho zdroje tedy činil sto kusů.

V první fázi bylo připraveno živné M-S media - Murashige et Skoog 1962. Pro přípravu 1 litru činí váha 6,5 g agarů, který je používán jako opora pro růst buněk.

V pětiset mililitrové láhvi SIMAX došlo ke smísení agarů s třemi sty mililitry destilované vody. Tato směs se poté nechala rozvařit v autoklávu.

Do Erlenmeyerovy (EM) baňky bylo odměřeno pět set mililitrů destilované vody, sto mililitrů koncentrátu makroelementů, deset mililitrů mikroelementů a pět mililitrů chelátu železa. Dále přidán jeden mililiter zmraženého koncentrátu vitamínů.

Pro další fázi přípravy bylo nutné navážit sto miligramů inositolu, dvacet gramů sacharózy, sloužící společně s vodou za zdroj uhlíku a doplnit o růstové regulátory, aktivní uhlí a další látky.

Rozvařený agar byl smíchán s obsahem Erlenmeyerovy baňky a v odměrném válci tento roztok doplněn na tisíc mililitrů.

Takto připravený roztok je nutné podrobit měření potenciálu vodíku - pH. Požadovaná hodnota pH 5,8 regulujeme roztok za pomoci 0,1 M KOH nebo 0,1 M HCl.

Médium je nutno v této fázi dobře promíchat přeléváním z odměrného válce do Erlenmeyerovy baňky a následně rozděleno do kultivačních nádob po čtyřiceti mililitrech do každé nádoby. Kultivační nádoby s médiem je nutné důkladně uzavřít.

Zde je vhodné poznamenat, že pokud jsou jako kultivační nádoby používány Petriho misky je nutné misky sterilizovat v autoklávu a médium do nich přelévat ve sterilním prostředí laminárního boxu.

Následující den probíhala sterilizace média v kultivačních miskách po dobu dvaceti minut při teplotě 121°C v autoklávu.

Médium je možné krátkodobě uchovávat při laboratorní teplotě, pro delší skladování je pak nutné využít lednici.

Druhou fází bylo založení primárních kultur ze zvolených zdrojů materiálu. Použity byly dormantní pupeny (před vyrašením) sebrané v únoru.

Explantáty byly vysterilizovány a propláchnuty destilovanou vodou a převedeny na indukční MS médium ve sterilních podmínkách flowboxu.

Po čtyřech týdnech došlo k přesazení explantátů na multiplikační médium do sklenic o objemu 330 ml a následně uzavřeny víčky.

Na tomto médiu došlo k růstu adventivních výhonů – mikrořízků, získaných z pupenů čtyř vybraných zdrojů *Malus sylvestris* (obrázek číslo 1 a 2).

Pro každý zdroj bylo připraveno deset sklenic a do každé ze sklenic byl nasazen mikrořízek.

Vlastní kultivace probíhala pod zářivkami v kultivační místnosti při takzvané světelné periodě. Světelná perioda je nastavena tak, aby kultivované rostliny byly po dobu šestnácti hodin nasvíceny, v tomto čase je teplota udržována na 22°C, čímž byly simulovány světelné a teplotní podmínky dne. Po šestnácti hodinách byla světla zhasnuta a po dobu osmi hodin byla teplota snížena na 17°C čímž nastala klidová „noční“ část.

Délka multiplikační fáze trvala tři týdny. Po uplynutí této doby byla provedena kontrola. A vypočítán koeficient zmnožení.

Koeficientem zmnožení se rozumí počet výhonků narostlých z jednoho mikrořízku (obrázek číslo 3 a 4).

Výsledek multiplikační fáze spolu s výpočtem koeficientu zmnožení je pro větší přehlednost zaznamenán v níže uvedené tabulce č. 2. V tabulce můžeme vysledovat, že v některých sklenicích došlo k uschnutí vzorků. Příčinou těchto ztrát, vzhledem k uspokojivému průběhu u ostatních vzorků ze stejného zdroje materiálu, byla patrně chyba při přenosu a aplikaci mikrořízků .

U takřka 90% vzorků je počet nově vytvořených výhonků roven nebo vyšší než pět, 9% vzorků vytvořilo po třech a čtyřech výhoncích. Pouze u jednoho vzorku došlo k úplnému uschnutí a jeden vzorek nasadil jen jeden výhon. Průměrný koeficient zmnožení u našeho pokusu byl 5,15%.

Při pokusu na jabloni byl učiněn závěr, že v průběhu multiplikační fáze dochází, při dodržení veškerých technologických postupů a výběru vhodného kvalitního materiálu k odebrání počátečních preparátů, dochází k prakticky nulovým ztrátám.

Tabulka č. 2 – Průběh multiplikační fáze s výpočtem koeficientu zmnožení

<b>Sklenice</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>koeficient zmnožení %</b>
<b>Malus č. 1</b>	6	7	5	7	3	6	4	7	6	5	<b>5,6</b>
<b>Malus č. 2</b>	7	7	5	6	5	5	4	3	7	6	<b>5,5</b>
<b>Malus č. 3</b>	6	5	4	0	5	4	6	6	5	6	<b>4,7</b>
<b>Malus č. 4</b>	5	5	6	6	5	1	5	5	5	5	<b>4,8</b>
<b>Průměr</b>											<b>5,15</b>

Obrázek č. 1 - *Malus sylvestris* – multiplikační fáze na médiu



Obrázek č. 2 - *Malus sylvestris* – multiplikační fáze na médiu



Na obou obrázcích je zdokumentován růst adventivních výhonků získaných z pupenů.

Obrázek č. 3 - *Malus sylvestris* – rostliny po multiplikační fázi připravené k zakořenění



Obrázek č. 4 - *Malus sylvestris* – rostliny po multiplikační fázi připravené k zakořenění



Zde je možné vidět počet výhonků narostlých z jednoho mikrořízku. Rostliny jsou připraveny k zakořenění na živném médiu.



Třetí fází byl zakořeňovací proces.

Médium pro zakořeňovací proces byl připraven z 1/3 mikroelementů, 1/3 makroelementů, 1/3 vitamínů. Tato směs byla obohacena o hormony, sacharózou a zpevňujícím agarem. Hodnota pH jsme upravena na 5,7.

Pro zakořeňovací fázi byly použity sklenice o objemu 600 ml, uzavřené plastovým víčkem protaženým molitanem. Rostlinky byly nasazeny po maximálně 15 kusech do sklenice od jednotlivých zvolených zdrojů a umístěny zpět do kultivační místnosti.

V této fázi byla stále dodržována již výše zmiňovaná světelná perioda. U vzorků byl průběžně kontrolován jejich zdravotní stav a kondice.

První kořínky byly pozorovatelné již po 14 dnech od přenesení na médium (obrázek číslo 5). Fáze zakořeňování na médiu se pohybuje v rozmezí tří až čtyř týdnů. V případě našeho pokusu byla po třech týdnech provedena kontrola zakořenění.

Vzhledem k dobrému výsledku byly rostlinky přeneseny z kultivační místnosti do aklimatizovaného skleníku, kde byly připraveny pro fázi zakořenění na substrátu. Zakořenění rostlinek na médiu bylo prakticky stoprocentní (obrázek číslo 6 a 7).

Obrázek č. 5 - *Malus sylvestris* – první kořínky pozorované po čtrnácti dnech





Obrázek č. 6 - *Malus sylvestris* – zakořeňování na médiu po třech týdnech



Obrázek č. 7 - *Malus sylvestris* – rostlina po třech týdnech



Takto vyspělé rostliny jsou již připraveny na zasazení do substrátu.

## 4.2 *Malus sylvestris* - fáze převodu

Po zakořenění rostlinek ve fázi *in vitro*, byly rostlinky vyjmuty ze sklenic, propláchnuty od agaru a nasazeny do substrátu. Místo substrátu může být použit také perlit

Rostliny v substrátu byly umístěny do prostředí s 100% vlhkostí a teplotou 22°C. V této fázi pokusu docházelo k postupnému snižování vlhkosti na 50-60%, které bylo řízeno počítačem. Teplota byla regulována s ohledem na roční období. Rostliny zastínovány a odstínovány, aby nedošlo k jejich spálení slunečním zářením. Kontroly byly prováděny po třech a osmi týdnech.

Tato fáze je v celém postupu nerizikovější a dochází při ní k největším ztrátám. To se také projevilo při našem pokusu, kdy při kontrole po třech týdnech byl zjištěn 6% úhyn a po 8 týdnech 3% úhyn.

Nejčastěji jsou tyto ztráty způsobeny nedostatečným zastíněním rostlin, špatným nastavením postupného snižování vlhkosti nebo také zanedbáním sledování zdravotního stavu rostlin. Ukončení převodu byly rostliny přesazeny do kontejnerů 11x11 a po zakořenění umístěny na venkovní plochu.

Rostliny byly do výsadby schopného stavu dopěstovány za 14 měsíců (obrázek číslo 8).

Obrázek č. 8 - *Malus sylvestris* – obalované sazenice z množení in vitro



Rostliny přesazeny do kontejneru 11x11. Jsou připraveny na venkovní plochu.

### 4.3 Shrnutí provedeného pokusu

Během celého procesu probíhalo paralelně množení *Malus sylvestris* a *Pyrus pyraeaster*. K největší odchylce došlo mezi těmito dvěma dřevinami v průběhu multiplikační fáze, kdy *Pyrus pyraeaster* vykazovala znatelně nižší koeficient zmnožení. Toto však byl jediný výraznější rozdíl.

Je nutné si uvědomit, že celá práce byla provedena formou pokusu, kdy bylo důsledně dbáno na dodržování veškerých technologických postupů.

V běžné praxi budou výsledky například koeficientu zmnožení odlišné, neboť do procesu mohou vstupovat i jiné faktory.

Obzvláště selhání lidského faktoru může způsobit ztráty. Například nevhodné ředění sterilizačních látek, nebo ponechání explantátů v roztoku příliš dlouho může způsobit jejich zčernání a zničení.

Ke ztrátám dochází také v důsledku kontaminace, kdy jsou následně napadeny plísní. Výskytu plísní jsme předcházeli preventivním ošetřením explantátů. Byl také důsledně dodržován režim vlhkosti, tudíž nedošlo k přemokření a napadení larvami smutnice vojenské.

Pokus prokázal, že pokud jsou dodržovány technologické postupy, jedná se o velmi perspektivní metodu množení dřevin, neboť z poměrně malého vzorku je možné získat velký počet jedinců. Zvláště pak je tato metoda vhodná pro dřeviny ohrožené, u kterých jsou registrovány pouze omezené zdroje pro získávání semenného materiálu. Generativním množením by tedy nemohlo být dosaženo tak velkého počtu jedinců.

Diskutabilní zůstává otázka uchování genetické variability takto pěstovaných dřevin. Z tohoto důvodu by bylo vhodné, zaměřit se na vyhledávání vhodných zdrojů reprodukčního materiálu, které v současné době nejsou evidovány jako uznané zdroje, což je případ solitérních jedinců v krajině. Mnohdy jsou tyto stromy evidovány jako Památné stromy. Bohužel i z této evidence některé dřívě „Chráněné stromy“ patrně administrativní chybou zmizely.

## 5 EKONOMICKÉ ZHODNOCENÍ

Z ekonomického hlediska se jedná o technologii finančně náročnou, pokud bychom nově zařizovali laboratoř.

Vybavení laboratoře, přizpůsobení skleníků, proškolení laborantů je vysokou investicí, která by se musela zákonitě promítnout i do ceny sadebního materiálu. Také náklady na provoz laboratoře jsou vzhledem ke stoupajícím cenám energií, pohonných hmot a materiálů potřebných k laboratornímu zpracování vzorků a jejich následnému dopěstování do výsadby schopného stádia poměrně vysoké. Není zatím proto také možné provozovat tuto laboratoř samostatně jako podnikatelský záměr.

Ekonomické zhodnocení pokusu vychází ze stávajícího stavu, kdy se jedná o již zařízený provoz a pozornost byla soustředěna na vyhodnocení nákladů na vypěstování sazenice od získání prvotního materiálu po výsadbu schopnou sazenici.

Do konečné ceny sazenice byly započteny náklady na energie, mzdové prostředky a materiál. Postup výpočtu je zaznamenán do tabulky číslo 3. Vychází z nákladů na jeden tisíc sazenic. Jedná se o sazenici obalovanou o výšce 51 – 80 cm.

Při dopočtu ceny na jednu sazenici je přičítána ještě daň z přidané hodnoty, která je v současné době platná pro rostliny. Výsledná cena jednoho kusu obalované sadby *in vitro* s DPH je 41,-Kč.

Tabulka č.3 - Výpočet ceny sazenic *in vitro*

Počet sazenic	1000 Ks.
Výroba média 1 materiál a práce	8945
Výroba média 2 materiál a práce	5845
Energie elektřina, pohonné hmoty, voda	13745
Převod substrát, práce	4470
celkem	33005

Výsledek je pro mnohé patrně překvapivý, ale sazenice *in vitro* jsou cenově konkurenceschopné se sazenicemi vypěstovanými generativním způsobem.

Pro srovnání bylo použito deklarovaných ceníků ceny tří školkařských zařízení a pro větší přehlednost byly zapsány do níže uvedené tabulky č. 3. Jednotlivá školkařská střediska byla označena pouze číslovkami 1 – 3.

Tabulka č.3 - Srovnání cen generativně množných sazenic a sazenic *in vitro*

DŘEVINA	výška sazenice cm	Cena sazenice v Kč			
		<i>in vitro</i>	Generativní 1	Generativní 2	Generativní 3
<b>Malus sylvestris</b>	51-80	41,-	45,-	50,-	77,-
<b>Pyrus pyraeaster</b>	51-80	41,-	45,-	50,-	45,-

## 6 ZÁVĚR

Tato práce měla za cíl zhodnotit metodu *in vitro* k využití návratu ohrožených druhů ovocných dřevin do lesního prostředí. A zároveň na konečné ceně sazenice prokázat její konkurenceschopnost se sazenicemi vypěstovanými generativně.

Metoda *in vitro* se v současné době jeví jako nejperspektivnější metoda k rozmnožování ohrožených druhů dřevin, vzhledem k omezenému počtu zdrojů reprodukčního materiálu. Díky *in vitro* metodě lze zmíněné dřeviny rozmnožovat z omezeného množství preparátů a přitom v odpovídající genetické kvalitě a ve velkém počtu jedinců. Jednou z výhod této metody je také možnost pěstování sadebního materiálu na objednávku, kdy pokud bude dodržen technologický postup, je zaručen počet sazenic.

Na základě prostudovaných materiálů a provedeného pokusu lze touto metou orgánového množení z pupenů doporučit ke zvýšení zastoupení ovocných dřevin v porostech. Z ekonomického hlediska jsou sazenice vypěstované *in vitro* ve stejné cenové hladině, jako sazenice generativní a tudíž mohou být používány bez obavy zvýšení nákladů na zalesnění.

## 7 POUŽITÁ LITERATURA

Heike, K.: Praktická dendrologie I a II, SZN, Praha, 1978

Hrib, M.: Regeneration of Noble Broadleaves on Alluvial Sites of the Židlochovice Forest Enterprise. In: Forest Management Systems and Regeneration of Floodplain Forest Sites. Sborník referátů Pavel Hobza (ed.). Reviewed Proceedings from the International Conference Brno 8.-9.10.2007, p. 169 – 181, ISBN 978-80-7375-089-3 Mendel University of Agriculture and Forestry Brno and ISBN 978-80-02-01958-9 The Czech Forest Society, 2007.

Chadt, J. E.: Dějiny lesů a lesnictví v Čechách, na Moravě a ve Slezsku. Theodor Kopecký, Písek, 1913.

Chalupa, V., Prof., Ing.: Růst lesních stromů vypěstovaných in vitro z orgánových kultur a ze somatických embryí, Lesnická práce 11/2000, ročník 79, s. 498 – 501.

Chalupa, V., Prof., Ing.: Zachování genových zdrojů ušlechtilých listnáčů a jejich rozmnožování metodami in vitro, Lesnická práce 12/2001, ročník 80, s. 555 – 557.

Kobliha, J., Prof., Ing., CSc.: Explantátové kultury – historický předěl pro rozvoj klonového hospodářství lesních dřevin, Lesnická práce 6/2000, ročník 79, s. 272 – 273.

Pospíšil, J., Kobliha, J., Prof., Ing., CSc.: Šlechtění lesních dřevin. 1. Vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1988, 135s.

Kolektív autorov, Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV: Využitie inovatívnych vedeckých prístupov na zvýšenie efektívnosti lesného hospodárstva, Nitra, 2010.

Linhart, J. a kol.: Slovník cizích slov pro nové století, Dialog, Praha. 2007, ISBN: 80-7382-006-4.



Malá, J., RNDr., CSc.; Máchová, P., Ing.; Cvrčková, H., Ing.; Čížková, L., Ing.: Využití mikropropagace pro reprodukci genových zdrojů vybraných ušlechtilých listnatých dřevin (*Malus sylvestris*, *Pyrus pyraeaster*, *Sorbus torminalis*, *Sorbus aucuparia*, *Prunus avium*), Zprávy lesnického výzkumu 4/2005, VÚLHM, svazek 50, s. 216 – 221.

Malá, J., RNDr., CSc., Šíma, P., RNDr., CSc.: Možnosti využití biotechnologických metod v lesním hospodářství, Lesnická práce 11/2000, ročník 79, s. 495 – 497.

Nečas, T.; Ing., PhD.; Krška, B., Doc., Dr., Ing.; Ondrášek, I., Ing.: Multimediální učební skriptum ovocnictví, MZLU Brno, Zahradnická fakulta v Lednici, Ústav ovocnictví, 2004.

Procházka, F.: Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky: / stav v roce 2000. Praha: AOPK ČR, 2001, 146 s. ISBN 80-86064-52-2.

Šindelář, J.: Záchrana ohrožených druhů lesních dřevin na příkladu Jabloně lesní (*Malus sylvestris* L.) a Hrušně plané (*Pyrus pyraeaster* /L./ BURGSDORF), Zprávy lesnického výzkumu 4/2002, VÚLHM, svazek 47, 199 – 207.

Úradníček, L., Maděra, P. a kol.: Dřeviny České republiky, Matice lesnická, Písek 2001, ISBN 80-86271-09-9

Zecha, F.: Einfluss der Böhmischen Forstwirtschaft auf die Waldbewirtschaftung in den Alpen im 18. und 19. Jahrhundert. Schwarzenbergische Archiv, 1. vydání, Murau 1980

Stojecová, R., Ing.: Obnova a pěstování třešně ptačí v podmínkách ŠLP Kostelec nad Černými lesy a Lesního statku Březno; Disertační práce, ČZU Praha, 2008.

## 8 POUŽITÉ WEBOVÉ ADRESY

URL 1 - <http://www.uhul.cz>; <http://www.erma.uhul.cz>; cit. 13.2.2012

URL 2 - <http://www.silvarium.cz>, cit. 22.4.2012

URL 3 - <http://www.skolka-forest.cz/laborator-in-vitro>; cit. 24.11.2011

URL 4 - <http://www.ovoce-zelenina.atlasrostlin.cz>, cit. 24.11.2011

URL 5 - [www.wikipedia.cz](http://www.wikipedia.cz) cit. 17.2.2012

URL 6 - [http://www.zelenelisty.cz/clanky/botanicke-tahaky-\\_botanical-cribs\\_/rostlinne-kultury-in-vitro---vi..html](http://www.zelenelisty.cz/clanky/botanicke-tahaky-_botanical-cribs_/rostlinne-kultury-in-vitro---vi..html) cit. 25.4.2012