

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská



Bakalářská práce

2020

Gabriela Skaláková, DiS.

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ekologie lesa



**Využití in vitro metod pro rozmnožování a ozdravování starých
odrůd hrušní**

Bakalářská práce

Autor: Gabriela Skaláková, DiS.

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

2020

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Gabriela Skaláková, DiS.

Lesnictví

Hospodářská a správní služba v lesním hospodářství

Název práce

Využití in vitro metod pro rozmnožování a ozdravování starých odrůd hrušní.

Název anglicky

In vitro propagation and recovery of old pears varieties.

Cíle práce

1. Vytvořit literární rešerši se základním přehledem o starých odrůdách hrušní v České republice. Zohlednit stanovištní, klimatické a vegetační nároky.
2. Navržení metodiky množení hrušní pomocí in vitro metod.
3. Ekonomické zhodnocení vypěstovaných sazenic pomocí in vitro metod a konvenčními způsoby.

Metodika

1. Nastudovat metodiku práce s literaturou a tvorbou rešerší (SIC ČZU)
2. Získat přehled o dostupných zdrojích literatury – knihovna UZPI, Web of Science
3. Získání literárních zdrojů k následujícím tématům:
 - Popis rodu Pyrus
 - Ekologické nároky rodu Pyrus
 - Choroby rodu Pyrus
 - Metody rozmnožování a ozdravování s ohledem na rod Pyrus
 - Tvorba ceny
4. Zpracování BP

Doporučený rozsah práce

30-40 stran

Klíčová slova

Mikropropagace, termoterapie, chemoterapie, auxin, cytokinin

Doporučené zdroje informací

Bárteles, A., 1988. Rozmnožování dřevin, SZN, 451 s.

Bell, L.R., Srinivasan, Ch., Lomberk, D., 2009. Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 45: 708-714.

Dirr, M.A., Heuser, Ch.W., 2006. *The Reference Manual of Woody Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture*. Timber Press, 410 s.

Duchoň, B., 2007. *Inženýrská ekonomika*. C.H. Back, 288 s.

Hu, G.J., Hong, N., Wang, L.P., Hu, H.J., Wang, G.P., 2012. Efficacy of virus elimination from in vitro cultured sand pear (*Pyrus pyrifolia*) by chemotherapy combined with thermotherapy. *Crop Protection* 37: 20-25.

Jain, S.M., Ocha, S.J., 2009. *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants*. Humana Press, 414 s.

Tan, R.R., Wang, L.P., Hong, N., Wang, G.P., 2010. Enhanced efficiency of virus eradication following thermotherapy of shoot-tip cultures of pear. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 101: 229-235.

Walter, V., 2001. *Rozmnožování okrasných stromů a keřů*. Praha, Nakladatelství Brázda, 309 s.

Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FLD

Vedoucí práce

Ing. Jan Vítámvás, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie lesa

Elektronicky schváleno dne 10. 6. 2019

Elektronicky schváleno dne 22. 2. 2020

prof. Ing. Miroslav Svoboda, Ph.D.

Vedoucí katedry

prof. Ing. Róbert Marušák, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 15. 06. 2020

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Využití in vitro metod pro rozmnožování a ozdravování starých odrůd hrušní“ vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce Ing. Jana Vítámvás, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Písku dne 14.6.2020

Gabriela Skaláková, DiS.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce Ing. Janu Vítámvásovi, Ph.D. za ochotu, rady, trpělivost a odbornou pomoc. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu po dobu mého studia.

Abstrakt

Tato práce se zabývá zpracováním informací týkajících vytvářením viruprostých rostlin starých odrůd hrušní v ČR (*Pyrus*). Zaměření je směřováno především ke starým odrůdám, které byly dříve běžně pěstovány v sadech a zahradách. Některé odrůdy byly, i přes rozdíl mnoha let, zachovány a pěstují se dodnes. Jiné bohužel z našich sadů vymizely a to ať v důsledku velké náchylnosti k chorobám, tak i v důsledku zavádění nových druhů hrušní, speciálně vypěstovaných pro svoji plodnost a odolnost.

Dalším bodem práce je popis základních typů onemocnění, které způsobují nemalé problémy při pěstování, jejich příznaky a možnou eliminaci těchto chorob.

Novým způsobem léčby napadených stromů je termoterapie a chemoterapie prováděná metodou *in vitro*. Tímto způsobem lze získat a namnožit rostliny nezatížené virovými ani jinými nemocemi.

Klíčová slova: hrušeň-staré odrůdy, mikropropagace, termoterapie, chemoterapie, auxin, cytokinin

Abstract

This work deals with the processing of information concerning the creation of virus-free plants of old pear varieties in the Czech Republic (Pyrus). The focus is mainly on old varieties that were previously commonly grown in orchards and gardens. Some varieties, despite the difference of many years, have been preserved and are still grown today. Unfortunately, others have disappeared from our orchards, both due to their high susceptibility to disease and due to the introduction of new species of pears, specially grown for their fertility and resilience.

Another point of the work is a description of the basic types of diseases that cause significant problems in cultivation, their symptoms and possible elimination of these diseases.

A new way of treating infested trees is thermotherapy and chemotherapy performed in vitro. In this way, plants free from viral or other diseases can be obtained and propagated.

Key words: pear - old varieties, micropropagation, thermotherapy, chemotherapy, auxin, cytokinin

OBSAH

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Úvod | 13 |
| 2 | Cíl práce..... | 15 |
| 3 | Charakteristika a obecný popis hrušňi (<i>Pyrus</i>)..... | 16 |
| 3.1 | Taxonomické zařazení hrušňi..... | 16 |
| 3.2 | Historický výskyt hrušňi | 16 |
| 3.3 | Podmínky pro pěstování hrušňi..... | 16 |
| 3.4 | Květ a plod hrušně..... | 17 |
| 3.4.1 | Způsob opylování | 17 |
| 3.4.2 | Plody hrušňi..... | 17 |
| 4 | Odrůdy hrušňi..... | 19 |
| 4.1 | Staré (historické) odrůdy hrušňi | 19 |
| 4.1.1 | Přehled vybraných starých druhů hrušňi | 20 |
| 4.2 | Krajové odrůdy..... | 22 |
| 4.3 | Moderní odrůdy..... | 22 |
| 5 | Choroby hrušňi | 24 |
| 5.1 | Virová onemocnění | 24 |
| 5.1.1 | Kaménkovitost hrušňi (<i>Pear stony pit virus</i>) PSPV | 24 |
| ➤ | Příčina..... | 24 |
| ➤ | Příznaky nákazy | 24 |
| ➤ | Ošetření a eliminace | 24 |
| 5.1.2 | Kroužkovitá mozaika hrušně (<i>Apple chlorotic leaf spots virus</i>) ACLSV | 25 |
| 5.1.3 | Puchýřkovitá rakovina kůry (<i>Pear blister cancer viroid</i>) PBVVd | 25 |
| 5.2 | Bakteriální onemocnění..... | 27 |
| 5.2.1 | Spála růžovitých..... | 27 |
| ➤ | Příčina onemocnění | 27 |
| ➤ | Projev onemocnění | 27 |
| ➤ | Ošetření | 27 |
| 5.3 | Mykózy..... | 28 |
| 5.3.1 | Strupovitost | 28 |
| ➤ | Příčina onemocnění strupovitosti | 28 |
| ➤ | Projev nákazy | 28 |

| | |
|--|-----------|
| ➤ Ošetření a eliminace | 28 |
| 5.3.2 Rez hrušňová | 29 |
| ➤ Příčina nákazy | 29 |
| ➤ Projev nákazy | 29 |
| ➤ Ošetření a eliminace | 29 |
| 5.3.3 Monilióza nebo také monilionová hniloba hrušní | 30 |
| 5.4 Fytoplazmové onemocnění..... | 31 |
| 5.4.1 Fytoplazmové chřadnutí hrušní (Phytoplasma pyri) | 31 |
| ➤ Příčina..... | 31 |
| ➤ Příznaky nákazy | 31 |
| ➤ Ošetření a eliminace | 31 |
| 6 Metody rozmnožování | 32 |
| 6.1 Generativní způsob rozmnožování | 32 |
| 6.2 Vegetativní způsob rozmnožování | 32 |
| 6.2.1 Autovegetativní metody rozmnožování..... | 32 |
| 6.2.2 Xenovegetativní metody rozmnožování..... | 33 |
| 6.3 Mikropropagace rostlin | 34 |
| 7 Metoda in vitro (kultura rostlinných explantátů)..... | 35 |
| 7.1 Vybavení | 35 |
| 7.2 Materiál a chemikálie | 35 |
| 7.3 Chemikálie pro kultivaci in vitro..... | 35 |
| 7.4 Médium | 36 |
| 7.4.1 Makro a mikro prvky..... | 36 |
| 7.4.2 Sacharidy | 36 |
| 7.4.3 Agar | 37 |
| 7.4.4 Fytohormony | 37 |
| ➤ Auxiny..... | 37 |
| ➤ Cytokininy | 38 |
| ➤ Gybereliny | 38 |
| 8 Léčebné metody pro získání viruprostých odrůd | 39 |
| 8.1 Termoterapie | 39 |
| 8.2 Chemoterapie..... | 39 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 8.3 | Účinnost léčby | 39 |
| 9 | Metodický postup pro množení metodou in vitro | 41 |
| ➤ | Odběr materiálu, založení primární kultury | 41 |
| ➤ | Sterilizace | 41 |
| ➤ | Množení - multiplikace..... | 42 |
| 10 | Ekonomické zhodnocení metody in vitro..... | 44 |
| 11 | Závěr | 46 |
| 12 | Seznam literatury..... | 47 |
| 13 | Seznam příloh..... | 52 |

Použité zkratky a výrazy

| | |
|-------|--|
| PSPV | Pear stony pit virus |
| ACLSV | Apple chlorotic leaf spots virus |
| EPPO | European and Mediterranean Plant Protection Organization |
| IAA | kyselina beta indolyloctová |
| BAP | 6-benzylaminopurine |
| GA3 | gibberellic acid |
| IBA | β -indolylbutyric acid |
| TDZ | thidiazuron |

Seznam obrázků

| | |
|---|---------|
| Obrázek č. 1: Kaménkovitost hrušní, příznaky poškození plodů..... | str. 24 |
| Obrázek č. 2: Kroužkovitá mozaika na listu hrušně | str. 25 |
| Obrázek č. 3: Strom napadený puchýřkovitou rakovinou..... | str. 26 |
| Obrázek č. 4: Strom napadený spálou | str. 27 |
| Obrázek č. 5: Strupovitost projevená na plodu hrušně..... | str. 28 |
| Obrázek č. 6: Rez na listech hrušní..... | str. 29 |
| Obrázek č. 7: Plod, na němž je patrný projev moniliózy..... | str. 30 |
| Obrázek č. 8: Fytoplazmatické chřadnutí patrné na větvích stromu..... | str. 31 |

1 Úvod

V 60 letech, patřily hrušně společně s jabloněmi k nejvíce vysazovaným ovocným stromům. Tyto ovocné stromy lemovali nejenom cesty, kde plnily protihlukovou a protiprašnou bariéru, ale byly i nedílnou součástí ovocných sadů. Naši předkové byli velice zdatní ovocnáři. Součástí snad každého stavení býval dříve ovocný sad a naši předkové dokázali zpracovat vše, co jim ovocné stromy poskytl (Lokoč et al., 2011).

V období před druhou světovou válkou byl podíl pěstovaných hrušní přibližně 10%. S postupem času začal tento podíl klesat. V roce 1984 byl zhruba 5,3% , v roce 1992 pak 4,8% a v roce 2006 jen 3,9% (Nečas, 2010).

Plody se využívaly na přímou spotřebu, na výrobu moštů, marmelád, kompotů, ale i lihovin. Ovocné dřeviny byly nejen součástí statků, ale i částí volné přírody. Mnohdy rostly podél cest, kde představovaly přirozený zdroj potravy, jak pro kolem jdoucí pocestné tak i pro zvěř (především pak včely, ptáky a jiný hmyz.). Nebyly pouhým zdrojem potravy, ale svým vzrůstem formovaly celkový ráz okolní přírody a tvořily přirozenou protihlukovou bariérou (Lokoč et al., 2011).

Bohužel s postupem času pomalu zmizela potřeba vlastního pěstování ovocných dřevin. Důvody tohoto poklesu lze najít např. v úbytku stálého obyvatelstva venkova (dříve jablka, hrušně, meruňky běžnou součástí zahrady), v nedostatku vhodného výsadbového materiálu, kdy upřednostňovány jsou komerční odrůdy, zavádění intenzivního pěstitelského systému (Jetmarová, 1998).

V poslední době je ale našťastí náš i celosvětový trend opačný. Zájem o zachování genotypu těchto dřívějších odrůd, určených pro další šlechtění, rapidně vzrostl. Existují celosvětové sběrové expedice, které mají sloužit k mapování a zaznamenávání výskytu starých a krajových odrůd, které jsou z hlediska pěstování ovoce zajímavé. Nalezené odrůdy jsou pak uloženy ve specializovaných centrech zabývajících se zachováním genotypu těchto odrůd. U nás k těmto centrům patří např. VŠÚO Holovousy s.r.o., kde jsou sbírány genotypy ovoce pro možnost množení a tvoření nových kultivarů, areál Zahradnické fakulty Mendelovi zemědělské a lesnické univerzity v Brně a v Lednici, ZO Bílé Karpaty věnující se tématu „starých“ odrůd již od 90 tých let (Paprštein, Kloutvor, 2007). Neméně důležitými oblastmi jsou pak: arboretum M. Rosslera založeno v roce 1798 v Poděbradech, Valašské muzeum

v Rožnově pod Radhoštěm, oblast Zlína (Tetara, 2006). Staré odrůdy hrušní byly bohužel velmi náchylné k virovým a houbovým onemocněním, proto je nutné nejdříve tyto zachovalé genotypy ozdravit. K tomuto účelu jsou využívány různé metody k potlačení virových chorob a jednou z nich je metoda in vitro.

Opomíjet by se také neměl význam spolků pro ochranu přírody a oblastních spolků, které se na mapování a obnovování pěstování starých odrůd neméně podílejí např. v oblasti Tišnova, Opavska, Krnovska, Osoblažska atd.

2 Cíl práce

Cílem této práce je zpracovat literární rešerši týkající se starých odrůd hrušní (*Pyrus*), jejich přehled, podmínky pro pěstování, nejčastější nemoci toho druhu ovocných dřevin, metody rozmnožování a ozdravování ovocných dřevin s ohledem na rod *Pyrus*. Dále je cílem práce navržení metodiky množení hrušní metodou in vitro a ekonomické zhodnocení takto vypěstovaných sazenic a srovnání s konvenčním způsobem pěstování.

3 Charakteristika a obecný popis hrušní (*Pyrus*)

Hrušně je stromem mírného pásu. Jsou to mohutné stromy dosahující vzrůstu 8 – 18 m, které jsou schopny růstu, jsou schopny růst a plodit 40 - 60 let. Jejich velké bílé květy je předurčují nejen k pěstování pro plody, ale také k okrasným účelům. V současné době existuje asi 3000 známých odrůd hrušní (Baker, 1992).

3.1 Taxonomické zařazení hrušní

Hrušeň je z botanického hlediska zařazena do říše rostlin (*Plantae*), podříše vyšší rostliny (*Cormobionta*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), třída vyšší dvouděložné (*Rosopsida*), řád růžokvěté (*Rosales*), čeledi růžovité (*Rosaceae*), podčeledi jablkovité (*Maloideae*) a rodu hrušeň (*Pyrus*) (Richter, 2002).

3.2 Historický výskyt hrušní

První zmínku o pěstování hrušní v Evropě, konkrétně ve starobylém Řecku, můžeme najít v Homérových zápisech v roce 1000 př. n. l. Zde se dostaly pravděpodobně z oblasti Asie, konkrétně z jihozápadní Číny. V Řecku byly ovocné plody považovány za poměrně tvrdé ovoce a doporučovalo se je povařit. K nim bylo přidáváno víno a tuk (International library of technology, © 1912). Odtud se pěstování hrušní šíří dál po Evropě.

Pravděpodobně nejstarší zmínku o pěstování hrušní u nás, můžeme nalézt v darovací listině knížete Soběslava z roku 1130. Významným obdobím pro pěstitelství pak bylo i období vlády Karla IV (1316 – 1378), který samostatnost a rozvoj pěstitelství podporoval (Tetera et. al., 2006). Největšího rozmachu dosáhlo pěstitelství ovocných dřevin v 17-18 století. Z tohoto období také pochází zahradnický spis od Jiřího Holíka, který se zasloužil mimo jiné i o některé způsoby roubování. Za vlády Josefa II (1741 – 1780) dochází ke vzniku mnoha zemědělských, ovocnářských a vinařských spolků. (Tetera, 2003).

3.3 Podmínky pro pěstování hrušní

Nejvhodnější podmínky pro pěstování jsou v oblastech s nadmořskou výškou 200–300 m n. m., průměrnou roční teplotou 8–9 °C a průměrnými srážkami 500–600 mm (Čejka, 1985). Stromy ke správnému vývoji a růstu potřebují propustnou půdu s hladinou podzemní půdy do 1,8 m. Lepší podmínky pro pěstování hrušní jsou pak v nižších polohách, které jsou chráněny před vlivem silných větrů (Richter, 2002). Podmínky pěstování jsou odvislé od typu odrůd.

3.4 Květ a plod hrušně

Hrušeň se vyznačuje pravidelnými bíle zbarvenými květy, které kvetou od dubna do května. Květy jsou oboupohlavní a tvoří květenství zvané chocholík, které je tvořeno 7 a více květy (Nečas, 2010).

3.4.1 Způsob opylování

Podle způsobu opylování dělíme rostliny, včetně stromů:

- **Samosprašné**- jsou schopné samoopylování, vlastním pylem. Tento druh opylování je však u hrušní velmi vzácný.
- **Cizosprašné**- opylení je možné jen pomocí pylu jiného kompatibilního druhu. K opylení je potřeba přenosu pylu z jedné odrůdy na druhou, což zajišťuje hmyz popřípadě vítr. Příkladem kompatibilních odrůd je např. odrůda Avranžská-Williamsova, Williamsova-Espenrenova (Rechtová, 2000).

Hrušně pěstované na našem území patří především k cizosprašným dřevinám (Řezníček, 2002; Boček, 2007; Nečas, 2010).

3.4.2 Plody hrušní

Ze všech květů se plody nikdy nevyvinou. Nicméně pro normální sklizeň je postačující, když se 4 % - 5% květů vyvine v plod (Nečas, 2010).

Kolem jádřince hrušky se vytváří sklerenchymatické buňky, které jsou tvrdé, a jejich četnost je odvislá od odrůdy. Plodem hrušně je malvice protáhlého tvaru (*pomum*), která se nazývá hruška. Malvice se vyznačuje tím, že uvnitř plodu se nachází jádřinec s velkým množstvím semínek. Jádřinec je ohraničen blánou. Okolo jádřince je dužnina, pro kterou jsou hrušně pěstovány. Celý plod je chráněn slupkou (Koch, 1967).

Plody hrušně, jsou přirozeným zdrojem vlákniny a vitamínů, především vitamínu B. Obsahují až 0.68 mg.kg B2 a 1,14 mg.kg vitamínu B6 (Nečas, 2010).

Dle období, kdy dochází ke zrání plodů, dělíme odrůdy na:

- Letní - plody dozrávají v období červenec až polovina září. Mezi tyto odrůdy patří odrůdy: Williamsova, Červencová, Laura, Clappova a další (Boček, 2007)

- Podzimní - ty dozrávají na podzim, nejčastěji až do poloviny listopadu. Do této skupiny řadíme odrůdu Boskova lahvice, Děkanka Robertova, Dietlova odrůda hrušně, Charneuská hrušeň (Boček, 2007).
- Zimní- plody dozrávají nejdříve až ve druhé polovině listopadu. Zde patří například odrůda Lucasova, Erika a další (Koch, 1967).

4 Odrůdy hrušní

Definice slova odrůda zní: odrůda je soubor pěstovaných rostlin s jednotnými morfologickými znaky, jednotnými cytologickými, fyziologickými, biologickými a hospodářskými vlastnostmi, kterými se odlišuje od jiné odrůdy stejného druhu plodiny. Odrůdy jsou úředně registrované a obchodování s nimi, je řízeno platnými zákony (Chobotský, 2000; Rod et al 1982).

Odrůdy dělíme:

- Odrůdy staré (historické) – vznikly před rokem 1870
- Krajské (místní) – vznikly v letech 1870 - 1950
- Moderní (vyšlechtěné)- vznikly po roce 1950 (Boček, 2008)

4.1 Staré (historické) odrůdy hrušní

Mezi tyto odrůdy řadíme odrůdy, které zde existují již desítek let. Mezníkem mezi odrůdami starými a moderními jsou 50. léta 20. století, kdy došlo k obrovskému pokroku v oblasti šlechtitelství a staré odrůdy začaly ustupovat odrůdám novým vyšlechtěným tak, aby dávaly větší množství kvalitních plodů a aby byly méně náchylné k nemocem, které se u nich začaly projevovat ve větší míře (spála růžovitých, strupovitost, kaménkovitost). Některé staré druhy sice přetrvávají v sadech a zahradách dodnes, některé však zcela vymizely (Tetera et al, 2006). Mezi zachovalé odrůdy, které lze ještě nalézt v zahradách patří např. Boscova lahvice, odrůda Clappova.

Křivice, odrůda Lucasova, belgická odrůda Madame Verté, Pařížanka aj. Patří mezi druhy, které můžeme v dnešní době vidět spíše jen na výstavách ovoce. Od jejich pěstování se ustoupilo až už kvůli náročnosti na podmínky pěstování tak i vzhledem k velmi nízké odolnosti těchto dřevin vůči chorobám a škůdcům (Nečas, 2010).

4.1.1 Přehled vybraných starých druhů hrušní

Za zmínku stojí blíže přiblížit některé druhy starých odrůd hrušní, které byly v minulosti na našem území velmi hojně pěstovány, především pro své plody, patří:

- **Hrušeň Avranšská**

Tato odrůda, původem z Francie, plodí za vhodných podmínek velmi mnoho sladkých a dužnatých plodů. K optimálnímu růstu potřebuje hluboké, výživné půdy, chráněné proti větru. Při těchto podmínkách je velice odolná proti strupovitosti. Patří mezi zimní odrůdy. Sklizeň plodů připadá na období přelomu září a října. Plody velice rychle zrají, proto nejsou vhodné ke skladování. Vhodná je spíše výrobě kompotů (Blažek, 1998).

- **Hrušeň Boscova lahvice**

Patří k nejstarším odrůdám hrušní, které navzdory času, přetrvávají na našich na našich zahrádkách. Objevena byla ve Francii. Tato hrušeň rodí velmi chutné, sladké a poměrně velké plody. Plody dozrávají na přelomu září a října. Je nenáročná na podmínky pěstování, ale bohužel je velmi náchylná strupovitosti, bývá také často napadena rzí nebo spálou. Kvůli poměrně rozložitě koruně potřebuje více prostoru (Koch, 1967).

- **Hrušeň Clappova**

Hrušeň Clappova má svůj původ v Americe. Není náročná na klimatické podmínky, nejvíce jsou pro její optimální růst hlinité půdy. Jde o letní druh hrušní, plody dozrávají v druhé polovině srpna. Plody jsou větší, mají světle zelenou až žlutou barvu, jsou šťavnaté s máslovo-kořeněnou chutí (Koch, 1967).

- **Hrušeň Hardyho máslovka**

Patří do podzimních odrůd hrušní. Pochází z ČR. Tento druh hrušně dorůstá až do výšky 8m. Je to velmi odolná odrůda, které nevdají ani horší podmínky (např. větry, horší půda nebo sušší stanoviště). Je také velmi odolná proti mrazu, nemocem a škůdcům. Plody této odrůdy mají nepravidelný tvar, jsou poměrně velké a mají sladkou, máslovou chuť. Tento druh v dnešní době mizí ze zahrádek a to díky svému vzrůstu, který je pro malé zahrádkářské oblasti nevyhovující (Rechtová, 2000).

- **Hrušeň Křivice**

Pochází z Francie. Tento druh hrušně získal svůj název díky charakteristickému tvaru stopky plodů, která roste do boku. Pro optimální růst tohoto druhu jsou vhodná jižně situovaná stanoviště, která jsou navíc chráněna před větrem. Mezi další podmínky pro zdárné pěstování patří také půda bohatá na živiny a neustálý přísun vláhy. Tato odrůda je poměrně odolná proti strupovitosti, avšak její plody bývají velmi často napadeny červy. Je však výborným „opylovačem“ pro další druhy hrušní. Plody dozrávají koncem září a jsou určeny především k rychlé konzumaci. Rychle se kazí a pak ztrácí chuť. Tento druh je v současné době pěstován velmi sporadicky (Blažek, 1998).

- **Hrušeň Lucasova**

„Lucasova“ hrušeň patří mezi staré francouzské zimní odrůdy, jejichž pěstování přetrvalo v hojné míře i do dnešní doby. Ideální podmínky pro její pěstování splňuje těžká, úrodná, vlhká půda. Pro její pěstování jsou vhodná krytá stanoviště, je velmi náchylná na zimní a jarní mrazy. Další nevýhodou je její sklon ke strupovitosti. Její plody jsou poměrně velkého vzrůstu. Dozrávají v podzimním období a jsou vhodné ke skladování. Tento druh už není v obchodech k dostání (Rechtová, 2000).

- **Hrušeň Madame Verté**

Hrušeň belgického původu, která vyžaduje ke svému růstu kvalitní půdu a v období sucha neustálý přísun vody. Díky menšímu vzrůstu je vhodná i do menších zahrad. Je rezistentní proti chorobám, především proti strupovitosti. Odolná je i proti mrazům. Její plody jsou drobnější a sladký. Její nedostatkem je hnědnutí dužniny během skladování. Je řazena do zimních odrůd. Z obchodů plody této odrůdy vymizely, ale pro svou odolnost její pěstování v zahrádkách stále v určité míře přetrvává (Rupp, 2005).

- **Hrušeň Pařížaňka**

Patří mezi středně odolné odrůdy. Pro její pěstování jsou vhodnější chráněné teplejší oblasti s úrodnou půdou. Květy zdobí hrušeň poměrně krátce. Z toho důvodu potřebuje ve svém okolí zdatné „opylovače“. Patří do zimních odrůd. Díky poměrně silné slupce jsou plody vhodné k dlouhodobějšímu skladování. Plody jsou náchylné na kaménkovitost. Tento druh se v dnešní době už skoro nepěstuje (Nečas, 2010).

- **Hrušeň Williamsova**

Patří k nejznámějším druhům hrušni pěstovaných v oblastech mírného klimatu. Svůj původ má v Anglii. Řadíme ji do letních odrůd. Je to středně vysoký strom s nápadnými květy. Který ke svému optimálnímu růstu potřebuje dostatek závlahy. Náchylná je jen k poškození při jarních mrazech. Plod má zelenou barvu a velmi sladkou, kořeněnou sladkou chuť. Špatně se skladuje, nejvhodnější k přímé konzumaci ihned po utržení. Plody se velmi často používaly spíše k výrobě destilátů (Blažek, 1998).

4.2 Krajové odrůdy

Jak již název napovídá, jedná se o odrůdy, jejichž výskyt je spojen s určitou lokalitou. Dle Tetera et al (2006) se jedná o odrůdy, k jejichž rozmnožení v daném kraji došlo nahodile, bez odborného zásahu.

Jedná se tedy o odrůdy spojené s výskytem v určité oblasti. Příkladem pak může být Solanka, jejíž výskyt je spojován se severními Čechy-Solany na Libochovicku (Tetera, 2004), hrušeň „Jačmenka nebo také Majdalenka“, která je spojena oblastí výskytu Bílých Karpat (Tetera, 2006). Dalším příkladem pak je hrušeň „Oharkula“ pruhovaná pěstovaná na Hornácku (Vaněk, 1936).

4.3 Moderní odrůdy

Moderní odrůdy vznikly cíleným šlechtěním starých odrůd za účelem zlepšení vlastností původní odrůdy. Mezi tato vlastnosti patří především množství a kvalita plodů, odolnost proti chorobám, odolnost proti chladu a mrazu.

Příkladem nových vypěstovaných odrůd, které vznikly na základě šlechtění původních starých odrůd za účelem zvýšení odolnosti proti chorobám a klimatickým podmínkám a také pro zvýšení plodnosti jsou :

- **Odrůda Laura-** vznikla šlechtěním odrůdy Boskovicova lahvice, je odolná proti nízkým mrazům, rodí poměrně velké množství středně velkých plodů (Nečas, 2010)

- **Wiliamsova červená**- odrůda vzniklá na základě mutace původního druhu. Je odolná proti mrazu a proti strupovitosti (Richter, 2004)
- **Kumoi, Hosui atd**-odrůdy vypěstované v Číně (Nesrsta, 2011)

5 Choroby hrušní

5.1 Virová onemocnění

5.1.1 Kaménkovitost hrušní (*Pear stony pit virus*) PSPV

➤ Příčina

Kaménkovitost hrušní je způsobena virem rodu *Foveavirus*, z čeledě *Betaflexiviridae* pojmenovaným Apple stem pitting virus. Některé druhy jsou více náchylné k tomuto onemocnění např. Boskova lahvice, Hardyho máslovka (Hluchý et. al., 1997).

➤ Příznaky nákazy

Napadený plod poznáme podle tmavých „ostrůvků“. Vir napadá pletivo plodu, dochází k poškození jeho struktury, dochází k viditelné deformaci plodu. Charakteristickým znakem kaménkovitosti je tvorba sklerenchymatických buněk tvořících se uvnitř plodu. Plody jsou nevhodné ke konzumaci. K přenosu viru dochází především při vegetativním množení (Alfrord, 1995; Cagaň et. al., 2015).

➤ Ošetření a eliminace

K přenosu viru dochází při roubování nebo očkování stromů. Kontrolou sázecích stromů v pěstitelských školkách, eliminujeme nakažení hrušní tímto virem. Při napadení stromů tímto virem je nutná likvidace celého stromu (Cagaň et. al., 2015; Čača et. al., 1981).

Obrázek č.1 : Kaménkovitost hrušní, příznaky poškození plodů



5.1.2 Kroužkovitá mozaika hrušně (*Apple chlorotic leaf spots virus*) ACLSV

➤ Příčina

Příčinou onemocnění je virus označován také jako virus ACLSV. K jeho se přenosu dochází vegetativním způsobem. „Hardyho“ hruška je druhem hrušky, u které je toto virové onemocnění nejčastěji indikováno (Peiker et. al., 1974).

➤ Příznaky

Napadení hrušně tímto virem je patrné především na listech, kde vytváří nažloutlé skvrny. Vir napadá pletivo listů, které pak nerovnoměrně narůstá. Z tohoto důvodu dochází k poškození tvaru listů (Hluchý et. al., 1997).

➤ Ošetření a eliminace

Stejně jako u virového onemocnění „Kaménkovosti“ lze napadení předcházet výsadbou zdravých, nenapadených hrušní (Cagaň et. al., 2015; Čaca et.al., 1981; Hluchý et. al., 2017).

Obrázek č.2: Kroužkovitá mozaika na listu hrušně



5.1.3 Puchýřkovitá rakovina kůry (Pear blister cancer viroid) PBVVd

➤ Příčina

První příznaky napadení hrušní tímto virovým onemocněním nemusí být z počátku vůbec znát. Příznaky závisí na stáří stromu. Velmi náchylná k této chorobě je odrůda Wialliamsova (Hluchý, 1997).

➤ **Příznaky**

Virové onemocnění, které není v prvopočátku napadení stromu viditelné. Nejvíce jsou symptomy patrné brzy na jaře na kůře dvouletých výhonků, kde jsou patrné puchýřky. Hlavním rozpoznatelným symptomem jsou tedy puchýřky vznikající na kůře stromů. Tyto puchýřky později praskají a odpadávají (Hadidi et. al., 2003; Hluchý et. al., 1997).

➤ **Ošetření a eliminace**

Viróza se šíří při roubování, očkování atd. Šíření lze eliminovat použitím zdravé rostliny při vysazování (Hluchý, 1997).

Obrázek č.: Strom napadený puchýřkovitou rakovinou



5.2 Bakteriální onemocnění

5.2.1 Spála růžovitých

➤ Příčina onemocnění

Je neznámější bakteriální onemocnění hrušní. Spála je způsobena bakteriemi *Erwinia amylovora* (Hluchý, 1997). Bývá považována za velmi destruktivní onemocnění jabloní a hrušní s obrovskými ekonomickými dopady.

➤ Projev onemocnění

Onemocnění se projevuje hnědnutím zelených částí stromu, květů, i plodů, odumíráním vegetačních vrcholů. Napadené větve mají „hákovitý“ vzhled. Toto onemocnění je nebezpečné především z hlediska rychlosti šíření, ke kterému přispívá hmyz, ptáci, ale také déšť a vítr (Hluchý, 1997). Toto onemocnění podléhá karanténním opatřením podle zákona o rostlinolékařské péči Sb. zákonů 326/2004 a pozdějších předpisů (vyhláška 382/2011 Sb.). Často může být zaměněno s napadením vosičkou bodruška hrušková. K diagnostice onemocnění slouží speciální test na obsah patogenů v rostlině. Test je prováděn na zelených výhoncích nebo na nezralém plodu stromu. Test je ale poměrně časově náročný.

➤ Ošetření

Řešením pro napadané stromy je prořezávání napadených částí a jejich následná likvidace. Chemický postřik s obsahem mědi, pak pomáhá předcházet vzniku toto onemocnění, avšak ne zcela ekologický postup, od kterého se v současné době opouští. Dalším řešením je postřik s obsahem antibiotik, ten je ovšem v Evropě zakázán z důvodu možného vzniku rezistenčního kmene bakterie (Hluchý, 1997).

Obrázek č. 4: Strom napadený spálou



5.3 Mykózy

5.3.1 Strupovitost

➤ Příčina onemocnění strupovitosti

Strupovitost způsobuje houba *Venturia pirina*. Houba napadá a poškozuje květy, listy, plody i letorosty. Šíření infekce je spojeno s jarním obdobím, kdy nadprůměrné srážky a teplota přispívají k šíření askospor, které jsou primárním zdrojem nákazy, protože pro šíření askospor je důležitá vlhkost na listech a teplota okolo 15°C (Hluchý, 1997).

➤ Projev nákazy

Pro onemocnění jsou charakteristické zelené až tmavé skvrny na spodní straně listů. Rozšířená viróza způsobuje opadavou listů. Stejně skvrny můžeme pak i na plodech (obr.12). Skvrny jsou tmavé, ohraničené. Napadený plod pak nenarůstá rovnoměrně a má deformovaný tvar. Napadané větve mají tmavé fleky, lézy (Hluchý, 1997).

➤ Ošetření a eliminace

Preventivním opatřením je dodržení dostatečného sponu mezi jednotlivými stromy. Pro zastavení šíření nákazy se doporučuje provést prořezání stromu, eliminování zdroje nákazy pomocí vhodného chemického postřiku. Doporučuje se také použít preventivní postřiky - fungicidy jako: Baycor 25 WP, Hattrick 50 WP, Mythos 30 SC a Rubigan 12 EC (Hluchý M., 1997).

Obrázek č. 5: Strupovitost projevená na plodu hrušně



5.3.2 Rez hrušňová

➤ Příčina nákazy

Onemocnění je způsobeno houbou *Gymnosporangium sabinae*. Nákaza rzí ke svému šíření potřebuje hostitele a mezihostitele. Nejčastějším hostitelem je jalovec chvojka (*Juniperus sabina*), ale mohou jím být i jiné druhy jalovců a mezihostitelem je v tomto případě hruška (Kocourek et. al., 2015)

➤ Projev nákazy

Typickým znakem pro napadený strom jsou hnědo-rezavé fleky na listech napadaného stromu. Při velkém % napadení stromu dochází k poškození plodů (Blumer, 1963; Gebauer et. al., 2001)

➤ Ošetření a eliminace

Eliminace výskytu hostitele – jalovce, popřípadě dodržení vhodné vzdálenosti hostitele od hrušní (cca 150m) zabraňuje šíření této nemoci.

Proti rzí prozatím neexistují žádné speciální prostředky. Na ochranu stromu před touto nákazou se využívají prostředky proti strupovitosti (Kocourek et. al., 2015)

Obrázek č. 6: Rez na listech hrušní



5.3.3 Monilióza nebo také monilionová hniloba hrušní

➤ Příčina nákazy

Příčinou choroby jsou cizopasně houby rodu hlízenka (*Monilinia*), které napadají především plody a letorosty. Nejčastěji se setkáváme s napadením hlízenkou ovocnou (*Monilinia fructicola*), hlízenkou chabáou (*Monilinia laxa*). Hlízenka ovocná (*Monilinia fructigena*) je na seznamu karanténních škodlivých organismů EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (Hluchý et. al., 1997).

➤ Projev nákazy

Choroba se projevuje hnědnutím a uvadáním květů, hnitím plodů a výskytem lézí na větvích (Blumer, 1963)

➤ Ošetření a eliminace

Nezbytným opatřením při projevu nákazy je odstranění napadených větví a plodů (Hluchý et al, 1997). Dalším faktorem pro zabránění choroby je postřik fungicidy.

Obrázek č. 7: Plod, na němž je patrný projev moniliózy



5.4 Fytoplazmové onemocnění

5.4.1 Fytoplazmové chřadnutí hrušní (*Phytoplasma pyri*)

➤ Příčina

Nákaza způsobena napadením stromů eubakteriemi patřícími do třídy Mollicutes, řádu *Acholeplasmatales* a čeledi *Acholeplasmataceae*, synonymum *Candidatus Phytoplasma pyri*. Hlavním přenašečem je hmyz (Kocourek et. al., 2015).

➤ Příznaky nákazy

Příznakem napadení je pomalé nebo rychlé chřadnutí stromu, prvotně jsou viditelné náhlé změny barvy listů. Příznaky se mohou lišit v závislosti na vitalitě rostliny, na odrůdě, na stanovišti atd. Z hospodářského hlediska patří fytoplazmatické chřadnutí mezi jedno z nejvýznamnějších (Seemuller et. al., 2004)

Podle platné právní úpravy musí být podezření na výskyt ohlášeno Ústřednímu kontrolnímu a zkušebnímu ústavu zemědělskému nebo obecnímu úřadu. Ověřené výskyty se likvidují a v oblastech výskytu jsou vyhlášena karanténní opatření, která mají zabránit dalšímu šíření onemocnění (Hluchý, 1997).

➤ Ošetření a eliminace

Napadené rostliny musí být zlikvidovány. Preventivním opatřením je eliminace zatížení stromů nedostatkem vody, nevhodným prostředím, stálý přísun živin aj. Mezi důležité preventivní opatření patří také využití přirozených nepřátel larev jako jsou ploštice hladěnky (*Anthocoris* a *Orius*), slunéčko (*Coccinellidae*), zlatoočko (*Chrysopidae*), škvor obecný (*Forficula auricularia*), pavouci (*Araneaea* eliminace hmyzu, které nemoc přenáší). Preventivním opatřením je pak při výsadbě použití zdravých rostlin (Davis et. al., 1992; Jenson et. al., 1964; Kocourek et. al., 2015).

Obrázek č. 8: Fytoplazmatické chřadnutí patrné na větvích stromu



6 Metody rozmnožování

6.1 Generativní způsob rozmnožování

Pohlavní rozmnožování pomocí semen, není využíván tak často jako způsob vegetativní způsob. Semena jsou nositeli genetických informací obou kultivarů a proto nově vzniklá rostlina nebo strom, nebude mít stejné vlastnosti jako jeden původní kultivar, ale ponese informace od obou (Schuchman, 1981).

6.2 Vegetativní způsob rozmnožování

Rozmnožování pomocí vegetativních částí rostlin vznikají identické nové rostliny se shodnými vlastnosti původního kultivaru. Je to nejrozšířenější způsob rozmnožování dřevin je pomocí semen (Boček, 2008).

Vegetativní způsob rozmnožování dělíme na:

- **Autovegetativní metody rozmnožování**
- **Xenovegetativní metody rozmnožování** (nepřímé vegetativní rozmnožování, štěpování)

6.2.1 Autovegetativní metody rozmnožování

Jsou to metody založené na množení dceřiné rostliny přímo z rostliny matečné. Podle toho, kdy dochází k oddělení dceřiné rostliny, rozdělujeme metody:

- **Metody před zakořeněním:** patří sem dělení, hřížení, odkopky, dělení trsů, množení odnožemi, množení hlízami
- **Metody po zakořenění:** řízkování

6.2.1.1 Řízkování

Při řízkování je oddělena samostatná část rostliny, nejčastěji vrcholová část a umístěna do substrátu k zakořenění. Řízkování je velice rozšířená metoda rozmnožování.

Rozdělení dle místa odběru řízku:

- Osní (z letorostu) : mohou být bylinné, polodřevité nebo dřevité
- Kořenové
- listové

Ovocné stromy jsou rozmnožovány především dřevitými řízky. Kdy části původního kultivaru jsou odebrány a vloženy ve svazcích do půdy (Henderson, 1919)

Řízkování je využito při metodách pěstování bezvirových rostlin – metody mikropropagace viz.kapitola 6.3.

6.2.2 Xenovegetativní metody rozmnožování

Nová rostlina vzniká ze dvou geneticky odlišných částí, které nazýváme podnož a roub (ušlechtilá odrůda). Tento způsob rozmnožování je nejčastěji využíván pro množení stromů (Boček, 2008)

Roubování: na podnož je přenášen pupen včetně dřeva na podnož. Je to méně častý způsob rozmnožování než očkování. Nejčastěji je roubování prováděno v korunové části, ale může být zavedeno také v kořenové části (méně časté) (Vávra, 1957)

Existuje mnoho způsobů jak roubovat: roubování po boku, Tittelův způsob, plátování, sedélkování, roubování do rozštěpu a další.

Očkování: na podnož je přeneseno pouze očko s malou dřevnatou částí. Podle toho, jak je přenos proveden, dělíme tento způsob rozmnožování na: T-očkování, Forteovo nikolování, manžetové očkování (Říha, 1937)

6.3 Mikropropagace rostlin

Mikropropagace rostlin je komplex technik *in vitro*, využívaných pro proces množení nebo klonování rostlinného materiálu v laboratorních podmínkách (Murashige et. al., 1962). Mezi nejběžnější techniky patří:

- Množení kultur vzrostných vrcholů
- Množení kultur stonkových řízků
- rozmnožování přímou organogenezí
- adventivní embryogeneze - dochází ke vzniku embrya, z něhož je pak vypěstována celá rostlina.

Proces mikropropagace *in vitro* můžeme rozdělit do fází (Bechyně et. al., 2006):

- Příprava explantátů
- Iniclace
- Množení
- Prodlužování prýtů
- zakořeňování

Blíže bude popsáno v kapitole 7.

7 Metoda in vitro (kultura rostlinných explantátů)

Metoda in vitro je moderní způsob umožňující pěstování čistých kultur ve skleněných laboratorních nádobách. Proto název in vitro = ve skle. V současné době se využívají i moderní nádoby plastové. Metoda je náročná na dodržení podmínek prostředí, sterilitu používaných roztoků, ale i na složení kultivačního média.

7.1 Vybavení

Pro provedení metody je důležité vybavení laboratoře, k němuž patří: chladnička, mraznička, pH-metr, laboratorní váhy, sušička, mikrovlnná trouba, magnetické míchadlo pro míchání zásobních roztoků, hřídelové míchadlo s ohřevem pro míchání pěstebních agarových méd, autokláv (parní tlakový sterilizátor) pro sterilizaci kultivačních médií, horkovzdušná sušárna pro sterilizaci chemického skla a nástrojů, flow-box (je důležitý při přenosu rostlin do média, vše musí být sterilní), kultivační místnost nebo kultivační box s řízenou teplotou a osvětlením (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011)

7.2 Materiál a chemikálie

Další důležitou položkou pro úspěšné provedení metody jsou vhodné a čisté chemikálie a pomocný materiál jako jsou: chemikálie pro přípravu kultivačních médií, filtrační papír, papírové ručníky, laboratorní sklo (Erlenmeyerovy baňky, sklenice s uzavíratelným transparentním víčkem, zkumavky, kádinky, odměrné baňky, odměrné válce, Petriho misky apod.), antibakteriální mikrofiltry, stříčky, míchadla, permanentní popisovač na sklo a na plast, skalpel, pinzety, pipety (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011)

7.3 Chemikálie pro kultivaci in vitro

Dusičnan amonný (NH_4NO_3), dusičnan draselný (KNO_3), heptahydrát síranu hořečnatého ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), difosforečnan draselný (KH_2PO_4), chlorid vápenatý ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), síran železnatý ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), síran manganatý ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), síran zinečnatý ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), molybdenan sodný ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), síran mědnatý ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), kyselina boritá (H_3BO_3), jodid draselný (KI), chlorid kobaltnatý ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), chlorid hlinitý ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sacharóza, agar (B&V agar S 1000, Itálie), karagenan, BAP, GA_3 , NAA, thiamin, kyselina nikotinová, glycin, pyridoxin, myo-inositol, chlorid rtuťnatý (HgCl_2), chlornan sodný

(NaClO), etanol, denaturovaný etanol, NaOH, KOH, širokospektrální antibiotikum ProClin200 (Sigma-Aldrich, USA), komerčně připravená média Murashige a Skoog (1962) a DKW/Juglans médium (Duchefa, Biochemie, Nizozemsko), ribavirin, acyclovir.

Metoda je vhodná pro pěstování celistvých rostlin, ale i pro jednotlivé části, které jsou nositeli genetického kódu dané rostliny (např. pletivo, izolované jednotlivé buňky atd.) Jednotlivé části rostliny, odebrané pro účel pěstování in vitro, se nazývají explantáty (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011)

7.4 Médium

Pro pěstování rostlinných kultur metodou in vitro je zásadní „umělá“ půda – médium, ve které celý proces probíhá. Médium obsahuje látky, které podporují vývoj a růst buněčných a rostlinných tkání. Jako jsou makroprvky, mikroprvky, sacharidy, zpevňující látka-agar (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011)

7.4.1 Makro a mikro prvky

Tyto prvky jsou velice důležité pro správný vývoj růst a vývoj rostlinných buněk a částí. Prvky jsou přijímány v podobě iontů, některé obsahuje i agar. Mezi faktory ovlivňující množství přijímaných prvků patří pH, teplota rostlinné části, koncentrace dalších prvků (Davies et al., 2004)

Makroprvky: N, P, K, Ca, Mg a S

Mikroprvky: Mn, Zn, Mo, Co, Cu, B.

7.4.2 Sacharidy

Rostliny pro svůj vývoj potřebují zdroj energie. Tímto zdrojem se stávají sacharidy obsažené v médiu. Nejčastěji používaným sacharidem pro tyto účely je sacharóza. Sacharóza inhibuje tvorbu chlorofylu a rostliny přechází na heterotrofní způsob výživy, jejich vývoj je závislý na příjmu organických látek, které si samy nevytvořily.

Dalšími sacharidy, které mohou být použity místo sacharózy jsou: glukóza, fruktóza, rafinóza, maltóza, laktóza, kukuřičný sirup, mannitol, sorbitol aj. (Davies et al., 2004).

7.4.3 Agar

Média pro pěstování rostlin in vitro mohou být tekutá nebo tuhá. Tuhost média je nejčastěji docílena přidávkem agaru, ale mohou to být i jiné látky např. fytogelatinu či jiné látky, které vytváří želatinovou konzistenci. Agar je nehomogenní směs polysacharidů. Většinou obsahuje i menší množství makro a mikro prvků, aminokyseliny a vitamíny (Procházka et al, 1997)

7.4.4 Fytohormony

Rostlinné hormony (fytohormony) jsou přirozeně se vyskytující organické látky, které ovlivňují fyziologické procesy v rostlinách ve velmi nízkých koncentracích (Davies et al., 2004). Fytohormony působí na rostlinu stimulačně nebo naopak inhibičně. Jsou například využívány pro tvorbu kořenů, organogenezi atd. (Procházka et al, 1997).

Mezi nejčastěji používané fytohormony patří:

- auxiny,
- cytokininy,
- gibereliny.
- Kyselina abscisová
- Etylen aj.

➤ Auxiny

Obsah auxinů je nejvyšší u mladých rostlin a orgánů. Podporuje organogenezi. Auxiny bývají využity pro stimulaci kořenových částí rostlin, ale působí také jako herbicid. Médium s obsahem auxinů vyžaduje uskladnění na temném místě.

1) Přirozené auxiny:

kyselina indolyl-3-octová (IAA), kyselina indolyl-3-máselná (IBA), kyselina 4-chlor - IAA, kyselina fenylacetová (PAA) (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011).

2) Syntetické auxiny:

- naftalenové kyseliny-kyselina α -naftyloctová (NAA) a β -naftyloctová (NOA),
Chlorfenoxykyseliny:2,4-dichlorfenoxyoctová(2,4-D),
2,4,5trichlorfenoxyoctová (2,4,5-T), 2- metyl-4- -chlorfenoxyoctová (MCPA),
Benzoové kyseliny: Kyselina 2,4,6- a 2,4,5-trichlorbenzoová, dicamba,
- deriváty kyseliny pikolinové- Picloram (Procházka et al, 1997)

➤ Cytokininy

K objevu cytokininů, jako samostatné skupiny rostlinných hormonů, došlo v polovině minulého století při hledání faktorů stimulujících dělení rostlinných buněk (Jablonski & Skoog, 1954; Miller et al, 1955).

Cytokininy plní funkci hormonální regulace explantátových a buněčných kultur při dělení buněk vrcholových částí stonku. Jeho účinek je opačný než účinek auxinu. Způsobuje větvení rostlin, podporuje vegetativní růst, zpomaluje stárnutí. Využívá se jako podstatná složka kultivačních médií pro multiplikaci rostlinného materiálu.

1)Přirozené cytokininy

- Je známo cca 30 druhů
- Nejznámější jsou kinetin (6-furfulaminopurin) a zeatin

2)Syntetické cytokininy

- benzylaminopurin (BAP) a isopentenyladenin (2iP)

➤ Gybereliny

Jsou syntetizovány všemi částmi rostlin, nejvíce v oblasti růstu jako jsou pupeny, zelené části rostlin, v semenech. Plní funkci organogeneze, ovlivňují růst rostlin, klíčení semen, regulují vývoj plodů aj.

8 Léčebné metody pro získání viruprostých odrůd

Pro metodu kultivace rostlin in vitro je základem získání viruprostých částí nebo buněk původní rostlin. Jako léčebný prostředek je proto využívána termoterapie a chemoterapie.

8.1 Termoterapie

Léčebná metoda založená na působení zvýšené teploty 34 - 39°C na nakažené kultivary, kdy dochází k eliminaci virů. Bohužel zvýšená teplota nevyhovuje nejen virům ale i samotným rostlinám a mnoho z nich, působení vysoké teploty nepřežije. Metoda vyžaduje poměrně drahé zařízení pro regulaci a udržení stabilizované vysoké teploty (Paprštejn et al., 2007).

8.2 Chemoterapie

Základem této metody jsou chemické prostředky s virostatickými účinky, které jsou přidány do kultivačního média. Virostatika jsou citlivá na teplotu, proto jsou do média přidávány až po sterilizaci a to pomocí antibakteriálních mikrofilmů. Kultivace probíhá za teploty 22 – 26 °C. Příkladem virostatika je např. ribavirin (Virazol. P), který je nejčastěji využívanou látkou pro chemoterapii. Je používán v různých koncentracích- ze studií se ale nejvíce osvědčilo působení ribavinu o koncentraci v rozsahu 25 – 50 mg/l. Vysoká koncentrace ribavirinu může mít naopak špatný vliv na vývoj rostlin. (Paprštejn et al., 2007).

8.3 Účinnost léčby

Účinek léčby obou metod byl ověřen na in vitro namnožených rostlinách hrušně *Pyrus pyrifolia* napadené virem ACLSV a virem ASGV. Rostliny byly ošetřeny třemi způsoby a výsledky byly porovnány.

➤ Použití chemoterapie

K léčbě napadené hrušně byla použita metoda chemoterapie. Jako virostatikum byl použit ribavirin v koncentraci od 15 do 25 µg / ml po dobu 5-30 dnů. Pokusem bylo

zjištěno, že chemoterapie by mohla vést k růstu a proliferaci hrušně pěstované in vitro. Účinnost proti virům byla velice malá.

➤ Použití termoterapie

Ošetření termoterapií bylo provedeno za teploty $35 \pm 0,5$ °C. Termoterapie je účinná metoda, ale ne všechny rostliny působení teploty přežijí. Z pokusu vychází, že nejúčinnější pro léčbu viróz ACLSV a ASGV vychází kombinace obou metod (Hu, G.J. Hong, N. Wang, L.P. Hu, H.J. et al, 2012).

9 Metodický postup pro množení metodou in vitro

Metoda in vitro je laboratorní metoda, která má vysoké požadavky na prostředí, chemikálie i vybavení. Vše musí být sterilní, zbavené virových, bakteriálních a houbových zárodků.

➤ Odběr materiálu, založení primární kultury

V první fázi dochází k odběru roubov z ověřené odrůdy v zimním období, dokud nejsou pupeny narašeny. Rouby stříháme z jižní strany koruny řádně vydezinfikovanými nůžkami. Vhodné je, abychom získali 50 pupenů od jednoho klonu. Označí se, vloží do mikrotenového sáčku a na převoz uskladní do chladové tašky (Malá a Cvrčková, 2013). Pro zachování odrůdové stability se doporučuje zakládat in vitro kultury z vegetačních vrcholů zpravidla větších než 0,2 mm. (Paprštejn a Sedlák, 2014)

➤ Příprava živného média

K indukci organogeneze použijeme modifikované médium MS (MURASHIGE,SKOOG 1962). Na jeden litr média potřebujeme 300 ml destilované vody, 6g agaru, makroelementy, mikroelementy doplníme z připravených zásobních roztoků a to 100 mililitrů makroelementů a 10 mililitrů mikroelementů, 5 mililitrů chelátu železa, 30g sacharózy jako zdroje energie, regulátory růstu BAP 0,2 miligramů, GA3 3miligramy a IBA 0,1mg, nebude chybět ani 10 miligramů glutaminu a 2 miligramy glycinu. Celkový objem se doplní destilovanou vodou na 1 litr. Před sterilizací se upraví potenciál vodíku pH na 5,8. Připravené médium rozlijeme do kultivačních nádob, které uzavřeme alobalem a sterilizujeme v autoklávu 20 minut při teplotě 121°C a tlaku 100kPa. Po vyjmutí z autoklávu je nutné nechat vychladnout a ztuhnout (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011).

➤ Sterilizace

Vegetační vrcholy musí být opláchnuty tekoucí vodou, čímž rostlinu zbavíme mikrobiální flóry, která by pak mohla způsobit infikování rostliny. Takto omyté vrcholy seřízneme na konci zešikma a ponoříme seříznutými konci do vody a necháme rašit 2-3 týdny v pokojové teplotě.

Z nových rašicích pupenů vypreparujeme vrcholy o velikosti 5-10 mm ve sterilním prostředí flow-boxu odstraněním šupin pupenů.

Jako sterilizační činidlo použijeme chlorid rtuťnatý v koncentraci 0,15 % se sterilizační dobou jedna minuta, který se na základě výsledků studií jeví jako nejlepší možný prostředek pro sterilizaci získaných explantátů. Jako smáčedlo lze použít i několik kapek běžně užívaných, komerčně vyráběných prostředků na mytí nádobí (Jar). Smáčedlo umožňuje lehčí proniknutí sterilizačního prostředku do případné kontaminované oblasti. (Paprštejn a Sedlák, 2014)

Po sterilizaci opláchneme vypreparované pupeny destilovanou vodou. Takto získané explantáty zasadíme do vychladlého sterilního indukčního média po jednom kusu a budou uzavřeny alobalem a popsány. Přenos počátečního explantátu do živné půdy musí probíhat za přísně sterilních podmínek. Aby nedocházelo ke kontaminaci a znehodnocení, používáme vysterilizované laboratorní sklo a pracovní nástroje v horkovzdušné troubě. Povrchy ve flow-boxu je potřeba neustále dezinfikovat nejlépe 70% lihem. Samozřejmostí je použití roušek, chirurgických rukavic. Následně pak necháme růst přibližně 1 měsíc v prostředí kultivační místnosti. Zajistíme světelnou periodu, kdy 16 hodin bude světlo a 8 hodin tma při 22 stupních celsia. Průběžně sledujeme, jestli se neprojeví případná kontaminace. Takto napadané explantáty ihned zlikvidujeme (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011).

➤ **Množení - multiplikace**

Po úspěšném převedení hrušně do podmínek in vitro na indukčním médiu bez nežádoucích kontaminací přistoupíme k multiplikaci. Po čtyřech týdnech od založení primární kultury přepasážujeme na čerstvé multiplikační médium. Mikrořízky budou nasazeny po 10 kusech do sklenice. Použita bude sklenice o objemu 330 ml a naplněna 50 ml média a uzavřena víčkem. Pasážovat budeme za dalších 4 – 5 týdnů. Tato fáze by měla vést k růstu adventivních výhonů a namnožení rostlinného materiálu. Jako výchozí lze použít MS médium podle (Murashige a Skoog 1962) s vysokým obsahem fytohormonů - cytokininů. Cytokininy, zaručují stimulaci buněčného dělení, podporu růstu nových výhonků, regeneraci. Nejčastěji využívaným cytokininem, pro množení rostlin z čeledi růžovitých, patří BAP (6-benzylaminopurin). Použití TDZ v koncentraci 3,3miligramů na litr zajistí vyšší počet výhonů na jednu kulturu (Malá a Cvrčková, 2013)

➤ **Zakořeňování**

Po dostatečném namnožení prýtů, můžeme přistoupit k další fázi, zakořeňování. Tato fáze probíhá též v prostředí laboratorních podmínek. Připravíme si vyšší sklenice o objemu nejlépe 600ml. Zakořeňovací médium se skládá z 1/3 MS média a 1/3 vitamínů, 5 g/l sacharózy, 6g agaru. Pro fázi tvorby kořenů je důležitý obsah auxinů v médiu. Auxiny vyvolávají a podporují růst nových kořenů. Mezi tyto látky, které vyvolávají růst kořenů, řadíme IBA (kyselina beta indolylmásečná), které přidáme 0,5miligramů na litr. IAA (kyselina beta indolyloctová). Auxiny se přidávají do média až po sterilizaci, protože nesnesou vysoké teploty. Do média se proto přidávají až po sterilizaci a to přes mikrofiltr, který chrání nové rostlinky před bakteriálním napadením. Do vychladlého média nejlépe až druhý den po sterilizaci vkládáme pomocí pinzety mikrořízky, které začínají kořenit třetí týden. Za čtyři až pět týdnů dochází k převodu ze sklenic a postupné aklimatizaci ve skleníku (VŠÚO Holovousy s.r.o – kolektiv autorů, 2011).

➤ **Chemoterapie**

Abychom získali viruprosté rostliny, přidáme do média i antivirotikum ribovirin o koncentraci 25 mg/l. Antivirotikum stejně jako auxiny nesnese vyšší teploty, proto ho přidáváme do média až po sterilizaci.

Růst nových rostlin probíhá za řízené teploty 24/21 °C v kultivační místnosti.

➤ **Aklimatizace rostlin na venkovní prostředí**

Po fázi „kořenění“ mohou být namnožené rostliny pomalu převáděny do normálního prostředí. Před uvolněním do „ex vitro“ prostředí, bývají rostliny ještě testovány na viry.

Rostliny budou vyjmuty ze sklenic a zbaveny zbytků agaru, aby nedocházelo k zahánění kořenů a k následné kontaminaci. Přesazujeme do nasáklého substrátu vodou, vylehčeného perlitem. Důležité je zajistit 100% vlhkost prostředí a teplotu 22 stupňů celsia. Preventivně ošetříme přípravkem na plíseň. Postupně snižujeme vlhkost až na hodnotu 50%. Rostliny je nutné v této fázi přihnojovat nižší koncentrací MS média bez agaru, fytohormonů a sacharózy. Za osm týdnů budou aklimatizovány na venkovní prostředí

10 Ekonomické zhodnocení metody in vitro

Metoda in vitro je metoda, kdy poměrně rychlým způsobem můžeme získat velké množství viruprostých rostlin. Z ekonomického hlediska je tato metoda finančně náročnou metodou, hlavně co se týče vstupních nákladů na vybavení laboratoře.

Základní vybavení:

| | |
|-----------------------------------|------------------|
| Parní sterilizátor | 200.000,- |
| Flow box | 103.200,- |
| Horkovzdušná sušárna | 70.000,- |
| Reverzní osmóza | 25.000,- |
| Myčka | 60.000,- |
| Chladnička | 64.000,- |
| Váhy | 48.250,- |
| Bakteriocidní lampa | 4.379,- |
| Laboratorní sklo | 25.000,- |
| Nástroje | 4.900,- |
| pH metr | 5.600,- |
| Zářivky | 20.000,- |
| Skladovací a manipulační zařízení | 127.500,- |
| Ostatní | 40.000,- |
| Celkem | 797.829,- |

Výpočet nákladů pro množení hrušně in vitro (1 sklenice):

| | |
|----------------------------|--------------|
| Indukční medium | 14,15 |
| Multiplikace plus práce | 14,50 |
| Zakořenění plus práce | 14,- |
| Energie plus ostatní | 10,- |
| Ozdravování (ribavirin) | 2,81 |
| Převod rostliny do ex vivo | 9,70 |
| Celkem | 65,16 |

Výsledná cena jedné sazenice je 65,16 bez DPH.

Náklady na 1 sazenici pořízenou z generativního množení s očkováním jsou 52,50 bez DPH.

Z těchto výsledků vyplývá, že množení metodou in vitro je sice dražší, ale výsledné rostliny, které jsou bezvirozní, dosahují lepších pěstitelských výsledků. Dále je snadné snížit náklady na jednu rostlinu množstvím vyprodukovaných výpěstků metodou in vitro. V neposlední řadě je nutné uvést i velkou výhodu v možnosti pěstování celoročně v laboratorních podmínkách.

11 Závěr

Metoda *in vitro* je moderní a novodobý způsob množení rostlin, ve skleněných laboratorních nádobách. Nové rostliny jsou prosté od jakéhokoliv nakažení ať už virového, bakteriálního nebo mykózního původu. Náročnost metody spočívá v přísném dodržení podmínek: sterilní prostředí, stálá teplota v místnosti, světlo.

Vhodnou kombinací kultivačních médií, fytohormonů, regulátorů růstu lze pomocí této metody namnožit velké množství rostlinných druhů. Další výhodou této metody je také možnost celoroční produkce zdravých odrůd na malé ploše. (Sedlák a Paprštejn 2009).

Nález vhodné kombinace všech těchto faktorů vyžaduje notnou dávku trpělivosti a vytrvalosti. Ale naštěstí existují instituce, které se tímto výzkumem intenzivně zabývají a posouvají tak množení zdravých kusů rostlin dopředu.

Léčebné metody prováděny *in vitro* - termoterapie a chemoterapie, podléhají neustálému vývoji a studiím. Problémem u termoterapie je velké množství uhynulých rostlin v důsledku špatného snášení dlouhodobého působení vysokých teplot. U chemoterapie je to pak nalezení správné kombinace vhodné koncentrace virotika pro různé druhy virů u různých druhů rostlin. Kombinací existuje nesčetné množství.

Ale postupné studie pomáhají k odhalení tajemství boje proti těmto velmi škodlivým organismům. Například Paprštejn et al (2007) dokázal vypěstovat pomocí chemoterapie *in vitro* u všech 4 odrůd, které podléhaly výzkumu, čisté klony a to za použití ribavirinu o koncentraci 20 mg/l. U hrušně nakažené napadané virem ASPV docílil úspěšnosti 68,4 %.

Oproti novodobé metody *in vitro* stojí konvenční zažitá metody množení rostlin: dělení, řízkování, roubování, očkování. Tyto metody sice nabízí celkem nenáročný způsob množení, ale v konečném důsledku se může značně prodražit oproti předchozí metodě. Konvenční metody jsou závislé na venkovních podmínkách (zima, déšť, vítr), na kvalitě původní rostliny určené k množení, na následném vhodném použití preventivních prostředků proti chorobám a škůdcům a na mnoho dalších faktorech.

Metoda *in vitro* se v konečném důsledku jeví jako mnohem výkonnější a ekonomičtější metoda. Je to metoda množení budoucnosti. Za nějaký čas už bude běžným způsobem množení rostlin.

12 Seznam literatury

ALFRORD D.V., 2007: *Pets of fruit crops. A colour Handbook*. Academia Press, Boston, 461s.

BAKER, Harry a Mitchell BEAZLEY: *Fruit*. 2Rev. ed. London: Reed Consumer Books Ltd, 1992. ISBN 18-573-2905-8.

BECHYNĚ M., DOTLAČIL L., VYVADILOVÁ M., 2006. *Principles of plant breeding and seed production*, Scriptum, CULS, Prague

BLAŽEK, Jan: *Ovocnictví*. Vyd. 1. Praha: Květ, 1998, 383 s., [16] s. barev. obr. příl. ISBN 80-853-6233-3.

Blumer S. (1963): *Rost – und Brandpilze auf Kulturpflanzen*. Gustav- Fisher – Verlag, Jena, 379s.

BOČEK, S.: *Ovocné dřeviny v krajině*. Sborník přednášek a seminárních prací. Brno: ČSOP Veronica. 2008. 184 s. ISBN 978-80-904109-2-3

BOČEK, Stanislav: *Speciální pomologie hrušní I. - Letní a podzimní odrůdy - Krajské odrůdy Bílých Karpat* [online]. ESF EU, ČR, Zlínský kraj, 2007 [cit. 2012-06-22]. [Dostupné online](#).

CAGÁŇ L., Praslička J., Huszár J (eds.) 2015: *Choroby a škodcovia záhradníckých rastlín*. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra, 909s.

ČAČA Z (ed.), 1981.: *Zemědělská fytopatologie*, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 344s.

ČEJKA, Gustáv: *Radíme zahrádkářům*. Bratislava, Ostrava: Příroda Bratislava, Profil Ostrava, 1985. 613 s. 64-163-85. Kapitola Hrušeň a její nároky, s. 178-180.

GAMBORG, O. L. et PHILLIPS, G. C. (1995): *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Fundamental Methods, Springer Berlin. Heidelberg.

HADINI A., FLORES R., RANGLES J.W., SEMACIK J.S. (eds.) 2003: *Viroids*. CSIRO Publishing, Collingwood, 373s.

HU, G.J., HONG, N., WANG, L.P., HU, H.J., WANG, G.P., 2012.: *Efficacy of virus elimination from in vitro cultured sand pear (Pyrus pyrifolia) by chemotherapy combined with thermotherapy*. Crop Protection 37: 20-25.

CHOBOTSKÝ, Pavel: *Příběhy slavných odrůd*. Vyd. 1. Plzeň: Ševčík, 2000c1999, 176 s., [32] s. barev. obr. příl. ISBN 80-862-7850-6.

JABLONSKI, J. R., SKOOG, F.: *Physiol Plant* 7: 16, 1954.

JENSEN D. D., GRIGGS W. H., GONZALES C. Q., SCHNEIDER H., 1964: *Pear dechne virus transmission by pear psylla*. Psychopatology, 54: 1346-1351.

JETMAROVÁ, E.: *Extenzivní ovocné sady*. In: *Sborník referátů Problematika zachování a ochrany starých či krajových odrůd ovocných dřevin a možnosti jejich navrácení do krajiny v rámci státního programu obnovy vesnice*. Brno: ZF MZLU v Brně, 1997, s. 34 – 36.

KOCH, Václav: *Hrušky*. 1. vyd. Svazek 15. Praha: Academia, 1967. 379 s. (Ovocnická edice).

LOKOČ, R. et al.: *Ovoce Opavska, Krnovska a Osoblažska*. Opava: Retis Group s. r. o., 2011. 96 s. ISBN 978-80-254-5803-7

MALÁ J., CVRČKOVÁ H., MÁCHOVÁ P., DOSTÁL J.: *Mikropropagace hrušně polničky (Pyrus pyraister (L.) Burgsdorf)*. Strnady 2013. ISBN 978-80-7417-065-2, ISSN 0862-7657

MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. Physiol Plant 15:473–497

NEČAS, T.: *Pěstujeme hrušně a kdouloně*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010, 102 s., [8] s. barev. obr.

NESRSTA, Dušan: *Jádroviny: Pomologie ovoce I*. Baštan, 2011.198s.

PAPRŠTEIN F., SEDLÁK J., POLÁK J., ŽIDOVÁ P.: *Certifikovaná metodika ozdravování třešně pomocí chemoterapie in vitro kultur*, Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2017. ISBN 978-80-87030-50-9

- PAPRŠTEIN, F., KLOUTVOR, J.: *Záchrana krajových odrůd ovocných dřevin v České republice*. Vědecké práce ovocnářské. Holovousy: VŠUO Holovousy, s. r. o., 2007. s. 11 – 14, ISBN 978-8087030-01-1.
- PAPRŠTEIN, F., KLOUTVOR, J.: *Záchrana krajových odrůd ovocných dřevin v České republice*. Vědecké práce ovocnářské. Holovousy: VŠUO Holovousy, s. r. o., 2007. s. 11 – 14, ISBN 978-8087030-01-1.
- PAPRŠTEJN F., SEDLÁK J., ZEMAN P., SVOBODOVÁ L., POLÁK J., HASSAN M. 2007.: *Předběžné výsledky ozdravování jabloně a hrušně metodou chemoterapie in vitro*. In *Inovace pěstování ovocných plodin*, vyd. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., s 29 – 36. ISBN 978-80-87
- PIERIK, R.L.M. (1987): *In vitro Culture of Higher Plants*. - Martinus Nijhoff Publishers,
- PROCHÁZKA, Stanislav a Jiří ŠEBÁNEK.: *Regulátory rostlinného růstu*. Praha: Academia, 1997. ISBN 80-200-0597-8.
- RECHTOVÁ, CH.: *Ovocné stromy*. Praha: Vydavatelství Vašut, 2000. ISBN 80-7236-121-X
- RICHTER, M.: *Malý obrazový atlas odrůd ovoce*. Vyd. 1. Lanškroun: TG tisk, 2004, 89. ISBN 80-903487-4-2.
- RICHTER, M.: *Velký atlas odrůd ovoce a révy*. Vyd. 1. Lanškroun: TG Tisk, 2002, 158. ISBN 80-238-9461-7.
- RUPP, CH.: *Ovocné stromy a keře*. Dobřejovice: Rebo Productions CZ, 2005. ISBN 80- 7234-395-5
- ŘEZNÍČEK, V.: *Staré a krajové odrůdy ovocných dřevin – pomologie, údržba, využití*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zahradnická fakulta Lednice, 2002. 147 s. 80-7151-618-2auptmannová, 2009
- ŘÍHA, Jan: *České ovoce. 1. sv, Hrušky*. 3. vyd. Praha: Česká grafická unie, 1937. Nestr., barev. Obr
- SCHUCHMAN O., : *Ovocinárstvo*, Nakladatelství Příroda, Bratislava, 1981, 1 vydání

SEDLAK, J., PAPERSTEIN, F., POLAK J., GADIOU S., SVOBODOVÁ L.: *Metodika ozdravování a získávání viruprostých základních rostlin odrůd jabloně, hrušně a třešně pro systém certifikace pomocí in vitro kultur, chemoterapie a termoterapie*, Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., 2014. ISBN 978-80-87030-30-1

SEDLAK, J., PAPERSTEIN, F.: *In vitro proliferation of newly bred Czech pear cultivars*. Acta Horticulturae. 2009, no. 839, p. 87–92

SEEMULLER E. A., SCHNEIDER, 2004.: *Candidatus 'Phytoplasma mali', Candidatus 'Phytoplasma pyri' and Candidatus 'Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively*. Internationale Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54-1217-1226.

TETERA, V. et. al.: *Ovoce Bílých Karpat*. 1 vydání, ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou, 2006. 310 s. ISBN 80-903444-5-3.

TETERA, V.: *Záchrana starých a krajových odrůd ovocných dřevin*. Veselí nad Moravou: ČSOP, 2003. 76 s. ISBN 80-903444-0-2

VANĚK, J.: *Lidová pomologie. Hrušky, díl II.*, Nakladatelství zahradnické literatury, Chrudim, 1947, 131 s.

VŠÚO HOLOVOUSY S.R.O – KOLEKTIV AUTORŮ: *Vědecké práce ovocnářské*, VŠÚO Holovousy s.r.o., 2011, ISBN 978-80-87030-18-9, 292 s.

On-line zdroje:

INTERNATIONAL LIBRARY OF TECHNOLOGY.: *Fruit-culture, volume I*. [online]. Scranton, Pa., International Textbook Co., 1912 [cit. 2020-06-14]. Dostupné online. (anglicky)

<https://www.floranazahrade.cz/stare-odrudy-hrusni/>

SADAŘSTVÍ. CZ.: *Parména zlatá*. [online]. [cit. 2020-06-14] Dostupné z <http://www.sadarstvi.cz/rubrika/znaky-a-vlastnosti-odrud-a-jejich-hodnoceni/>

PTÁČEK, V.: *Rozmnožování ovocných dřevin* [online]. Přednáška online Mendělejeva univerzita [cit. 2020-06-14]. [Dostupné online](#)

NEČAS, T.; KRŠKA, B.: *Choroby* [online]. 2006 [cit. 2020-06-14]. Interaktivní databáze chorob a škůdců ovocných plodin. Dostupné z WWW:
<http://tilia.zf.mendelu.cz/ustavy/551/ustav_551/>

CHOD, J. *Příčiny kaménkovitosti hrušní, její výskyt, příčiny a možnosti současné ochrany* [online]. Profi Press s.r.o. [cit. 2020-06-14]. [Dostupné online](#).

HENDERSON, PETER. *Practical floriculture; a guide to the successful cultivation of florists' plants, for the amateur and professional florist.. New york: orange judd company, 1919. S. 120 - 121*

13 Seznam příloh

Příloha č. 1: Květ hrušně [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

http://www.e-herbar.net/main.php?g2_itemId=19005

Příloha č. 2: Plod hrušně Avranšské [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

http://jirivyslouzil.cz/databaze_ovoce/wp-content/uploads/2015/10/Avransska.jpg

Příloha č. 3: Plod hrušně Clappova [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<https://cs.wikipedia.org/wiki/Clappova>

Příloha č. 4: Plod hrušně Williamsova [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<https://www.ekozahradnictvi.cz/produkt/hrusen-williamsova/>

Příloha č. 5: Flow- box[online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<http://tresen-old.vscht.cz/sil/cs/node/8834>

Příloha č. 5: Kaménkovitost hrušně [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<https://www.receptyprimanapadu.cz/poradna/kamenkovitost-plodu-hrusni/>

Příloha č. 6: Strupovitost hrušní [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/strupovitost-hrusne>

Příloha č. 7: Spála růžovitých [online]. In: [cit. 2020-05-29]. Dostupné z:

<https://www.levnepostriky.cz/katalog.chorob.a.skudcu/hrusen/bakterialni.spala.ruzovitych>

Příloha č. 1: Květ Hrušně



Příloha č.2: Plod hrušně Avranšské



Příloha č.3: Plod hrušně Clappova



Příloha č.4: Plod hrušně Williamsova



Příloha č.5: Flow-box

