

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta tropického zemědělství



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta tropického
zemědělství**

Vliv substrátu na klíčivost semen jetele nachového

Bakalářská práce

Praha 2019

Vypracovala:

Jana Pastrňáková

Vedoucí práce:

Ing. Olga Leuner, Ph. D.

Prohlášení

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci na téma Vliv substrátu na klíčivost semen jetele nachového vypracovala samostatně, veškerý text je v práci původní a originální a všechny použité literární prameny jsem podle pravidel Citační normy FTZ řádně uvedla v referencích.

V..... dne

.....
Jana Pastrňáková

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala Ing. Olze Leuner za skvělé vedení, vstřícný přístup, cenné rady a poučné připomínky při tvorbě mé práce. Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského z odboru Osiva a sadby za poskytnutí příležitosti zpracování této problematiky. V poslední řadě bych chtěla touto cestou poděkovat své rodině a blízkým za pomoc, podporu a trpělivost během mého studia.

Abstrakt

Klíčivost je jednou ze základních vlastností osiva, jejíž hodnota rozhoduje o jeho konečné kvalitě a výnosu. Je ovlivňována řadou vnějších i vnitřních faktorů. Předmětem této bakalářské práce bylo shrnutí těchto faktorů na základě vědeckých publikací a na základě těchto poznatků byl proveden výzkum vlivu vybraných substrátů na klíčivost semen jetele nachového (*Trifolium inkarnátum*, L.). Veškeré zkoušky klíčivosti byly vykonány dle standardních laboratorních postupů Mezinárodní asociace testování semen. K stanovení klíčivosti byly vybrány 3 vzorky jetele nachového z různých zdrojů, které byly nasazeny za stejných podmínek na vybrané substráty (filtrační papír, písek, zemina, rašelina a kokosová vlákna) po 4 x 100 semen, každý test byl třikrát opakován. Výsledky ukazují, že nejvyšší klíčivost byla pozorována u semen nasazených v rašelině a kokosových vláknech, kde byla i velikost a vyvinutost klíčenců zřetelně větší než u klíčenců v ostatních substrátech.

Klíčová slova: *Trifolium*, semena, substrát, jetel, anomálie, klíčivost

Author's abstract

Germination is a one of the basic characteristics of seeds, whose value determines its final quality and yield. It influenced by series of genetic and environmental factors. The aim of this bachelor thesis was a summary of these factors based on scientific publications and based on the findings a research was carried out on the influence of selected substrates on germination of seeds of crimson clover (*Trifolium incarnatum*, L.). All germination tests were performed according to standard laboratory procedures of the International Seed Testing Association. To determine germination, three crimson clover samples from different sources were selected and seeded under the same conditions at 20 °C for selected substrates (filter paper, sand, soil, peat and coconut fibers) for 4 x 100 seeds, each test was repeated three times. The results show that germinating seeds in peat and coconut fibers reached the highest germination rates, where the size and development of the germs was significantly greater than development of germs in other substrates.

Key words: *Trifolium*, seeds, substrate, crimson clover, abnormality, germination

Obsah

1.	Úvod	- 11 -
2.	Cíl.....	- 12 -
3.	Literární rešerše	- 13 -
3.1	Klíčivost.....	- 13 -
3.2	Základní faktory ovlivňující klíčení rostlin v laboratorních podmínkách	- 14 -
3.3	Vnější faktory	- 21 -
3.4	Substráty	- 25 -
3.5	Metody předběžného laboratorního ošetření osiva	- 29 -
3.6	Metody nasazování semen v laboratorních podmínkách.....	- 30 -
3.7	Hodnocení klíčenců	- 31 -
3.8	Jetel nachový.....	- 34 -
4.	Praktická část.....	- 38 -
4.1	Metodika	- 38 -
4.2	Výsledky	- 43 -
4.3	Diskuse.....	- 48 -
5.	Závěr	- 51 -
6.	Reference	- 1 -
7.	Přílohy	I

Seznam tabulek:

Tabulka 1: Projevy semen s nízkou vitalitou.....	- 21 -
Tabulka 2: Malé vady normálního klíčence.	- 32 -
Tabulka 3: Typy vad abnormálních klíčenců.	- 33 -
Tabulka 4: Podmínky klíčení rodu <i>Trifolium</i>	- 36 -
Tabulka 5: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele A.	- 43 -
Tabulka 6: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele B.	- 43 -
Tabulka 7: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele C.	- 44 -

Seznam obrázků a grafů:

Obrázek 1: Typy klíčení	- 14 -
Obrázek 2: Složení osemení rodu <i>Sinapis</i>	- 15 -
Obrázek 3: Složení osemení rodu <i>Melilotus</i>	- 15 -
Obrázek 4: Struktura semen rodu <i>Piper</i> a <i>Beta</i>	- 17 -
Obrázek 5: Struktura semene rodu <i>Phaseolus</i>	- 18 -
Obrázek 6: Dormantní cyklus.....	- 19 -
Obrázek 7: Míra denitrifikace v závislosti na poměru písku a rašeliny	- 27 -
Obrázek 8: Jetel nachový.....	- 34 -
Obrázek 9: Semena <i>Trifolium incarnatum</i>	- 35 -
Obrázek 10: Zkoušené vzorky jetele nachového	- 38 -
Obrázek 11: Metoda na filtračním papíru	- 40 -
Obrázek 12: Metoda ve filtračním papíru	- 40 -
Obrázek 13: Nabobtnalé rašelinové jiffy.....	- 41 -
Obrázek 14: Síto na prosátí zeminy.....	- 41 -
Obrázek 15: Nasazení na rašelině.....	- 42 -
Obrázek 16: Nasazení na kokos. substrátu	- 42 -
Obrázek 17: Klíčenci v zemině	- 45 -
Obrázek 18: Uhnilé kořeny klíčenců v písku	- 45 -
Obrázek 19: Klíčenci v rašelině a na filtračním papíru	- 46 -

Graf 1: Porovnání výsledků klíčivosti mezi jednotlivými substráty	- 44 -
Graf 2: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele A.....	- 47 -
Graf 3: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele B.....	- 47 -
Graf 4: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele C.....	- 48 -

Seznam zkratk použitých v práci

ISTA – Mezinárodní asociace testování semen

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

GA – kyselina gibberelová

NaFP – metoda nasazování semen na filtrační papír

VeFP – metoda nasazování semen ve filtračním papíru

SFP – metoda nasazování semen na skládaný filtrační papír

PO – předseťové ošetření podchlazením

PeO – předseťové ošetření semen v polyethylenových obálcích

1. Úvod

Pěstování plodin je na naší planetě již od dob, kdy člověk vlivem neolitické zemědělské revoluce přešel z primitivního sběračství na pěstování prvních plodin. Význam zemědělské činnosti je především v zásobování lidské populace potravou a různými zemědělskými komoditami pro průmysl a další zpracování a péče o krajinu. K úspěšnému plnění tohoto poslání je nezbytná znalost osevních postupů a požadavků plodin na vnější podmínky vhodné pro jejich růst a vývin. Nedostatečná edukace by mohla mít fatální důsledky na výnos plodin. Klíčivost je jedna z hlavních vlastností kulturních rostlin, která rozhoduje o konečné kvalitě a výnosu rostlin. Tento ukazatel je testován v kontrolních laboratořích po celém světě a výsledná klíčivost rozhoduje, zda je osivo vhodné k výsevu.

V rámci teoretické části byly shrnuty všechny vlivy působící na konečnou klíčivost rostlin. Z vnitřních vlivů je to především složení semene rostlin, dále metabolické procesy jako je dormance a stárnutí semen. Do vnějších faktorů pak patří vlhkost prostředí, teplota, kyslík a světlo. Tato práce se zabývala vlastnostmi substrátů, které též patří do vnějších faktorů ovlivňujících klíčení rostlin. U vybraných laboratorních substrátů byly podrobně popsány jejich vlastnosti. Dále byly popsány metody prolamující dormantní stádium, potřebné pro správné klíčení některých plodin, metody nasazování semen a postupy při hodnocení klíčenců a výskyt možných anomálií. V konečné řadě byl popsán vybraný druh jetel nachový (*Trifolium incarnatum* L.), který byl později použit jako modelová rostlina pro vlastní výzkum této práce.

V praktické části byl popsán vlastní výzkum, který byl proveden na 3 vzorcích jetele nachového pocházejících z různých zdrojů. U těchto vzorků byla dle standardních laboratorních postupů pravidel Mezinárodní asociace pro testování semen (International Seed Testing Association – ISTA) provedena zkouška klíčivosti na 5 vybraných substrátech. Byl popsán pracovní postup výzkumu a použitý materiál a pomůcky. Dále byly zpracovány výsledky, ve kterých byla znázorněna výsledná klíčivost, podíl normovaných a vadných klíčenců, tvrdých a mrtvých semen v celkové klíčivosti a byl porovnán vzhled klíčenců ve vybraných substrátech. Na závěr byly porovnány výsledky klíčivosti v jednotlivých substrátech a zhodnocení vlivu substrátu na klíčivost semen jetele nachového.

2. Cíl

Klíčivost je jeden z hlavních kvalitativních znaků všech zemědělských plodin, který je ovlivňován řadou vnějších i vnitřních faktorů. Souhra těchto faktorů, v závislosti na požadavky rostlinného druhu, zaručí zdravý normální vývoj klíčence. Cílem teoretické části bylo shrnutí současných poznatků z vědeckých publikací o faktorech působících na výslednou klíčivost, anomáliích klíčenců a metodách zjišťování klíčivosti semen. Cílem praktické části bylo zhodnocení působení různých substrátů na klíčivost semen vybraného druhu jetelovin, jetele nachového, v laboratorních podmínkách.

3. Literární rešerše

3.1 Klíčivost

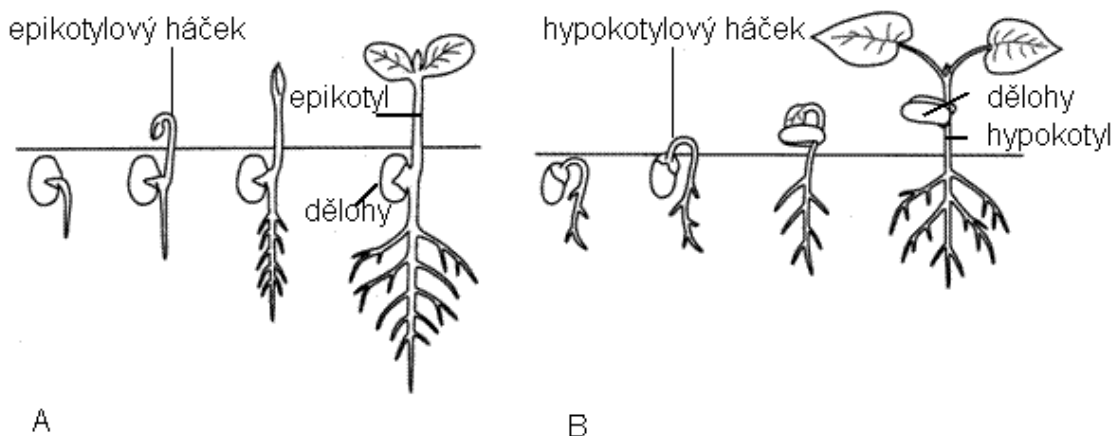
Klíčivost stanovená v laboratorních podmínkách je schopnost semen vyprodukovat maximální počet normálně vyvinutých jedinců za stanovenou dobu. Zkouška klíčivosti se provádí za řízených podmínek, optimálních pro určitý druh rostliny. U normálně vyvinutých klíčenců je předpokládáno, že se za příznivých podmínek v půdě vyvinou v normální rostliny (ÚKZUZ, 2016).

Z fyziologického hlediska se snížená klíčivost projevuje pouze výskytem dormantních a neživých semen. Z pohledu semenářského se za klíčivá semena považují pouze ta, která jsou schopna poskytnout normální vitální rostlinu. Proto klíčenci s poškozeními a anomáliemi nejsou započítáváni ke klíčivým semenům (Houba & Hosnedl, 2002).

Klíčení semen je fyziologický proces, v němž dochází k obnovení růstu zárodku budoucí mladé rostliny. Začíná příjmem vody a končí prodloužením embryonální osy v primární kořen. Neklíčící živá zralá semena jsou buď ve stavu dormance, nebo klidu, přičemž u semen v růstovém klidu lze rychle obnovit jejich vývoj, pokud dojde ke styku s vodou za vhodných světelných a teplotních podmínek (Houba & Hosnedl, 2002), k tomu dále viz kapitola 2.2. U první fáze klíčení dochází k bobtnání semene, zapříčiněné příjmem vody v důsledku nízkého vodního potenciálu semene. Bobtnání může být často doprovázené prasknutím osemení. Druhá klíčící fáze začíná prodlužováním embrya, zrychluje se intenzita buněčného dýchání (respirace) a zásobní látky v endospermu a dělohách se mobilizují. Prvním růstovým projevem klíčení je zvětšení embryonálního kořínku (radikuly), teprve poté, co radikula dosáhne dostatečné velikosti, začne se prodlužovat plumula, tj. meristematický základ vzrostného vrcholu mladé rostliny. Klíčící semeno se stává klíčící rostlinou po proniknutí plumuly osemením (Houba & Hosnedl, 2002, Luštinec & Viktor, 2005).

U krytosemenných rostlin jsou dva typy klíčení – epigeické (obr.1, B) a hypogeické (obr. 1, A). Epigeické nadzemní klíčení začíná prodloužením hypokotyly, což je část stonku mezi děložními listy a primárním kořínkem. Děložní lístky jsou

hypokotylem vyneseny nad povrch zeminy, kde přejímají funkci fotosyntetických orgánů. Při podzemním hypogeickém klíčení dělohy zůstávají v zemi, část stonku mezi primárními listy a dělohami neboli epikotyl se intenzivně prodlužuje (Procházka, et al., 1998). Jednoděložným rostlinám, jako jsou například obiloviny, štítkovitá děloha zůstává zakrnělá v obilce, kde z výživné tkáně endospermu čerpá živiny (Houba & Hosnedl, 2002). Z obilky nejprve vyrůstá radula (zárodek kořínku), poté blanitá pochva chránící vzrostlý vrchol mladého prýtu – nadzemní část rostliny (Novák & Skalický, 2017).



Obrázek 1: Typy klíčení. Zdroj: (Mendelu.cz, 2014)

3.2 Základní faktory ovlivňující klíčení rostlin v laboratorních podmínkách

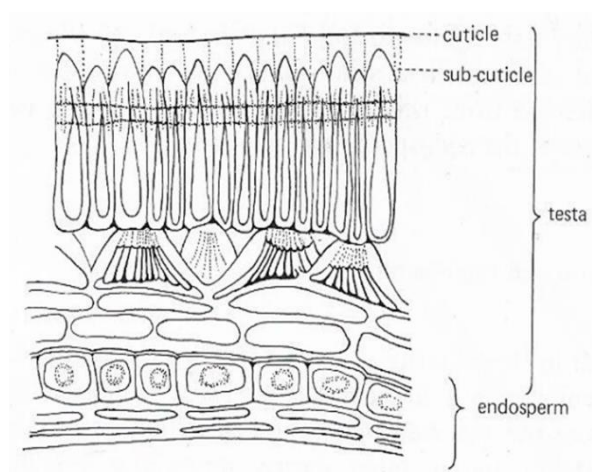
Růstové procesy jsou ovlivňovány řadou přírodních faktorů (podmínek), které působí na klíčení semen kladně či záporně, avšak v laboratorních podmínkách jsou všechny podmínky řízeny tak, aby každému testovanému vzorku daly předpoklad vysoké klíčivosti. Obecně je lze dělit do dvou skupin, a to na faktory vnitřní a vnější. Obě dvě skupiny podmínek na sebe vzájemně působí a ovlivňují se (Vaněk, 2012).

3.2.1 Vnitřní faktory

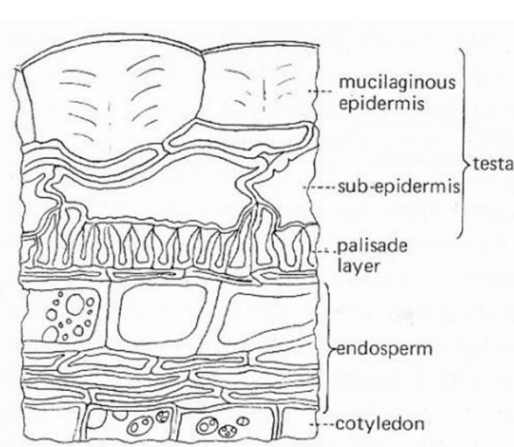
Vnitřní podmínky jsou dané zejména druhem a odrůdou rostliny, nové odrůdy mají potenciál pro vyšší klíčivost, ale většinou mají i vyšší nároky na vnější podmínky (Vaněk, 2012). Mezi další neméně důležité vnitřní podmínky patří složení semene, dormance semen, stárnutí a životaschopnost osiva a v poslední řadě vitalita osiva (Houba & Hosnedl, 2002).

3.2.2 Složení semene

Osivo je svou strukturou a fyziologickými vlastnostmi základní stavební jednotkou pro budoucí rostliny, která je za pomoci vysoké koncentrace zásobních látek udrží životaschopné až do jejich samostatné autotrofní výživy. Semeno s velice nízkou metabolickou aktivitou čeká na vhodné podmínky pro klíčení. Osivo pochází z mateřské rostliny z oplodněného vajíčka, skládá se ze čtyř částí: osemení (obr. 2 a 3), perispermu, endospermu a embrya. Přítomnost těchto komponentů či jejich absence v pozdějším vývoji rostliny je jeden ze základních strukturálních rozdílů mezi různými druhy semen. Stejně tak i velikost semen, tvar semen, barva a povrch osemení nebo obsah chlorofylu jsou značně rozmanité (Bewley & Black, 1983).



Obrázek 3: Složení osemení rodu *Melilotus*. Zdroj: (Bewley & Black, 1983)



Obrázek 2: Složení osemení rodu *Sinapis*. Zdroj: (Bewley & Black, 1983)

Osemení (testa)

Osemení neboli testa se tvoří z obalů vajíčka (integumentů), je to vnější tvrdý obal semene, jehož fyziologický význam vyplývá z přítomnosti vnitřní a vnější kutikuly. Díky kutikule má testa vlastnost, do určitého stupně, nepropouštět vodu či plyny včetně kyslíku, to jí dává následně schopnost ovlivňovat regulaci metabolismu, růst vnitřních tkání a orgánů semene. Vnější obal semene se na základě druhu rostliny liší především barvou a strukturou, kromě těchto dvou znaků je dalším zřejmým rysem hilum. Jedná se o jizvu, která má obecně jinou barvu než zbývající osemení. Tvar a velikost je variabilní podle druhu, jenž též označuje místo připevnění semenného funikulu (vaječné poutko) (Bewley & Black, 1983).

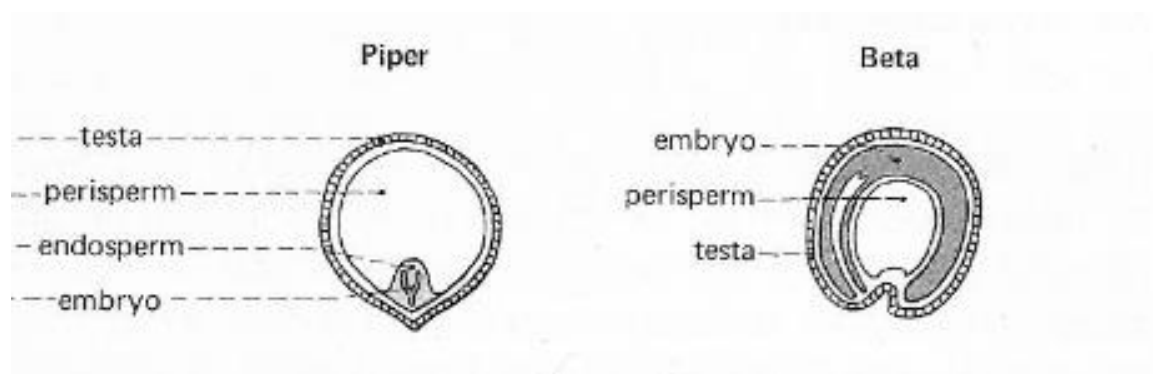
Struktura osemení některých druhů semen jako např. luskovin či jetelovin může značně ovlivnit klíčivost semen. Anatomická stavba osemení zapříčiňuje neschopnost přijímat vodu, následovanou inhibicí bobtnání a klíčení. Vnější vrstva osemení je tvořena palisádovými buňkami impregnovanými suberinem a kutinem. Ty jsou za působení různých vlivů, zejména vlivem suchých a teplých podmínek, rozšiřovány a jejich stěny k sobě stlačovány, zabraňují tak embryu přijímat vodu a kyslík. Toto stádium se nazývá stádiem tvrdosemenosti v němž může semeno setrávat po dobu několika měsíců i let. Příčinou vzniku tvrdosemenosti semen může být vliv klimatických podmínek, zejména vliv vysokých teplot a nízká vzdušná vlhkost, na genotyp rostliny či ponechání semen na mateřské rostlině. Tvrdosemenost negativně ovlivňuje výnos kulturních plodin. Naopak u planě rostoucích rostlin se tato vlastnost dá považovat za relativně příznivou. Na základě výzkumu provedeném ve Výzkumném ústavu pícninářském v Troubsku letech 1985 až 1997, kde byl zkoumán výskyt tvrdých semen v jetelovinách, bylo zjištěno, že četnost tvrdých semen v jednotlivých studovaných letech je značně vysoká, např. u vojtěšky až 66 %. Povinností dodavatele by mělo být i udávání obsahu tvrdých semen v tvrdosemenném osivu (Hrušková & Hofbauer, 1999).

Jedna z dalších studií se zabývala vlivem osemenní na dormanci semen luskovin. Bylo zjištěno, že testa nejenže poskytuje strukturální a ochranné funkce, ale má také rozhodující roli při načasování klíčivosti semen regulací příjmu vody. Tato kontrola je zásadní v proměnlivých přírodních podmínkách. U domácích plodin byla tato vlastnost z velké části odstraněna, dochází tak u nich k okamžitému klíčení semen. Kromě toho absorpce vody dovoluje semena luskovin vařit a dělá je požitelnými, což poskytuje

lidské stravě důležitý přísun bílkovin. Avšak rostliny vyklíčené z dormantních semen, vykazují vyšší odolnost vůči patogenům, jsou mohutnější a svým složením ovlivňují nutriční kvalitu produktů vhodných pro léčebné a průmyslové účely (Smýkal, et al., 2014).

Perisperm a endosperm

Perisperm je vnější vyživovací pletivo, též známé jako bílek. U většiny semen rostlinných druhů nepřesáhne počáteční stupeň vývoje, avšak je několik případů, kdy se tato tkáň stává hlavním uložištěm zásobních látek semene důležitých pro jeho vývoj. U těchto semen endosperm prakticky chybí, ale u některých ne-endospermických druhů je přítomno malé množství endospermu, který je jednu nebo několik buněčných vrstev silný, např. u rostlin rodu *Piper* či rodu *Beta* (obr. 4).



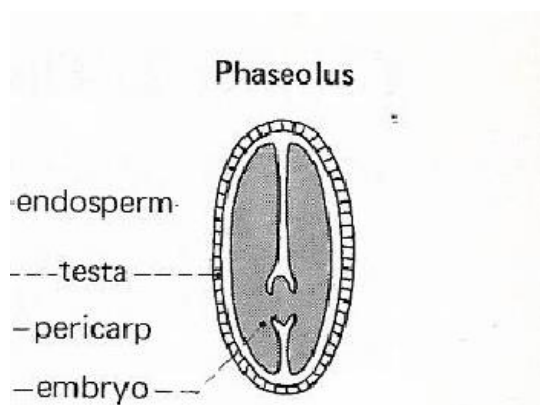
Obrázek 4: Obsah perispermu u rostlin rodu *Piper* a *Beta*. Zdroj: (Bewley & Black, 1983)

Vnitřní výživná tkáň neboli endosperm obklopuje embryo, jako podstatně velká tkáň až do doby, kdy je semeno v pokročilém stádiu vývoje. Během vývinu semene embryo roste a endosperm se vyčerpává. Při rychlém růstu embrya může být vnitřní výživné pletivo úplně absorbováno či vyčerpáno do tenké tkáně (Bewley & Black, 1983).

Embryo

Embryo je zárodek klíčence, ze kterého se během klíčení stane mladá rostlina. Velikost a tvar embrya se druhově liší, závisí na rychlosti jeho růstu a na výživě z perispermu nebo endospermu, např. u rodu *Phaseolus* embryo zabírá téměř celé semeno (obr. 5). Zralý zárodek je tvořen z osy, na jejímž jednom konci se nachází plumula (vzrostlý vrchol embrya), na druhém konci osy je radikula (základ pro vzrostlý vrchol

kořene). Podle druhu rostlin, jednoděložných či dvouděložných, nese osa jednu nebo dvě dělohy. Výživa pro růst embrya je zajištěna zásobními tkáněmi, představujícími rezervu živin, podporující rostlinu v počátečním stádiu růstu a činí ho nezávislým do doby vlastní heterotrofní výživy (Bewley & Black, 1983).



Obrázek 5: Struktura semene rodu *Phaseolus*, Zdroj: (Bewley & Black, 1983)

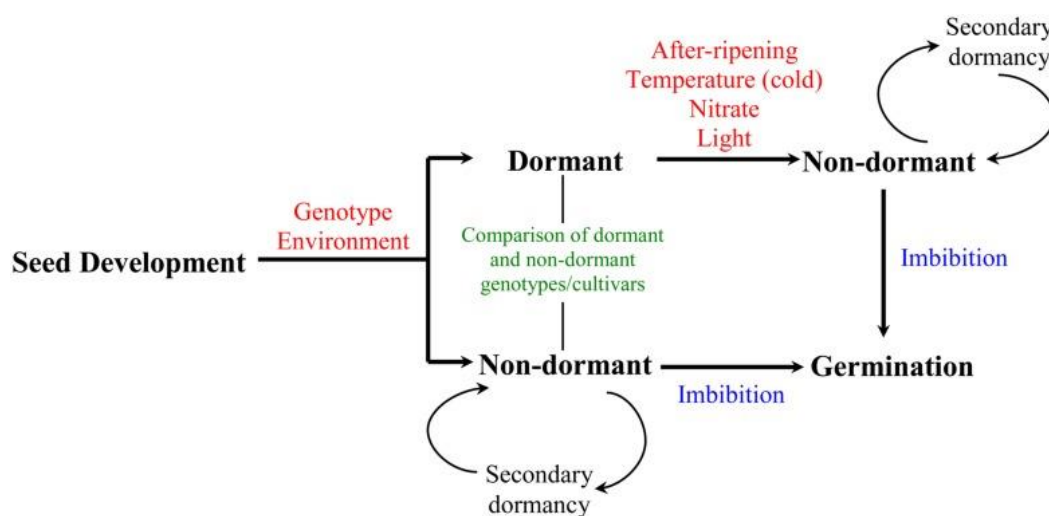
3.2.3 Dormance semen

Dormance je termín obecně užívaný pro shrnutí procesů, které zabraňují růstu různých typů meristematických vrcholů rostlin, často i přes působení příznivých podmínek (Lang, 1996). Důvodem může být jak působení genetických faktorů, tak působení nepříznivých podmínek během rostlinné evoluce (He, 2014). Rozlišujeme dormanci primární (vrozenou) geneticky určenou, dormanci sekundární neboli uměle vyvolanou a dormanci vynucenou (ÚKZUZ, 2016).

Jedním z typů dormance vrozené je dormance morfologická. U takových semen je po uvolnění z mateřské rostliny požadavek na dozrání embrya za působení vhodné teploty. Délka období dozrávání je variabilní dle rostlinného druhu a odrůdy (Baskin & Baskin, 2007). Dalším typem vrozené dormance je dormance fyziologická, u které po dozrání embrya, zabraňuje klíčení fyziologická nezralost semene. Semeno tak musí projít řadou fyziologických, biochemických a hormonálních procesů, které jsou nezbytné pro prolomení stavu dormance, jako je např. bobtnání semen za nízkých teplot nebo předběžné ošetření semen teplotou před setím (Claessens, 2012), což způsobí narušení hormonální rovnováhy mezi inhibitory (kyselinou abscisovou) a promotory (gibereliny) a tím porušení dormance (Derx, 1993). Třetím typem vrozené dormance je fyzická dormance. Semena s tímto typem dormance jsou obvykle charakteristická vrstvou

palisádových buněk v osemeni semene, které zabraňují průniku vody dovnitř. K porušení této dormance je potřeba porušení osemení za pomoci mechanické či chemické skarifikace (Claessens, 2012), u fotoblastických semen lze prolomit dormanci sluneční záření, pokud jsou semena vyseta na povrchu půdy, další postupy pro narušení struktury osemení jsou střídání teplot, předběžné promývání nebo aplikace dusičnanu draselného či etylenu a oxidu uhličitého (ÚKZUZ, 2016).

Dormance je vratný proces, což znamená, že i po prolomení tohoto stádia se za působení nepříznivých podmínek může semeno stát opět dormantním. Tento stav se nazývá sekundární indukovaná dormancí (Claessens, 2012) a nastává většinou, když se již nedormantní semeno uvolní z mateřské rostliny (ÚKZUZ, 2016). Stejně jako semena s primární dormancí ani semena se sekundární dormancí nevyklíčí ani za příznivých podmínek prostředí, dokud nebude dormance prolomena. Proces opakování prolomení a znovu vyvolání dormance se nazývá dormantní cyklus (obr. 6), který může probíhat i po několik let, než nastanou podmínky podporující klíčení, aniž by došlo ke ztrátě životaschopnosti (Claessens, 2012).



Obrázek 6: Dormantní cyklus. Zdroj: (Researchgate.net. 2014)

Vyklíčení nedormantního semene je podmíněno kombinací vhodných vnějších podmínek (teplota, světlo/ tma atd.), v závislosti na druhu a odrůdě. Za absence jednoho či více těchto faktorů nedormantní semeno nejenže nevyklíčí, navíc u něj propukne stádium klidu, tzv. vynucená dormance nebo také pseudodormance. Pokud faktor inhibující klíčení začne znovu působit, semenu se vrátí schopnost klíčení, tzn. není potřeba znovu-prolomení dormance (Baskin & Baskin, 2007).

Dormance semen je příčinou postupného klíčení semen. Tento jev je v přírodě žádoucí kvůli zachování rostlinného druhu, avšak nežádoucí u zemědělských plodin

(Bláha & Gottwaldová, 2007). V polních podmínkách dormantní semena klíčí později a nemohou se tak vyrovnat již vyvinutým plodinám, tudíž nemají vliv na jinak úspěšně založený porost, který je zásadním faktorem pro dosažení maximálního potenciálního výnosu (Velijevic, et al., 2018). Odhad maximálního potenciálu vyklíčení rostlin v polních podmínkách určují laboratorní zkoušky. Pro dosažení maximální klíčivosti je žádoucí, aby vyklíčilo co nejvíce semen a klíčení bylo rovnoměrné, a to vše v rámci zkušebního období. Proto je potřeba prolomení dormance předběžným ošetřením osiva. Předběžná ošetření v laboratoři podléhají pravidlům ISTA. Mezi jednotlivá ošetření patří předběžné promývání, zahřívání, chlazení či odstranění některých struktur semene (viz. kapitola 4.). Ošetření během zkoušky jsou aplikace dusičnanu draselného nebo kyseliny gibberelové, střídavé teploty aj. (ISTA, 2019). Výzkum provedený na Zemědělské univerzitě v Srbsku (Velijevic, et al., 2018) potvrzuje, že výběr optimálního ošetření pro určitý kultivar významně zvyšuje celkovou klíčivost, podporuje zdravý růst klíčenců a správný vývoj kořenů.

3.2.4 Stárnutí semen a vitalita osiva

Stárnutí osiva, jeho životaschopnost a vitalita osiva jsou si velice blízké faktory ovlivňující klíčivost semen. Jejich vliv je podmíněn jejich vzájemným působením. Tzn. že pokles vitality semen zapříčiňuje zhoršení životaschopnosti, a to následně vede prudšímu stárnutí semen, a naopak známka stárnutí je zhoršení životaschopnosti, což způsobuje nízká vitalita semene (Hosnedl, 1999). Životaschopné semeno je takové, které nejenže klíčí za vnějších podmínek vhodné pro daný druh, ale je i způsobilé dalšího rozvoje. Mezi taková semena řadíme i semena dormantní (Priestley, 1986).

Vitalita semen je velmi významným znakem kvalitního osiva. Osivo s vysokou vitalitou dokáže lépe hospodařit s vodou během klíčení, to je umožněno rychlým vývinem kořenů těchto rostlin. Rostliny s dobře vyvinutým kořenovým systémem zaručují produkci kvalitnějšího osiva (Bláha, et al., 2008). Projevy semen s nízkou vitalitou a její význam v zemědělství jsou zaznamenány v Tab. 1. Vitalita semen se dědí po mateřské rostlině, jejíž vlastnosti jsou ovlivňovány vlivy vnějšího prostředí. Pokud je plodina pěstovaná za nepříznivých podmínek, např. extrémně vysoké teploty a suché podnebí, projeví se to zhoršenými vlastnostmi další generace rostlin, tzn. i zhoršenou vitalitou rostliny. Míra poklesu vitality závisí na druhu a odrůdě (Hosnedl, 1997).

Tabulka 1: Projevy semen s nízkou vitalitou. Zdroj: (Hosnedl, 1999)

Nízká vitalita semen	Důsledky nízké vitality
Rychlý pokles kvality osiva při uskladnění	Výběr kvalitního osiva
Omezení podmínek, za kterých je osivo schopné vzejít	Nevyrovnanost porostu
Snížená rychlost a vyrovnanost klíčení	Vliv na tvorbu výnosu
Pomalý počáteční růst a abnormality klíčících rostlin	Redukce hustoty porostu
Nižší odolnost vůči mikroorganismům	Vliv na kvalitu produkce
Výnos rostliny	Větší závislost na podmínkách klíčení (substrát, teplota)

Stejně jako vitalita tak i stárnutí semen je ovlivňováno vnějšími podmínkami během vývoje a zrání semene, avšak neméně důležitým faktorem jsou podmínky skladování osiva, zejména vlhkost a teplota. Chladné a suché prostředí skladu, ve kterém se osivo uchovává, zabezpečí zachování schopnosti klíčení. U osiva se zvýšeným obsahem vnitřní vlhkosti může během mrazivých teplot docházet k poškození spojeným s obsahem volné vody v semeni. Pokud teploty klesnou pod bod mrazu, je ohrožena i životaschopnost semen s nízkou vnitřní vlhkostí. Při vysoké relativní vlhkosti dochází k rehydrataci semen, což u vysušených semen způsobí škodlivé praskání semena, zvláště pokud je imbibice (nasátí tekutiny) poměrně rychlá. Jakákoli poškození semen vede k urychlení procesu deteriorace, tzn. zhoršování kvality semen. Správná kontrola obou těchto faktorů při skladování poskytuje účelnou ochranu semenům a prodlužuje životaschopnost osiva.

Zkoušení vlastností semen vitality a životaschopnosti probíhá za nepřirozených laboratorních podmínek, tudíž jsou semena vyvarována vnějším stresovým faktorům, které se vyskytují běžně v terénu. Ačkoliv jsou rozdíly ve výsledcích v laboratoři a v polních podmínkách značně rozdílné, laboratorní zkoušení udává základní měřítko těchto kvalitativních znaků (Priestley, 1986).

3.3 Vnější faktory

Všechny vnější faktory jsou zvláště významné a nepostradatelné a je proto nutné striktně dodržovat tyto podmínky v každém testu klíčivosti. Mezi základní vnější podmínky patří voda, kyslík, teplota, světlo a lůžko (substrát), na kterém se zkouška provádí (Houba & Hosnedl, 2002).

3.3.1 Voda

Dostupnost vody je v procesu klíčení, kdy je rostlina ve fázi životního cyklu nejcitlivější, základním faktorem. Při první fázi klíčení dochází u zralých semen k absorpci vody (bobtnání), což je klíčové nejen pro zahájení klíčení, ale i pro následnou vzcházivost rostlin. Při bobtnání semen je ve velice důležitá absorpční kapacita, závislá na oplodí semen, které je specifické anatomickou skladbou a strukturou typickou pro každý druh. Vodu přijímají semena celým povrchem pomocí pupku a mikrokapilár. Příčinou příjmu vody je snížený vodní potenciál uvnitř semen, který při svých vysokých negativních hodnotách může zapříčinit zpomalení či zastavení klíčení. Po absorbování vody dochází k mobilizaci zásobních látek a zintenzivnění respirace. Výslednou úspěšnost klíčivosti semen má tedy vliv absorpční kapacita a vodní potenciál semen (Bello & Bradford, 2016).

3.3.2 Teplota

Spolu s vlhkostí, kyslíkem a světlem, hraje teplota důležitou roli v klíčení semen. Závisí na ní míra klíčení i konečné procento klíčivosti. Každý druh rostliny má svou vlastní optimální teplotu či teplotní rozmezí, při kterém rostlina nejlépe klíčí (Butler, et al., 2014). Teplotou optimální nazýváme teplotu, při níž je rychlost růstu nejvyšší. Teplota, při které růst rostlin začíná, se označuje jako teplota minimální. Na změny teplot jsou rostliny velice náchylné a lze ji měnit pouze v úzkém rozmezí, aby nedošlo k poškození rostliny (Procházka, et al., 1998).

V případě jetele podzemního (*Trifolium subterraneum* L.) výsledky z předešlých studií vlivu teploty ukazují, že existuje relativně široké optimální teplotní rozmezí se střední hodnotou 20 °C pro klíčení sazenic, s mírnými rozdíly mezi kultivary. Přibližně 93–97 % klíčivosti druhů viny a 99 % klíčivosti sóji je podněcováno teplotou. Klíčivost jetele nachového (*Trifolium incarnatum*) je méně citlivá na změny teplot než ostatní druhy pícnin, klíčící v zimním ročním období (Butler, et al., 2014).

3.3.3 Kyslík

Po hydrataci suchého osiva je zahájen proces respirace. K tomuto procesu je nutné zvýšení spotřeby kyslíku, který se podílí na biochemických procesech podstatných pro buněčné dělení a tím i pro klíčení. Dostatečná přítomnost vzduchu je žádoucí jak na

povrchu půdy, tak v půdním profilu (Bello & Bradford, 2016). Nedostatek kyslíku z vnějšího prostředí zapříčiní u většiny rostlinných druhů pokles klíčivosti. Vliv kyslíku má dopad na konečnou kvalitu osiva (Valičková, 2017).

3.3.4 Světlo

Přítomnost světla není vždy nepostradatelnou podmínkou pro klíčení rostlin. Rostliny rozdělujeme do dvou skupin. Do první skupiny řadíme ty, u kterých světlo působí stimulačně neboli rostliny pozitivně fotoblastické. Takové druhy semen nemají dostatek zásobních látek, proto je u nich potřeba přejít na autotrofní výživu. Druhou skupinu rostlin, negativně fotoblastických, světlo ovlivňuje záporně, zpomaluje jejich klíčení.

V laboratorních podmínkách klíčení u většiny rostlin probíhá na světle i ve tmě. U pozitivně fotoblastických druhů, u kterých je stanovená přítomnost světla, zkouška klíčivosti probíhá za působení světla přírodního nebo umělého. Přičemž světlo musí účinkovat minimálně 8 hodin denně. Ačkoli u většiny druhů semen pro klíčení v laboratorních podmínkách není nutné působení světla, osvětlení povrchu klíčícího substrátu je vhodné, jelikož rostliny klíčící ve tmě se hůře hodnotí, jsou bledé a více náchylné na napadení mikroorganismy (ÚKZÚZ, 2016).

3.3.5 Vlastnosti substrátu

Substráty ovlivňují klíčení zejména svými fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi. Jejich působením vzniká vhodné či méně vhodné prostředí pro vzcházení rostlin. Znalost vlastností jednotlivých substrátů je základním předpokladem pro výběr optimálního lůžka pro rostliny. Mimo jiné nám vhodný výběr substrátu také umožňuje určit faktor působící nepříznivě na růst, vývin či zdravotní stav rostlin (Bedrna, 1989).

Laboratoře pro zkoušení osiv nebo jiné laboratoře provádějí zkoušky klíčivosti na pěstebním médiu (substrátu) dle ISTA pravidel. Mezi používané substráty patří filtrační papír, písek a organický substrát. Pěstební média musí splňovat základní parametry, které jsou obecné pro všechny zmíněné substráty. Důležitým parametrem je dostatek prostoru pro kyslík a vodu, kterou zabezpečuje pórovitost substrátu. Kyprost substrátu je významná pro vývoj kořenového systému a zajišťuje sorpci vody, která je

klíčová pro klíčení a vývoj semen. Obsah vody v substrátu by měl dosahovat maximální vodní kapacity. Pokud má některý rostlinný druh jiné požadavky na množství zadržované vody, je nutné uvést procento z maximální vodní kapacity. Dalšími parametry jsou hodnota pH, která musí splňovat rozmezí 6,0- 7,5, a elektrická vodivost nepřesahující 40 mS/m. Dále nesmí substrát obsahovat semena, bakterie, houby a toxické látky, které mohou narušit klíčení semen, zhoršit růst semen nebo ovlivnit hodnocení klíčenců. Nedodržení parametrů může ovlivnit vzhled klíčenců, např. pokud je vláhota substrátu příliš vysoká, kořenové špičky klíčenců mohou zahnívat nebo se vyvinou klíčenci sklovitého vzhledu, to nastává často u rostlinných druhů citlivých na větší závlahu. Naopak u druhů vyžadujících velmi vlhký substrát pro klíčení, při nedostatku závlahy dochází ke zkroucení primárního kořene (ISTA, 2019).

Na každém neznámém substrátu nebo na nové várce již používaného substrátu musí být provedena zkouška biologického testu, který potvrdí jejich kvalitu. Tento test probíhá srovnáním s již prověřeným substrátem, a to porovnáním základních fyzikálních vlastností, ale též tento test prokáže, že nový substrát nemá negativní účinky na rostlinu v důsledku obsahu toxických látek či škodlivých mikroorganismů. Pokud má nový substrát známou vlastnost, která nesplňuje základní parametry, lze doložit biologickým testem, že nemá negativní účinky na růst rostliny nebo naopak se ukáže jeho nevhodnost pro rostlinu (ISTA, 2019).

3.4 Substráty

3.4.1 Filtrační papír

Materiál filtračního papíru by měl být vyroben z bavlny, dřeva nebo jiné rostlinné celulózy, která svými vlastnostmi není osivu fytotoxická. Struktura papíru by měla být taková, aby kořeny klíčence neprorůstaly do papíru, ale rostly po jeho povrchu. Dále by měl mít natolik dostatečnou pevnost, aby se během manipulace při zkoušení klíčivosti neroztrhl (ISTA, 2019).

3.4.2 Písek

Laboratorní křemenný písek patří mezi minerální substráty. Musí splňovat specifické parametry jako je velikost zrn písku, tvar zrna, vlhkost, hodnotu pH mezi 6,0-7,5 nebo v případě jiné hodnoty musí být doloženo biologickým testem, že jiné pH neovlivňuje výslednou klíčivost rostliny (ÚKZUZ, 2016). Pokud je charakteristika velikostí částic uvedena dodavatelem písku a je v souladu s laboratorními parametry, není vyžadováno, aby laboratoř ověřovala kontrolou kvality velikost zrn. Jestliže však není tento údaj uveden, je potřeba otestovat, zda nejméně 90 % zrn projde sítím o velikosti otvorů 2,0 mm (ISTA, 2019). Ideální je ale velikost zrn písku, které projdou pod sítím o šířce 0,8 mm a setrvá na sítu o šířce otvorů 0,05 mm. U písku s ostrými částicemi může dojít k poškození klíčence během jeho vývoje, proto je vhodnější písek s kulatými částicemi. Vlhkost písku by měla být taková, aby jednotlivá zrna písku nebyla pokryta vodním filmem, ale zároveň musí být zabezpečen stálý přísun vody ke klíčenci. Musí být také zajištěna dostatečná provzdušněnost pórů, kvůli přístupu semen ke kyslíku, což zajistí správné klíčení semen a růst kořenů. Dále písek musí splňovat obecné parametry ISTA pravidel jako je choroboprostost a musí být bez obsahu fytotoxických látek. V některých případech je potřeba sterilizace písku před jeho použitím. V této situaci je třeba dbát na to, aby v písku nezůstala nějaká chemikálie, která by mohla mít fytotoxické účinky na klíčence nebo naopak potlačovala působení škodlivých činitelů, jenž se přenáší na povrchu semen. Písek lze v nutných případech použít na zkoušku klíčivosti opakovaně (s výjimkou mořeného osiva) s podmínkou jeho vyprání, usušení a sterilizace (ÚKZUZ, 2016).

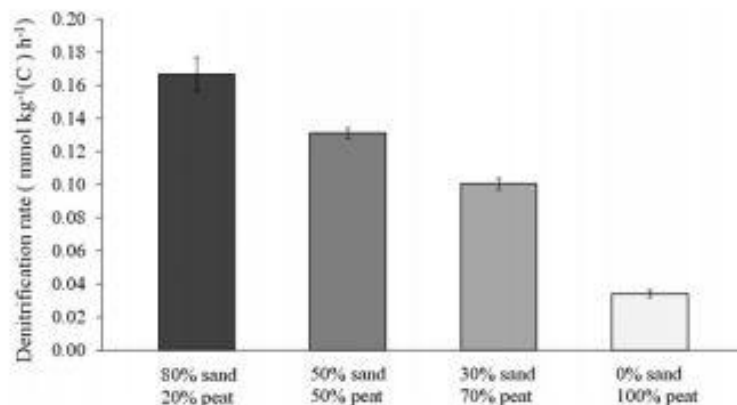
3.4.3 Zemina

Zemina je nejrozšířenější minerální substrát pro klíčení rostlin. Jakožto přírodní samostatný útvar představuje svrchní, kyprou a úrodnou vrstvu naší planety (Bedrna, 1989). Výhodou tohoto substrátu je dobrý příjem vody a udržování stálosti pH. Nevýhoda zeminy je, že není stálá ve svých fyzikálních vlastnostech (Vaněk, 2012).

Zemina používaná pro laboratorní zkoušení klíčivosti by měla být kvalitní, jako je např. zahradní zemina. Musí být propařená pro odstranění bakterií, plísní a hád'átek, k těmto účelům je někdy zapotřebí i sterilizace. Nesmí obsahovat semena jiných rostlinných druhů a fyto toxické látky. Vlhkost zeminy nesmí potlačovat pórovitost, důležitou pro klíčení semen a růst kořenů. Hodnota pH podléhá parametrům ISTA pravidel, pokud se hodnota liší, biologickým testem musí být potvrzeno, že neovlivňuje výslednou klíčivost. Opakované použití zeminy se nedoporučuje (ÚKZUZ, 2016).

3.4.4 Rašelina

Rašelina se řadí mezi nejpoužívanější organické substráty, jež jsou tvořeny z přírodních zdrojů a díky obsahu organických látek působí zejména na fyzikální vlastnosti substrátu. Fyzikální vlastnosti rašeliny jako je pórovitost nebo absorpce vody je ovlivněna především velikostí vláken, typem rašeliny či způsobem těžby. Menší vlákna zajistí větší sorpci vody, avšak výskyt větších vláken zabezpečí vysokou pórovitost vláken a tím i lehký přístup kyslíku. Výhodou rašeliny je, že nelehce podléhá mikrobiálnímu rozkladu, čemuž také přispívá nízké pH 3,5- 4,5 (Vaněk, 2012). Tato vlastnost má příznivé účinky na choroby rostlin způsobené půdními patogeny (Abad, et al., 2005). U rašeliny s menšími vlákny zajistí vyšší pórovitost vytvoření heterogenní hmoty přidáním křemičitého písku. Přidání písku ale podpoří denitrifikační procesy, které podporují oxidaci organických látek a s ní spojenou mikrobiální aktivitu, tím se zrychluje proces degradace rašeliny (obr. 7). Proto je klíčové dodržení poměru písku a rašeliny, který zajistí pozvolný rozklad rašeliny (Rezanezhad, et al., 2016).



Obrázek 7: Míra denitrifikace v závislosti na poměru písku a rašeliny. Zdroj: (Rezanezhad, et al., 2016)

Pro zkoušení v laboratoři musí splňovat základní parametry jakožto organický substrát. Její nízké pH lze ošetřit předběžnou úpravou, která zvýší hodnotu pH, nebo doložit biologickým testem, že nízké pH žádným způsobem neovlivní konečný výsledek zkoušky klíčivosti. Doporučená velikost vláken všech organických substrátů by měla být menší než 5 mm (ISTA, 2019). Někteří výrobci předběžně ošetřují rašelinu o podpůrné činitele, což je pro laboratorní účely nežádoucí.

3.4.5 Kokosový substrát

Kokosové vlákno se získává z vrstvy mezokarpu nebo z vnější vrstvy plodů kokosovníku ořechoplodého – *Cocos nucifera* L. (Abad, et al., 2005), který se pěstuje přibližně na 10 milionech hektarů tropických zemí, jako je např. Srí Lanka, Indonésie, Malajsie, Brazílie a dalších zemí tohoto pásma (FAO, 2019). Primárně se kokosové vlákno používá k průmyslovým a spotřebitelským účelům, po jeho zpracování zbyde odpadní materiál „kokosová rašelina“, kterou lze díky recyklaci a rekultivaci použít jako půdní médium (Abad, et al., 2005). Získává se pomocí kompostovacích procesů odpadního kokosového perikarpu. Tyto procesy jsou buďto tradiční nebo urychlené. Tradiční kompostování je ale časově náročné, proto se více využívá kompostování urychlené, které ke zrychlení kompostovacího procesu používá aplikaci mikroorganismů jako je *Trichoderma* spp (Misra, et al., 2003). Prodává se v podobě slisovaných kokosových briket, které po namočení mnohonásobně zvětší svůj objem a stane se z nich hotový substrát (Vaněk, 2012). Tento substrát je pro své fyzikální vlastnosti vhodnou alternativou rašeliny, navíc se řadí do obnovitelných přírodních zdrojů. Kokosová rašelina

je málo náchylná k biologickému rozkladu a její vysoká poréznost umožňuje absorbovat více než 50 % vody hmotnosti kokosového substrátu (FAO, 2002) a velice dobře udržuje stálost pH (Domeno, et al., 2009).

Kokosový substrát obsahuje houbu *Trichoderma* spp., která aktivně podporuje růst a vývoj kořenů. Pro laboratorní zkoušku klíčivosti je tato vlastnost nežádoucí, jelikož dle ISTA pravidel žádný substrát používaný k těmto účelům, nesmí obsahovat žádné látky stimulující klíčení nebo další vývoj klíčence. Proto musí kokosový substrát projít předběžným ošetřením odstraňující tuto houbu. Dále musí splňovat parametr velikosti vláken, a to že jednotlivá vlákna nesmí být menší než 5 mm. Nesmí obsahovat fyto toxické látky a škodlivé mikroorganismy (ISTA, 2019).

3.5 Metody předběžného laboratorního ošetření osiva

Toto ošetření platí pro osivo s dormantními semeny nebo se semeny tvrdosemennými, které jsou hlavní překážkou konečného výsledku testu klíčivosti. K porušení fyziologického spánku či odstranění tvrdých obalů semen se dle ISTA pravidel používá několik metod přerušující tato stádia. Mezi metody prolamující stádium dormance patří předběžné ochlazení osiva, předběžné zahřívání osiva, skladování osiva v suchu, světelné ošetření, ošetření kyselinou giberelovou (GA), dusičnanem draselným nebo použitím svařovaných polyethylenových obálek. Dále pak skarifikace koncentrovanou kyselinou sírovou a mechanická skarifikace používané i pro odstranění tvrdého osemení semen, ke kterým patří i metoda máčení (ISTA, 2019). Nejpoužívanější metody jsou popsány níže.

U metody předběžného ochlazení osivo rovnoměrně umístíme na vlhký substrát tak, aby se semena nedotýkala. Takto připravené osivo vystavíme nízkým teplotám obvykle od 5 do 10 °C po dobu maximálně 7 dnů (s výjimkou některých druhů stromů). Po uplynulé době chlazení semena přemístíme do teploty iniciující klíčení dle požadavku rostlinného druhu. Doba podchlazení se nezapočítává do celkové doby klíčení osiva.

Semena ošetřována předběžným mohou být zahřívána v suchém prostředí o volné cirkulaci vzduchu až po dobu 7 dní na teplotu od 30 do 35 °C. U některých tropických druhů jako je rýže setá (*Oryza sativa*) může teplota zahřívání dosáhnout až 50 °C. Po zahřívání se postupuje podle metodiky testu klíčivosti. Podobným způsobem funguje i metoda skladování osiva v suchu. Osivo dozrává při teplotách od 15 do 25 °C v prostoru s volnou cirkulací vzduchu po dobu jednoho roku. Tato metoda se užívá obvykle u travního porostu (ISTA, 2019).

Aplikace 0,05 % GA na lůžko se používá většinou u obilnin jako je ječmen setý (*Hordeum vulgare*), ova setého (*Avena sativa*), žita setého (*Secale cereale*) nebo pšenice seté (*Triticum aestivum*). Koncentrace se může lišit na základě stupně dormance. Pokud je dormance slabší, lze použít GA o koncentraci 0,02 %. U silnější dormance se může koncentrace GA zvýšit až na 0,1 % (ISTA, 2019). Při aplikaci GA o koncentraci vyšší než 0,08 % je žádoucí rozpustit GA ve fosfátovém pufru podle Metodiky zkoušení osiva a sadby (ÚKZUZ, 2016). Dusičnanu draselný o koncentraci 0,2 % se aplikuje též na substrát požívaný pro zkoušku klíčivosti, pro další vlhčení se používá vody (ISTA, 2019).

Účelem skarifikace osiva je usnadnění přístupu vody a kyslíku do semene. Mechanická skarifikace se provádí narušením osemení pomocí smirkového papíru, nabodnutím či naříznutím semene, přičemž je nutné dbát na neporušení embrya. Ke skarifikaci chemické se používá koncentrovaná kyselina sírová, pod jejímž působením se osemení rozkládá (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

3.6 Metody nasazování semen v laboratorních podmínkách

Vzorek semen pro zkoušku klíčivosti je připraven z dobře promíchaných čistých semen. Z těchto semen je náhodně odpočítáno 400 semen, složených ze 4 opakování po 100 semenech, z 8 opakování po 50 semenech či 16 opakování po 25 semenech. Takto připravená semena jsou rozložena na navlhčený substrát tak, aby se nedotýkala. Substrát se připravuje do misek s víky, jiných uzavíratelných nádob nebo na platech s otvory (roštech). Dle rostlinného druhu volíme metodu nasazování na substrát nebo do substrátu (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

Na filtrační papír lze použít metody nasazování semen na filtrační papír (Na FP), nasazování mezi dvě vrstvy papíru (Ve FP) a nasazování semen na skládaný papír (SFP). Pro metodu Na FP se používají uzavíratelné nádoby nebo rošty. Po přiměřeném navlhčení filtračního papíru těsně přiléhající víko nádoby zajišťuje, aby kvůli výparu vody během zkoušky nedocházelo k vysychání filtračního papíru. Pokud použitá nádoba nemá víko, lze ho nahradit uzavřením nádoby do plastického sáčku. Celková tloušťka filtračního papíru by po navlhčení neměla být menší než 2 mm. U roštů udržování relativní vlhkosti zabezpečují skříně pro klíčení, které udržují vlhkost těsně u rosného bodu. Ve FP se nasazená semena lehce přikryjí další vrstvou filtračního papíru, použijí se obálky z filtračního papíru nebo se papír zaroluje do roliček. U metody Ve FP též zajišťují udržení vlhkosti uzavíratelné nádoby nebo plastické sáčky. Metoda SFP užívá harmonik, které se ukládají do krabic s víky nebo do skříní pro klíčení. Do každého záhybu harmoniky se doporučuje nasazovat po 2 semenech (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

U písku, zeminy nebo organických substrátů lze použít metod nasazování semen na povrch substrátu nebo nasazování semen na uhlazenou vrstvu vlhkého substrátu, která se překryje 10–20 mm silnou kyprou vrstvou substrátu v závislosti na velikosti semen. Písku či organického substrátu lze užít v případě napadení semen choroboplodnými činiteli nebo při fyto toxických příznacích, které znesnadňují hodnocení klíčenců při

použití filtračního papíru. Lze též použít kombinaci filtračního papíru a jiného substrátu. Metoda nasazování semen se vybírá podle rostlinného druhu (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

3.7 Hodnocení klíčenců

U hodnocení klíčenců je výsledkem konečná procentuální klíčivost, která udává počet normálně vyklíčených semen za určité časové období v příznivých podmínkách (substrát, teplota, vlhkost, vzdušnost, světlo). Hodnocené rostliny musí být dostatečně vyvinuty, aby byly rozpoznat případné abnormality (vady). Během zkoušky klíčivosti se klíčenci hodnotí i v průběhu (mezidobí) zkoušky, před prvním počítáním klíčenců, je však důležité dbát na jejich vyvinutost. Hodnotí se hlavní části rostliny, ze kterých se klíčenec, v závislosti na druhu, skládá a jsou proto důležité pro vývoj rostliny. Patří do nich kořenový systém (primární a sekundární kořeny), výhon (hypokotyl, epikotyl, mezokotyl a vývojový pupen), děložní listy či u *Poaceae* koleoptyle a u *Fabaceae* primární listy. Při hodnocení děložních a primárních listů platí pravidlo 50 %, které říká, že pokud je funkční aspoň polovina či více tkáně děložního nebo primárního listu, klíčenec je klasifikován jako normální. Pokud jsou děložní a primární listy nekrotické nebo nahnilé pravidlo 50 % neplatí a klíčenec je klasifikován jako abnormální (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

Jsou semena, která za příznivých podmínek nevyklíčí do konce zkušebního období. Patří mezi ně semena tvrdá, mrtvá semena nebo svěží. Svěží semena jsou zbobtnalá semena, setrvávající pevná a zdravá. Zůstávají v tomto stavu v důsledku jejich dormance. Pokud taková semena nepřesahují 5 % z celkové hodnoty klíčivosti, hodnotí se u většiny druhů jako semena schopná se vyvinout v normální rostlinu a připočítávají se k celkové klíčivosti semen. Jestliže však jejich podíl přesahuje hranici 5 %, je třeba ověřit je zkouškou živostnosti semen. Tvrdá semena jsou alternativou dormantních semen, ale na rozdíl od semen svěžích zůstávají tvrdá dopadem neschopnosti absorpce vody. Taková semena se vyskytují u luskovin a jetelovin. Podle druhu plodiny rozhodne, zda se tvrdá semena připočítávají ke konečné klíčivosti a v jakém maximálním podílu, nebo jestli se připočítávat nesmí. Informace o počítatelnosti a jejich procentuálních podílech se uvádějí v tabulce Vyhlášky č. 129/2012 Sb. Semena, která se neklasifikují jako tvrdá ani svěží, s měkkou strukturou, shnilá, plesnivá nebo neprojevující známky životaschopnosti se

považují za semena mrtvá a nezahrnuje se do konečného výsledku klíčivosti (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

Pro konečný výsledek procentuální klíčivosti jsou klíčoví normální klíčenci. Normální klíčeneček je mladá rostlina schopná trvalého vývoje ve zdravou vitální rostlinu, jestliže na ni působí příznivé vnější faktory. Klíčence lze klasifikovat jako normálního, jestliže je celkově neporušený, tzn. že má přiměřeně vyvinuté, celé a zdravé hlavní části. Dále klíčenci s malými, povrchovými vadami (Tab. 2) nebo klíčenci se sekundární infekcí, způsobenou patogenními organismy, získanou z jiného zdroje než z mateřského semene. Podmínkou pro uznání takto klasifikovaných jedinců je srovnatelnost s normálními klíčenci téže zkoušky (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

Tabulka 2: Malé vady normálního klíčence. Zdroj: (ISTA, 2019)

Část rostliny	Vady
Kořenový systém	<ul style="list-style-type: none"> • Primární kořen s ohraničeným poškozením nebo mírným zpomalením růstu • Vadný primární kořen je nahrazen větším počtem sekundárních kořenů (<i>Fabaceae, Poaceae</i>) • Pouze 1 seminální kořen (<i>Triticum</i> sp., <i>Avena</i> sp. <i>Secale</i> sp., <i>Triticale</i>)
Hypokotyl, epikotyl	<ul style="list-style-type: none"> • Ohraničené poškození • Povrchové nekrózy • Zhojené zlomeniny • Mělké praskliny a přiškrcení
Děložní listy ! Pravidlo 50 %	<ul style="list-style-type: none"> • Ohraničené poškození, pokud okolní pletivo nejeví známky poškození nebo hniloby • Pouze 1 děložní list • 3 děložní listy • Srostlé děložní listy
Primární listy ! Pravidlo 50 %	<ul style="list-style-type: none"> • Ohraničené poškození, pokud okolní pletivo nejeví známky poškození nebo hniloby • Pouze 1 primární list • Více než 2 primární listy
koleoptile	<ul style="list-style-type: none"> • Ohraničené poškození • Rozštěpená koleoptile do <1/3 její délky • Mírně zatočená nebo tvořící klíčku • Se zeleným listem dosahujícím nejméně do 1/2 koleoptile

Klíčenec neschopný vyklíčení v normální rostlinu za příznivých podmínek je hodnocen jako klíčenec abnormální (vadný). Jako vadné klíčence (Tab. 3) hodnotíme nejen klíčence s poškozením, ale i klíčící rostliny deformované, nerovnoměrně vyvinuté a shnilé (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016).

Tabulka 3: Typy vad abnormálních klíčenců. Zdroj (ISTA, 2019, ÚKZÚZ, 2016)

Abnormální klíčenci	Typy vad
Poškození klíčenci	<ul style="list-style-type: none"> • Hluboké zaškrcení, trhliny, zlomy či poranění nějaké z hlavních částí, které zasahuje do vodivého pletiva • Bez děložních/ primárních listů • Zakrnělý primární kořen, nebo primární kořen chybí (podle druhu) • Chybí jeden z hlavních orgánů nebo je silně poškozen
Deformovaní, nerovnoměrně vyvinutí klíčenci	<ul style="list-style-type: none"> • Jedinci slabě vyvinutí nebo s fyziologickými vadami • Hlavní části jsou vyvinuty v nepoměru s ostatními hlavními částmi • Jedinci vodnatí, sklovití, spirálově stočení
Shnilí klíčenci	<ul style="list-style-type: none"> • Jedna z hlavních částí je napadena choroboplodnými činiteli • Nahnilý nebo shnilý jedinec v důsledku primární infekce (původ z mateřského semene)

3.8 Jetel nachový



Obrázek 8: Jetel nachový. Zdroj: (Johnstonseed, 2019)

Jeteloviny obsahují okolo 300 druhů, z nichž jsou mnohé důležitými komponenty přírodních pastvin a 25 druhů je z nich cíleně pěstováno v zemědělství (Suttie, 2000). Původně pochází z oblastí Malé Asie a jižní Evropy, některé druhy jsou z Jižní Ameriky. Jetel nachový (*Trifolium incarnatum* L.) též známý jako jetel inkarnát je jednoletou kulturní plodinou (Pelikán & Hýbl, 2012) z čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Je pěstován především v mírném pásmu Eurasie, lze jej pěstovat i ve Středomoří v lehkých písčitých půdách (Hackney, et al., 2007), v úrodné půdě ve větší nadmořské výšce se přizpůsobí i podmínkám tropického pásma (Suttie, 2000). Není odolný holomrazu a zamokřeným nebo příliš suchým půdám (Pelikán & Hýbl, 2012, Suttie, 2000). Jetel nachový je vzpřímeného vzrůstu se slabým větvením lodyh. Dorůstá výšky do 60 cm. Listy stejně jako lodyhy jsou pokryté hustým ochlupacím. Květy jsou většinou karmínově zbarvené, kuželovitého nebo válcovitého tvaru. Kořenový systém jetele nachového je ve srovnání s ostatními druhy chudší (Pelikán & Hýbl, 2012), ale obsahuje rozvětvené postranní kořeny, díky kterým je schopen extrahovat vodu z hlubokého půdního profilu.

To mu pomáhá odolávat krátkodobému stresu při nedostatku půdní vlhkosti (Hackney, et al., 2007). Semena (obr. 9) mají pískově či rezavě hnědou barvu a elipsoidní až vejčítý tvar (Pelikán, et al., 2012). Všechny odrůdy semen jetele nachového mají nízký obsah tvrdých semen (Hackney, et al., 2007).



Obrázek 9: Semena *Trifolium incarnatum*. Zdroj: (COSTWOLD, 2019)

Významné využití jetele nachového je jeho použití v integraci rostlinného zemědělství a chovu hospodářských zvířat, a to z mnoha důvodů (Franzluebbers, 2007). Za prvé jetel inkarnát lze použít na seno, avšak kvůli svému bujnému ochlupacení, není seno pro zvířata příliš chutné (Suttie, 2000). Proto je vhodnou složkou pro krátkodobé pastviny (Hackney, et al., 2007), které jsou výhodné zejména pro obnovu a udržitelnost půdní úrodnosti, jakožto zlepšující plodina schopná zadržovat dusík v půdě. Tuto schopnost získala díky symbióze s bakteriemi *Rhizobium* sp. (nejčastěji *Rhizobium trifolii*), které tvoří hlízky (uzliny) na kořenech rostliny a fixující vzdušný dusík (FAO, 1982). Pastviny jsou též prospěšné jako preventivní opatření hustého porostu jetele nachového proti houbovým onemocněním, způsobeném nejčastěji rodem *Fusarium* sp., které ho během vlhkých podnebných podmínek napadají. Pravidelným spásáním se redukuje vlhkost porostu a tím i výskyt onemocnění (Loi, 2009).

3.8.1 Podmínky klíčení při laboratorním zkoušení

Podmínek pro zkoušku klíčivosti v laboratoři se u některých druhů rodu *Trifolium* liší. Porovnání s jinými druhy jsou zobrazena v tab. 4. Jetel nachový podléhá předběžnému ošetření podchlazením (PO) na vlhkém substrátu po dobu 3 dnů nebo použití polyethylenových obálek (PeO) pro prolomení dormance semen, poté klíčí

při teplotě 20 °C. Délka zkoušky klíčivosti se rovná 7 dnům, 4. den je nutné provést první vybírání již vyklíčených zdravých klíčenců. Pro semena jetele nachového v Metodice osiva a sadby není předepsáno použití osvětlení při zkoušce klíčivosti, klíčenci tedy klíčí za působení světla i ve tmě (ÚKZUZ, 2016).

Tabulka 4: Podmínky klíčení rodu *Trifolium*. Zdroj: (ÚKZUZ, 2016)

Druh	Latinský název	Teplota (°C)	První vybírání (dny)	Délka zkoušky (dny)	Předseťová úprava osiva
Jetel nachový	<i>Trifolium incarnatum</i>	20	4	7	PO, PeO
Jetel alexandrijský	<i>Trifolium alexandrinum</i>	20	3	7	-
Jetel luční	<i>Trifolium pratense</i>	20	4	10	PO
Jetel pochybný	<i>Trifolium dubium</i>	20	5	14	PO

3.8.2 Hodnocení klíčenců

Klíčenci jetele se ve zkoušce klíčivosti hodnotí ve 4 opakováních po 100 semenech. Výsledná klíčivost se dále průměruje ze 4 opakování. Konečné hodnocení se koná 7. den, první vybírání zdravých klíčenců 3. den. Hodnocení klíčenci musí být dostatečně vyvinuti pro dobrou viditelnost případných vad. Primární kořen a systém prýtu (nadzemní část rostliny) normální zdravé rostliny jetele musí být neporušený nebo s lehkými vadami (viz. kap. 6.). Dále rostlina nedosahující poloviční délky, než je průměrná délka normálního klíčence se také považuje za abnormální rostlinu. Procentuální podíl tvrdých semen ve zkoušeném vzorku jetele nachového se připočítává ke klíčivým semenům, avšak v maximálním podílu 20 %. Svěží semena lze připočítat k normálním semenům v podílu do 5 % celkové klíčivosti.

Abnormality u klíčenců jsou uvedeny v kap. 6. Vady se vyskytují u jetelovin na hlavních částech mladé rostlinky. Dochází ke zakrňlosti primárního kořene nebo je

primární kořen tupý (příloha 1). Puklost neboli rozštěpení primárního kořene od špičky (příloha 2) se také považuje za vadu. Dále může být primární kořen nahnílý (příloha 3) v důsledku primární infekce nebo kořenová špička zůstane zachycena v osemeni (příloha 4). Pokud primární kořen osemením proroste a osemení zůstane zachycené na klíčenci, nepovažuje se to za vadu a klíčenec je hodnocen jako normální. Vadný hypokotyl je krátký a tlustý nebo s hlubokými příčnými prasklinami či podélnými trhlinami. Je zlomený nebo zaškrbený. Vadný klíčenec je též s hypokotylem, který tvoří smyčku nebo spirálu, nebo je hypokotyl nahnílý v důsledku primární infekce. U vad primárních listů platí pravidlo 50 %. Nekrotické primární (příloha 6) listy se považují za vadné. Je třeba posuzovat klíčence jako celek. Normální klíčenec nesmí být zakrnělý, zdeformovaný (příloha 7) či sklovitý. Častou vadou je zlomení klíčence (příloha 5), nejčastěji odpadnutím (zlomením) budoucích děložních listů (ISTA, 2013, ÚKZÚZ, 2003).

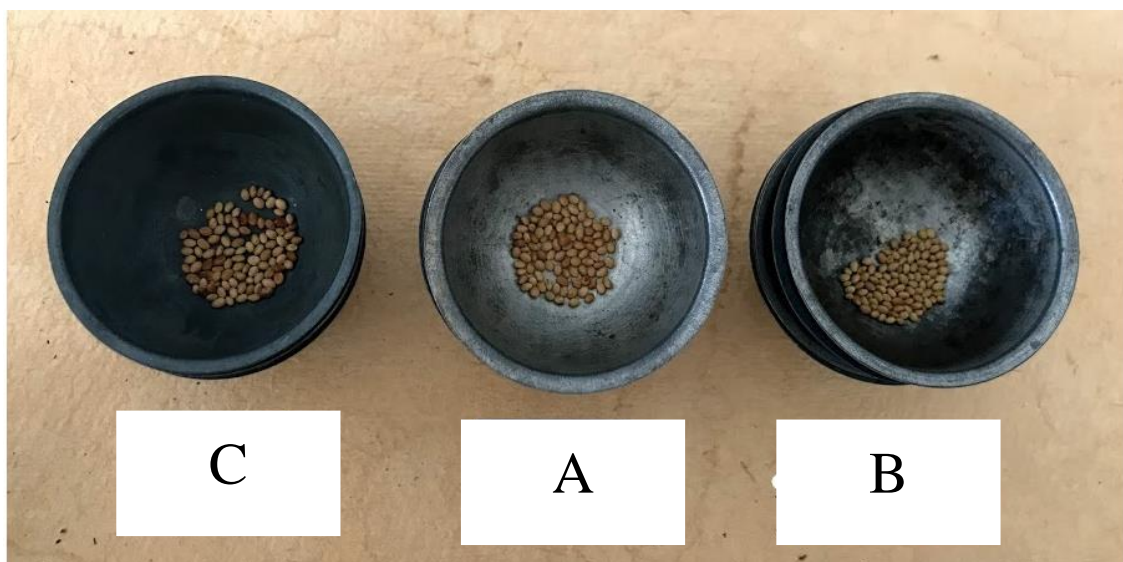
4. Praktická část

4.1 Metodika

4.1.1 Použité vzorky, materiál a pomůcky

Veškerý biologický materiál (obr. 10), pomůcky a prostory byly poskytnuty Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ). Pro výzkum byly použity 3 vybrané vzorky jetele nachového (*Trifolium incarnatum*) z archivu Odboru osiva a sadby ÚKZÚZ, které byly doručeny za účelem zkoušky kvality z 3 různých zdrojů (firem). Byly vybrány 3 vzorky vyšetě téhož roku 2018. Jejich selekce proběhla na základě jejich známé klíčivosti, bez ohledu na jejich odrůdu:

- Jetel A: jetel nachový (Cicero), klíčivost 90 % (archiv ÚKZÚZ)
- Jetel B: jetel nachový (Kardinál), klíčivost 83 % (archiv ÚKZÚZ)
- Jetel C: jetel nachový (Kardinál), klíčivost 59 % (archiv ÚKZÚZ)



Obrázek 10: Zkoušené vzorky jetele nachového. Zdroj: (Foto autor)

Substráty použité pro tento výzkum nebyly ošetřeny žádnými látkami podporujícími růst a vývoj rostliny, nebo naopak patogeny či látkami inhibujícími klíčení rostlin. Bylo použito celkem 5 laboratorních substrátů, které lze použít v laboratorním zkoušení dle ISTA pravidel:

- Filtrační papír (Pernštejn, Česká republika)
- Křemenný písek (Provodínské písky a.s., Česká republika)
- Zemina
- Rašelinové jiffy (Grow shop My – Garden)
- Kokosový substrát (Grow shop My – Garden, CocoStar)

Použité pomůcky:

- Automatické počítadlo semen Contador (Pfeuffer, Kitzingen, Německo)
- Misky na napočítaná semena
- Uzavíratelné nádoby na nasazování semen
- Pinzeta, skalpel
- Voda, stříčka

4.1.2 Pracovní postup

Všechny vybrané vzorky byly podrobeny zkoušce klíčivosti po 3 opakováních v každém ze zvolených substrátů, aby byla dostatečně zajištěna průkaznost výsledků. Všechny zkušební vzorky byly připraveny z dobře promíchaného podílu čistých semen namátkovým odpočítáním 400 semen na počítacím přístroji. Jednotlivá semena byla napočítána zvlášť do 4 misek po 100 semenech. Takto připravená semena byla rovnoměrně rozmístěna do 4 uzavíratelných nádob na vlhký substrát tak, aby se nedotýkala a vzájemně si nepřekážela při klíčení. Metody nasazování na jednotlivé substráty jsou popsány níže. Nádoby s nasazenými semeny byly dány do chladicí místnosti s teplotou 7 °C po dobu 3 dnů kvůli prolomení dormantních semen. Poté byly převezeny do místnosti udržující stálou teplotu 20 °C, kde probíhalo jejich klíčení po dobu 7 dnů. Třetí den bylo provedeno první vybírání zdravých normálních klíčenců a zapsání průběžných výsledků do karty. Nedovinití a vadní klíčenci byly ponechány na substrátu a jejich hodnocení bylo provedeno po ukončení zkoušky klíčivosti 7. den. Výsledná klíčivost 4 opakování byla zapsána do karty klíčivosti, stejně tak počet vadných klíčenců, svěžích, tvrdých a mrtvých semen.

K nasazování semen za použití filtračního papíru byly použity 2 metody, nasazení na filtrační papír, kde byly aplikovány 4 filtrační papíry o velikosti A5 přeložené napůl. Na povrch zvlhčeného filtračního papíru byly vytlačeny důlky, do kterých byla vyseta semena (obr. 11). U druhé metody nasazování semen do filtračního papíru bylo použito stejného papíru jako u metody první, s tím rozdílem že vrchní vrstva byla odklopena a semena byla nasazena na vrstvu pod ní. Následně byla semena lehce přikryta vrchní vrstvou (obr. 12). Na navlhčení filtračního papíru byla použita odměrka 5 ml. Po nasazení semen byly nádoby se semeny přikryty víkem. V případě potřeby doplnění vlhkosti byla zálivka doplněna stříčkou.



Obrázek 11: Metoda na filtračním papíru.

Zdroj: (Foto autor)



Obrázek 12: Metoda ve filtračním papíru.

Zdroj: (Foto autor)

Suchý křemenný písek byl smísen v hluboké nádobě (lavoru) s vodou v poměru 5:1. Tento poměr je ideální na tvoření hrudek písku a zároveň se okolo jednotlivých zrn písku netvoří vodní film. Navlhčený písek byl nanesen do nádoby s víkem v přibližně 2 cm silné vrstvě. Do uhlazené vrstvy písku bylo na jejím povrchu speciálním rovným úzkým předmětem uděláno 10 mělkých důlků, do kterých bylo do každého důlku vyseto po 10 semenech pomocí pinzety. Po nasazení semen byly nádoby uzavřeny.

Propařená kvalitní zahradní zemina byla prosátá skrz síto (obr. 11). Hrubé části, které zůstaly v sítu, byly vysypány na dno klíčících nádob. Nádoby s hrubými částicemi

byly dosypány navlhčenou prosátou zeminou. Hrubé částice a prosátá zemina dohromady tvoří 2 cm silnou vrstvu. Další postup je stejný jako u metody nasazování semen na písek.



Obrázek 14: Síto na prosátí zeminy. Zdroj: (Foto autor)

Před aplikací organických substrátů (rašelina, kokosový substrát) na zkoušku klíčivosti bylo nutné provedení biologického testu z důvodu neznalosti nového substrátu. U kokosového substrátu byla následně provedena předset'ová úprava k odstranění houby *Trichoderma* spp. (ošetření při 130 °C). Kokosový substrát byl dále navlhčen a smísen s pískem v poměru 80:20.



Obrázek 13: Nabobtnalé rašelinové jiffy. Zdroj: (Foto autor)

Rašelinové jiffy byly namočený do vody, po jejich nabobtnání (obr. 13) byla rašelina vyjmuta z obalu, rozdělena na jednotlivá vlákna a též smíchána s pískem o stejném poměru jako kokosový substrát. Na zkoušku 1 vzorku bylo zapotřebí 2 jiffů. Takto připravené substráty byly nanoseny v 0,5- 1 cm tlusté vrstvě na předem navlhčený filtrační papír, který zde slouží pouze jako podpůrný materiál zadržující vlhkost. Na připravené substráty byla rozmístěna semena (obr. 15, obr. 16).



Obrázek 15: Nasazení na rašelině. Zdroj: (Foto autor)



Obrázek 16: Nasazení na kokos. substrátu. Zdroj: (Foto autor)

Hodnocení klíčenců bylo provedeno podle příruček Příručka ISTA pro hodnocení klíčících rostlin a Příručka pro hodnocení klíčících rostlin jetele lučního. Výsledkem zkoušky klíčivosti byla konečná procentuální klíčivost vypočítaná z průměrů 4 opakování po 100 semenech. Ve výsledném hodnocení bylo přihlíženo nejen na konečnou klíčivost semen, ale také na vzhled celkového habitu rostliny, počet tvrdých, vadných a mrtvých semen a na vyskytující se onemocnění (plísňě) rostlin způsobené primární infekcí z mateřských semen a jeho šíření v substrátu. Dále bylo hodnoceno, zda byli někteří klíčenci ovlivněni substrátem více, tzn. klíčenci s nižší klíčivostí nebo klíčenci s klíčivostí okolo 90 % či okolo 80 %.

4.2 Výsledky

4.2.1 Výsledky zkoušky klíčivosti

Při zkoušce klíčivosti u vzorku jetele A dosáhla nevyšší klíčivosti 94 % semena, která klíčila v rašelině. Semena klíčící v kokosovém substrátu a semena klíčící na a ve filtračním papíru vyklíčila s téměř shodnými výsledky. Semena, která klíčila v písku, dosahovala 88 % klíčivosti. S nejhorší klíčivostí 85 % vyklíčila semena v zemině.

Tabulka 5: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele A.

Jetel A	klíčivost	normální (v %) klíčenci	tvrdá semena (v %)	vadní klíčenci (v %)	mrtvá semena (v %)
Na FP	90	87	3	10	0
Ve FP	91	89	2	9	0
Písek	88	86	2	11	1
Zemina	85	83	2	13	2
Rašelina	94	93	1	5	1
Kokos	90	88	2	9	1

U semen vzorku jetele B opět nejhůře klíčila v zemině (80 %), což je o 10 % méně než semena klíčící v rašelině a kokosovém substrátu. Zkouška semen v písku a ve filtračním papíru dosahovala hodnot 87 % a semena na filtračním papíru hodnoty 85 %.

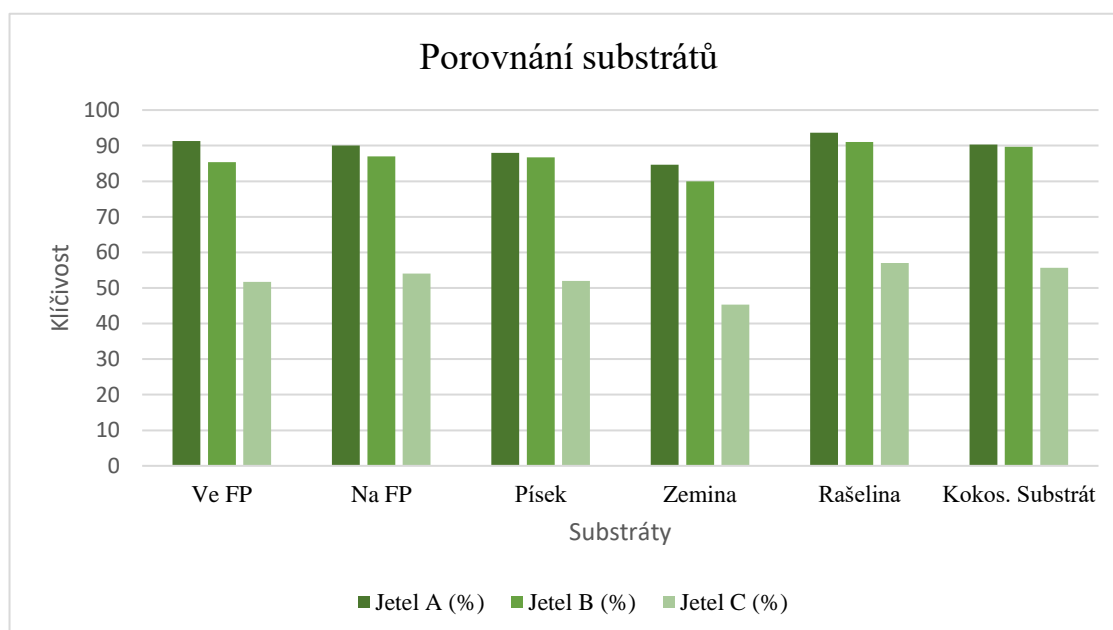
Tabulka 6: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele B.

Jetel B	klíčivost	normální (v %) klíčenci	tvrdá semena (v %)	vadní klíčenci (v %)	mrtvá semena (v %)
Na FP	87	86	1	12	1
Ve FP	85	85	0	14	1
Písek	87	86	1	11	2
Zemina	80	79	1	15	5
Rašelina	91	90	1	7	2
Kokos	90	89	1	10	0

Výsledky klíčivosti semen vzorku jetele C jsou téměř totožné jako u předchozích vzorků. Nejlépe klíčí semena v rašelíně (57 %) a kokosovém substrátu (56 %), Semena klíčeí na filtračním papíru dosahují hodnot klíčivosti 54 %. Klíčivost semen v písku a ve filtračním papíru dostaly výsledku 52 %. Klíčivost semen v zemině jen 45 %.

Tabulka 7: Výsledky zkoušky klíčivosti jetele C.

Jetel C	klíčivost	normální (v %) klíčenci	tvrdá semena (v %)	vadní klíčenci (v %)	mrtvá semena (v %)
Na FP	54	50	5	44	1
Ve FP	52	48	4	47	1
Písek	52	51	1	40	8
Zemina	45	42	4	42	12
Rašelina	57	52	5	40	3
Kokos	56	52	4	42	2



Graf 1: Porovnání výsledků klíčivosti mezi jednotlivými substráty.

Z celkových výsledků je zřejmé, že nejhorších výsledků zkoušky klíčivosti dosáhly klíčenci rostoucí v zemině. To bylo zapříčiněno především rozšířeným výskytem choroboplodné plísně (obr. 17), díky níž nebylo možné klíčence klasifikovat jako normální zdravé klíčence. Hojná přítomnost plísně mohla být způsobena vysokým mikrobiálním rozkladem v zemině s kombinací navlhčení substrátu.



Obrázek 17: Klíčenci v zemině. Zdroj: (Foto autor)

Semena klíčící v písku, na filtračním a ve filtračním papíru klíčila s podobnou klíčivostí. Plíseň se oproti zemině vyskytovala jen lokálně na semenech. Byly přítomny téměř stejné typy vad. U klíčenců klíčících v písku se vyskytovali klíčenci s uhnílymi kořeny (obr. 18).



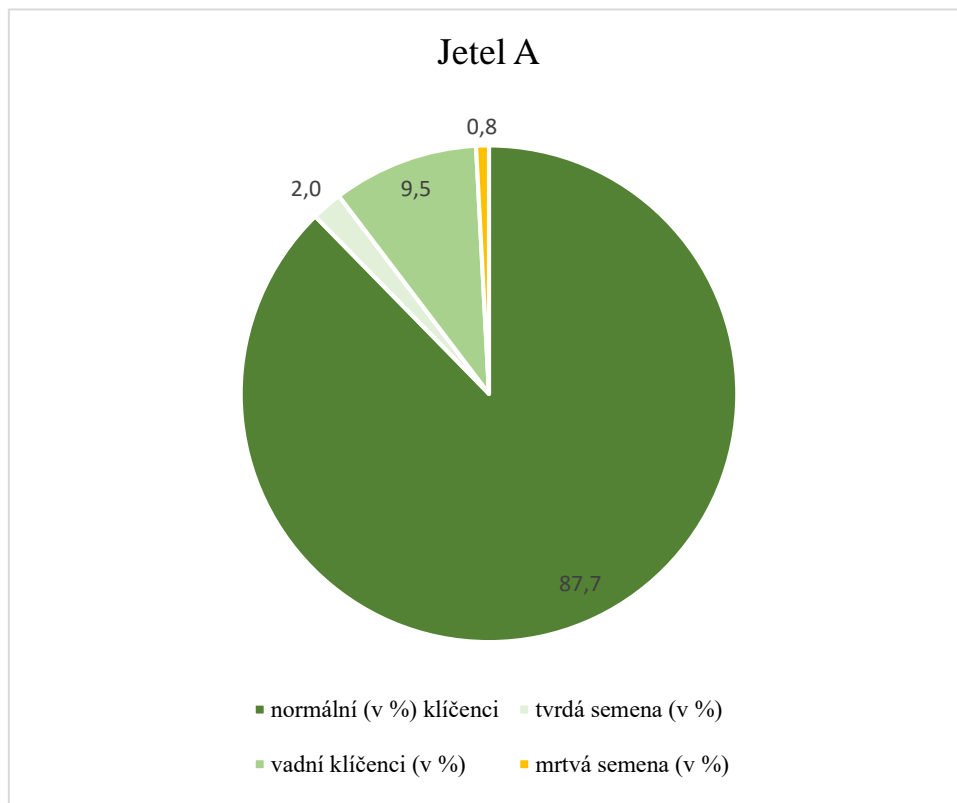
Obrázek 18: Uhnílé kořeny klíčenců v písku. Zdroj: (Foto autor)

Klíčenci, kteří rostli v kokosovém substrátu a rašelině, byly velice mohutní oproti klíčencům klíčících v ostatních substrátech (obr. 19) a měly značně vyvinuté hlavní části (děložní listy, ochlupacený primární kořen). Rostlinky byly bez projevu plísně. Důvodem mohlo být nižší pH jak v kokosovém substrátu, tak v rašelině. Vyskytovalo se u nich nejméně vadných klíčenců, což mělo dopad na vysokou výslednou klíčivost rostlin.

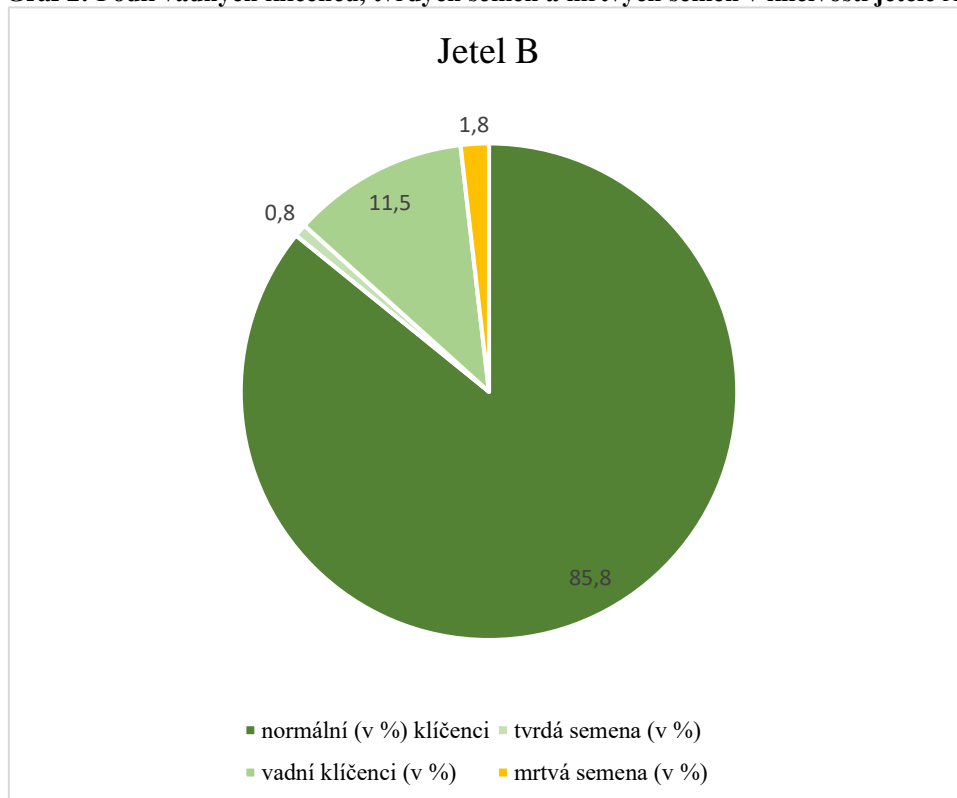


Obrázek 19: Klíčenci v rašelině a na filtračním papíru. Zdroj: (Foto autor)

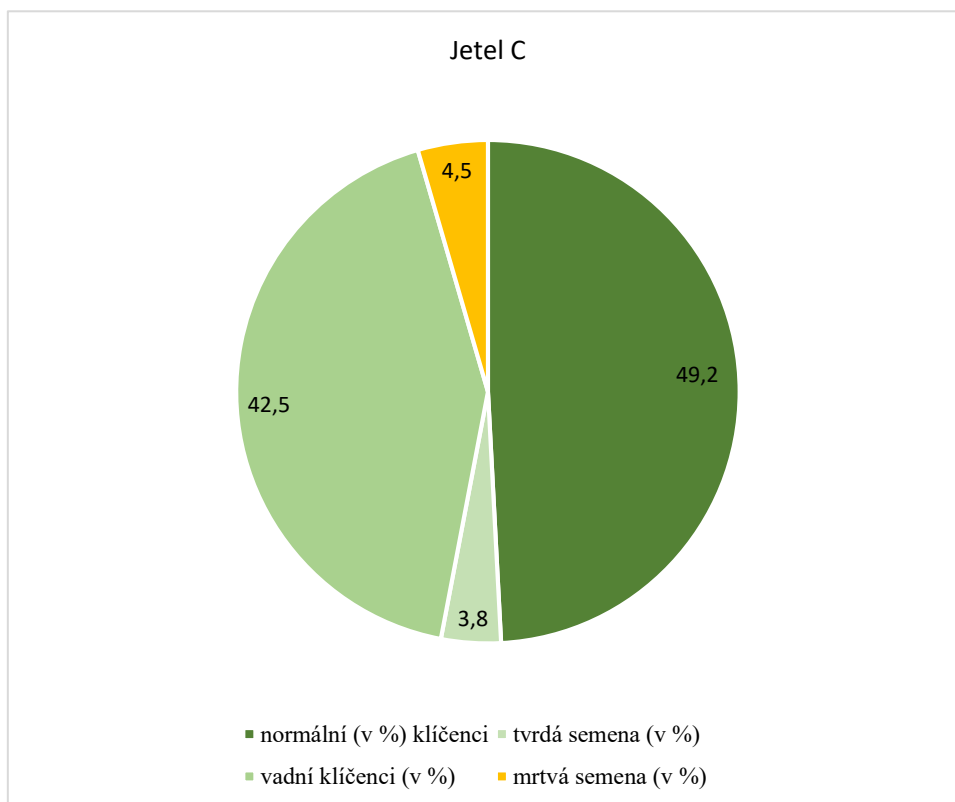
4.2.2 Podíl vadných klíčenců, tvrdých a mrtvých semen v klíčivosti



Graf 2: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele A.



Graf 3: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele B.



Graf 4: Podíl vadných klíčenců, tvrdých semen a mrtvých semen v klíčivosti jetele C.

Z grafů 1, 2 a 3 je zřetelné, že největší vliv na konečnou klíčivost semen měli vadní klíčenci, jejichž podíl se u všech vzorků jetelů v různých substrátech lišil (tab. 5–7). Naopak dle Tab. 5-7 je vidět, že hodnoty tvrdých a mrtvých semen nebyly typem substrátu nijak ovlivňovány. Vady přítomné při hodnocení klíčenců byly v jednotlivých substrátech téměř totožné. Rozdíly mezi jednotlivými vzorky byly zejména v počtu vadných klíčenců. Vyskytující se vady jsou zobrazeny v přílohách 8-13.

4.3 Diskuse

Ve výzkumné části byly použity 3 vzorky jetele nachového ze 3 různých zdrojů, poskytnuty z archivu ÚKZÚZ. Vzorky s předem známou klíčivostí 90 % jetel A odrůda Cicero, jetel B s klíčivostí 83 % a jetel C s klíčivostí 59 % byly ze stejné odrůdy Kardinál. Jetel nachový Kardinál je českou odrůdou, která byla vyšlechtěna českou akciovou společností Selgen ve šlechtitelské stanici v Chlumci nad Cidlinou (Selgen, 2019). Jeho výnos zelené píče může dosahovat 35–40 t/ha (Agromanual, 2018). Velké rozdíly mezi klíčivostmi jetele B a C, ačkoliv se jedná o vzorky stejné odrůdy, nejsou nijak ojedinělé. Ze sklizně této odrůdy v roce 2018 (84 vzorků) by dle databáze ÚKZÚZ (2019)

požadované hraniční hodnoty klíčivosti (75 %) pro případné umožnění prodeje osiva dosahovalo 79,8 % vzorků. Jejich průměrná klíčivost byla 85 %, při čemž nejvyšší hodnota klíčivosti byla 96 % a nejnižší 76 %. Vzorků z téže sklizně, které nedosahovaly svou klíčivostí hraniční hodnoty, bylo 20,2 %. Přičemž výsledky jejich klíčivosti se pohybovaly již od 33 % (ÚKZUZ, 2019). Odrůda jetele A Cicero byla vyšlechtěna v italské semenářské firmě D'Eugenio Seeds s výnosem biomasy 30 t/ha (Deugenioementifabio.it, 2019.). Všechny rozbory vzorků této odrůdy sklizně 2018 dosahovaly hraniční hodnoty s průměrnou klíčivostí 87 % (ÚKZUZ, 2019).

Rozdíly mezi klíčenci v jednotlivých substrátech byly znatelné již na první pohled. Jak je vidět na obr. 16 klíčenci rostoucí v rašelině byli ve stejný den 1. vybírání, které probíhá 4. den, mnohem větší, mohutnější a jejich hlavní části (kořen, hypokotyl, děložní listy) byly nesrovnatelně vyvinutější než u klíčenců klíčících na filtračním papíru. Srovnatelně vyvinutí klíčenci s rašelinovými klíčenci rostli z vybraných substrátů jen v kokosovém substrátu. Dalším viditelným rozdílem byl výskyt určitých typů vad v různých substrátech. Např. u jetele C byla nejčastěji nalezená vada odpad děložních listů. Přítomnost této vady byla v kokosovém substrátu a rašelině redukována. Úbytek vadných klíčenců i s jinými anomáliemi byl znatelný u těchto substrátů ve zkouškách klíčivosti jetele A i B.

Změny výsledků klíčivosti jednotlivých zkušebních vzorků v různých substrátech se měnily podobně, a tak lze s jistotou říci, že nejlépe dopadli klíčenci rostoucí v rašelině. Rašelina je velmi významný substrát pro klíčení zejména díky svým fyzikálním a biochemickým vlastnostem. Rašelině se nachází ve všech biotopech světa od arktické a alpské tundry po rašelině, slatiniště a bažiny mírného i tropického pásma, kde se tvoří nahromaděním částečně rozložené rostlinné biomasy. Rašelině hrají velkou roli v globálních vodách a biochemických cyklech (Rezanezhad, et al., 2016), bohužel nepatří mezi obnovitelné udržitelné zdroje. Kromě toho v rašelině dochází k poklesu objemu vody. Voda se zadržuje v pórech rašeliny, pokud dojde k jejímu nedostatku, póry vysychají a smršťují se. To zapříčiní úbytek objemové hmoty rašeliny a zmenšování rašelině (Grzywna, 2017). V budoucnu tak dojde k její problematické dostupnosti, která dala impuls k hledání vhodných alternativ, jež by svými vlastnostmi mohly rašelinu nahradit (Abad, et al., 2005). Výsledky klíčenců rostoucích v kokosovém substrátu dopadly stejně dobře jako v rašelině. Proto by právě kokosová vlákna mohla tolik využívanou rašelinu nahradit. Kokosový substrát je totiž vedlejším odpadním produktem

zpracovávání kokosu ke spotřebitelským a průmyslným účelům. Je to tak další možnost, jak znovu použít již dále nevyužitou látku (Abad, et al., 2005). Filtrační papír je nejběžněji používané médium pro laboratorní zkoušky klíčivosti. Hlavními důvody jsou především dobrá manipulace a rychlost práce nejen při zakládání pokusu, ale i při hodnocení klíčenců. Dalším důvodem je poměr ceny a spotřeby materiálu, která je menší než např. u spotřeby písku, jenž je též velmi používaný zejména na zkoušku klíčivosti u luskovin (ÚKZUZ, 2019). Nejčastěji hodnoceným substrátem je zemina. Příčinou jejich špatných výsledků je zvýšený výskyt plísně. Studie (Otten & Gilligan, 2006) shrnující výzkumy zkoumající interakce půdy, rostliny a patogenů a jejich vzájemnou korelaci říká, že infekce je ovlivňována fyzikálními vlastnostmi půdy (prostor pórů, obsah organické hmoty, vlhkost, pH) a jejími změnami způsobenými růstem kořenů rostliny, který napomáhá šíření infekce. Ačkoliv znalosti o mechanismech podílejících se na infekci narůstají, jsou čerpány z výzkumu ve sterilních podmínkách bez přítomnosti půdy. Proto rozsah infekce a proč jsou některé půdy napadány a jiné nikoliv zůstává stále nevyřešeno. Zjištěné poznatky vycházejí z pozorování v polních podmínkách.

5. Závěr

Klíčivost semen byla stanovena dle standardních laboratorních postupů za stejných vnějších podmínek určených ISTA pravidly vyhovujícím danému druhu jeteli nachového. Jako nejlepší médium pro klíčivost semen byla vyhodnocena rašelina a kokosový substrát, ve kterém byli klíčenci značně vyvinutější než v ostatních použitých substrátech a výsledná klíčivost vyšší. Laboratořemi nejpoužívanější filtrační papír měl jen o několik procent horší výsledky klíčivosti než rašelina a kokosový substrát, a to v obou metodách jeho používání. Významné rozdíly byly však v habitu klíčenců rostoucích ve filtračním papíru a v rašelině či kokosových vláknech. Písek byl vyhodnocen podobně jako filtrační papír. Nejhuře hodnoceným substrátem se stala zemina, a to hlavně z příčiny výskytu plísně. Z výsledků zkoušených vzorků je zřejmé, že výslednou hodnotu klíčivosti měnil zejména počet vadných klíčenců, který se ve vybraných substrátech lišil. Dále byly patrné rozdíly v celkovém vzezření habitu klíčenců klíčících ve zkoumaných substrátech. V obou dvou případech se výsledky ve vybraných substrátech lišily.

6. Reference

- Abad M, Fornes F, Carrión C, Noguera V. 2005. Physical properties of various coconut coir dust compared to peat. *HortScience* **40**: 2138-2144.
- Agromanual.cz, 2018. *Jetel nachový. Kurent, s.r.o.* Available at: https://www.agromanual.cz/cz/atlas/plodiny/plodina/jetel-nachovy_ (accessed March 2019).
- Baskin JM, Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* **14**, 1–16.
- Bedrna Z. 1989. *Substráty na pestovanie rastlín. Príroda, Bratislava.*
- Bello P, Bradford KJ. 2016. Single-seed oxygen consumption measurements and population-based threshold models link respiration and germination rates under diverse conditions. *Seed Science Research* **26**: 199–221.
- Bewley JD, Black M. 1983. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination. Springer- Verlag, Berlin.*
- Bláha L, Kadlec P, Kohout L, Gottwaldová P, Čepl J, Macháčková I, Hnilička F. 2008. Vitalita osiva, kvalita sadby a jejich význam. *Úroda* **56**, 78-82.
- Bláha V, Gottwaldová P. 2007. Změny v klíčivosti semen v průběhu roku. *Úroda* **55**, 64-65.
- Butler TJ, Celen AE, Webb SL, Krstic D, Interrante SM. 2014. Temperature Affects the Germination of Forage Legume Seeds. *Crop science* **54**, 2846-2853.
- Claessens S. 2012. *Dormancy cycling in seeds: mechanism and regulation. Wageningen University, Wageningen.*
- Cotswoldseeds.com. 2019. Crimson clover. Cotswold Grass Seeds. Available at: https://www.cotswoldseeds.com/species/10/crimson-clover?fbclid=IwAR2xF4DDItgE6n6DEXFzIFgBWJgUCe-yKvDSTfCURYiTc_e9-ivH-z_aHIM (accessed 18 February 2019).
- Derckx M. 1993. *Regulation of seasonal patterns in seed dormancy. Landbouwniversiteit, Wageningen.*

- Deugenioementifabio.it. 2019. Crimson clover. D'EUGENIO SEMENTI di Fabio D'Eugenio & C.srl. Available at:
<http://www.deugenioementifabio.it/en/prodotti/cicero?ajax=true>
(accessed 30 March 2019).
- Domeno I, Irigoyen N, Muro J. 2009. Evolution of organic matter and drainages in wood fibre and coconut. *Scientia Horticulturae* **122**: 269-274
- FAO. 2002. Coir Processing Technologies - Improvement of Drying, Softening, Bleaching and Dyeing Coir Fibre/Yarn and Printing Coir Floor Coverings. FAO, Wageningen. Available at:
<http://www.fao.org/docrep/005/Y3612E/y3612e00.htm#Contents>
(accessed 7 February 2019).
- FAO. 1982. Application of nitrogen-fixing systems in soil management. FAO, Rome. Available at: http://www.fao.org/3/a-ar126e.pdf?fbclid=IwAROK_n-dvrXKIyuXR7_QMMBzpluucdQZEQSRhpr8NDeZwylccJIQ2DeYgTY
(accessed 18 February 2019).
- FAO. 2019. Future Fibres. FAO. Available at: <http://www.fao.org/economic/futurefibres/fibres/coir/en/>
(accessed 7 February 2019).
- Franzluebbbers AJ. 2007. Integrated Crop–Livestock Systems in the Southeastern USA. *Agronomy Journal* **99**: 361–372.
- Grzywna A. 2017. The degree of peatland subsidence resulting from drainage of land. *Environmental Earth Sciences* **76**: 559.
- Hackney B, Crocker G, Dear B. 2007. Crimson clover. NSW DPI. Available at:
https://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0009/155466/crimson-clover.pdf?fbclid=IwAR1RaG0xNvvs--b1baRPnxb82fzL3ELwgQdFubktZafDUv4uRMfciMs7E38
(accessed 18 February 2019).
- He H. 2014. Environmental Regulation of Seed Performance. Wageningen University, Wageningen.
- Hosnedl V. 1997. Význam podmínek množení a deteriorace semen pro kvalitu osiva. Česká zemědělská univerzita, Praha. Available at:
<http://www.agris.cz/clanek/111373> (accessed 13 January 2019).

- Hosnedl V. 1999. Stárnutí a vitalita osiva. Česká zemědělská univerzita, Praha.
Available at: <http://www.agris.cz/clanek/111049> (accessed 9 January 2019).
- Houba M, Hosnedl V. 2002. Osivo & sadba: Praktické semenářství. Martin Sedláček, Praha.
- Hrušková H, Hofbauer J. 1999. Problematika tvrdosemennosti jetelovin. Česká zemědělská univerzita, Agronomická fakulta, Praha. Available at: <http://www.agris.cz/clanek/111116> (accessed 18 December 2018).
- ISTA. 2019. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf.
- ISTA. 2013. Příručka ISTA pro hodnocení klíčnic rostlin. Bassersdorf.
- Johnstonseed. 2019. Crimson clover. Johnston Seed Company. Available at: <https://www.johnstonseed.com/product/crimson-clover/> (accessed 26 March 2019).
- Lang GA. 1996. Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. CAB International, Wallingford.
- Loi A. 2009. Crimson clover. Department of Agriculture and Food Western Australia. Available at: https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/pastures/Html/Crimson_clover.htm?fbclid=IwAR2Xfj9i8UvF32pqoe1MCoBemho09p8vYkQe82NZDdWZKD6F1wrry1TAbm0 (accessed 18 February 2019).
- Luštinec J, Žárský V. 2005. Úvod do fyziologie vyšších rostlin. Karolinum.
- Misra R, Roy RN, Hiraoka H. 2003. ON-FARM COMPOSTING METHODS. Available at: <http://www.fao.org/3/y5104e/y5104e00.htm> (accessed 7 February 2019).
- Mendelu.cz. 2014. Morfologie semen. Mendelova univerzita, Brno. Available at: http://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/obecna_botanika/texty-organologie-morfologie_semen.html (accessed 13 January 2019).
- Novák J, Skalický M. 2017. Botanika. Powerprint, Praha.
- Otten W, Gilligan CA. 2006. Soil structure and soil-borne diseases: using epidemiological concepts to scale from fungal spread to plant epidemics. *European Journal of Soil Science* **57**: 26–37.
- Pelikán J, Hutyrová H, Knotová D, Raab S, Vymyslický T. 2012. Atlas semen druhů čeledi Bobovitých (Fabaceae LINDL.). Baštan, Troubsko.

- Pelikán J, Hýbl M. 2012. Rostliny čeledi Fabaceae LINDL. (bobovité) České republiky. Baštan, Troubsko.
- Priestley DA. 1986. Seed Aging: Implications for seed storage and persistence in the soil. Comstock publishing associates, Ithaca.
- Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J. 1998. Fyziologie rostlin. Academia Praha, Praha.
- Researchgate.net. 2014. Developmental timeline of dormancy. Research Gate. Available at: https://www.researchgate.net/figure/Developmental-timeline-of-dormancy-induction-and-decay-in-seeds-Induction-and_fig1_266950829 (accessed 16 January 2019).
- Rezanezhad F, Price JS, Quinton WL, Lennartz B, Milojevic T, Cappellen PV. 2016. Structure of peat soils and implications for water storage, flow and solute. *Chemical Geology* **429**: 75-84.
- Tyller R. 2019. Jetel nachový- Semenářství jetele nachového (*Trifolium incarnatum* L.). Selgen, a.s., Chlumec nad Cidlinou. Available at: <http://selgen.cz/agrotechnicka-doporuceni-2/jetel-nachovy/> (accessed 30 March 2019).
- Smýkal P, Vernoud V, Blair MW, Soukup A, Thompson RD. 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. *Frontiers in Plant Science* **5**: 351.
- Suttie JM. 2000. Hay and Straw Conservation - For Small-Scale Farming and Pastoral Conditions. FAO, Rome. Available at: <http://www.fao.org/3/x7660e/x7660e00.htm#Contents> (accessed 18 February 2019).
- ÚKZÚZ. 2003. Příručka pro hodnocení klíčících rostlin jetele lučního. Praha.
- ÚKZÚZ. 2016. Metodika zkoušení osiva a sadby. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Praha.
- ÚKZÚZ, 2019. Interní databáze ÚKZÚZ. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Praha.
- ÚKZÚZ Laborant. 2019. Laboratorní zkoušení klíčivosti - osobní sdělení. Praha 29 March.
- Valičková V. 2017. Faktory ovlivňující klíčení, vzcházení a mortalitu semen v půdní zásobě druhu *Bromus sterilis* L. (Dissertation thesis). Česká zemědělská univerzita, Praha.

Vaněk V. 2012. Výživa zahradních rostlin. Academia, Praha.

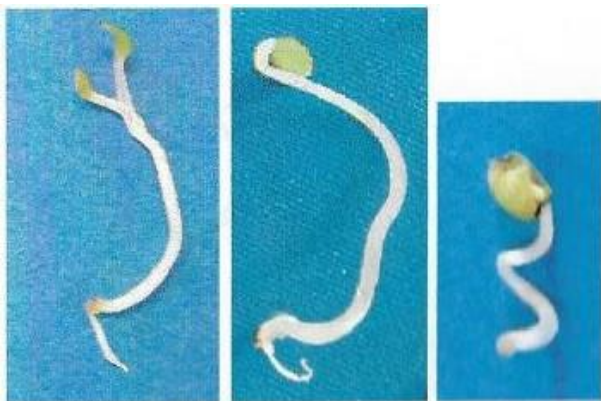
Veljevic N, Simić A, Vučković S, Živanović L, Poštić D, Štrbanović R,

Stanisavljević R. 2018. Influence of Different Pre-sowing Treatments on Seed Dormancy Breakdown, Germination and Vigour of Red Clover and Italian Ryegrass. International Journal of Agriculture and biology **20**: 1548-1554.

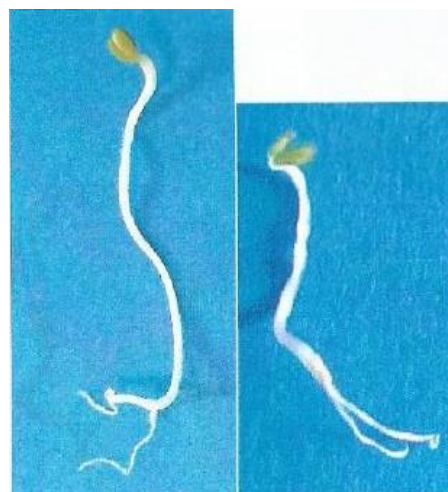
7. Přílohy

Seznam příloh:

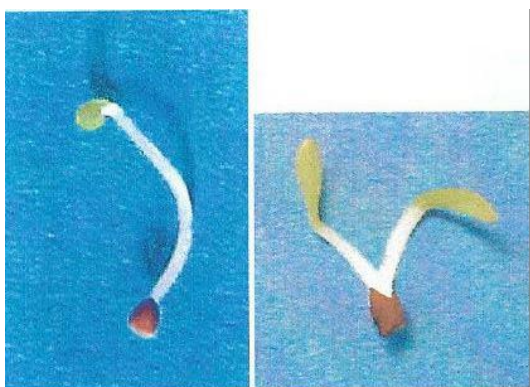
Příloha 1: Primární kořen zakrnělý nebo tupý.	II
Příloha 2: Rozštěpený primární kořen.	II
Příloha 3: Primární kořen v osemeni.	II
Příloha 4: Nahnilý primární kořen.	II
Příloha 5: Zlomený klíčeneček.	II
Příloha 6: Deformování klíčenci.	II
Příloha 7: Primární listy nekrotické.	III
Příloha 8: Primární kořen v osemeni.	III
Příloha 9: Deformovaný klíčeneček.	III
Příloha 10: Rozštěpený kořen.	III
Příloha 11: Porovnání zakrslých klíčenců s normálním klíčencem.	III
Příloha 12: Ulomené primární listy.	IV
Příloha 13: Hluboká prasklina na hypokotylu.	IV



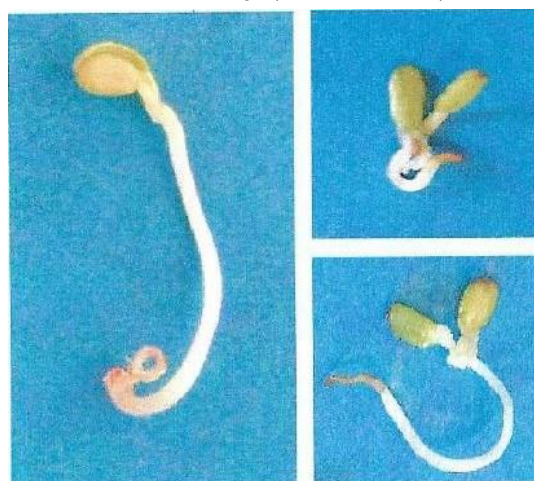
**Příloha 1: Primární kořen zakrnělý nebo tupý.
Zdroj: (ÚKZUZ, 2003)**



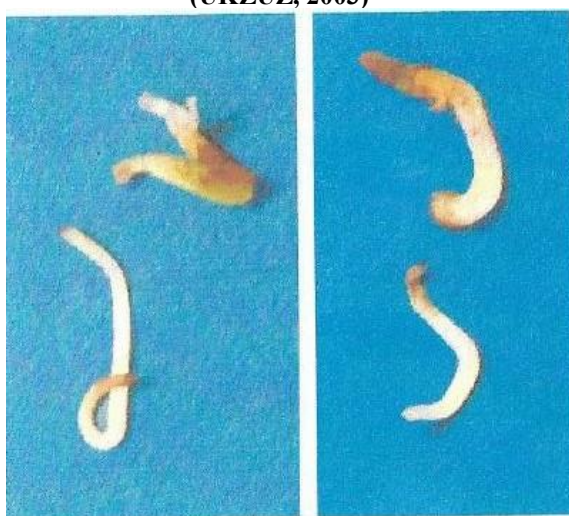
**Příloha 2: Rozštěpený primární kořen.
Zdroj: (ÚKZUZ, 2003)**



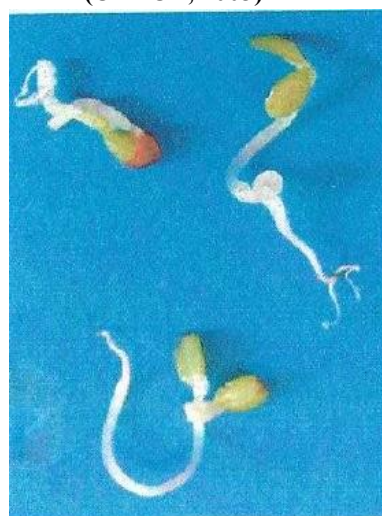
**Příloha 6: Primární kořen v osemeni. Zdroj:
(ÚKZUZ, 2003)**



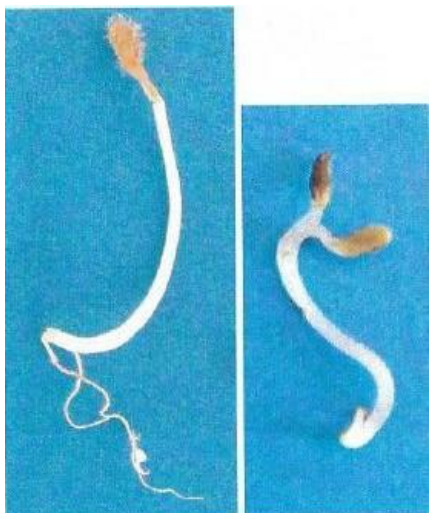
**Příloha 5: Nahnílý primární kořen. Zdroj:
(ÚKZUZ, 2003)**



**Příloha 4: Zlomený klíčenec.
Zdroj: (ÚKZUZ, 2003)**



**Příloha 3: Deformovaní klíčenci. Zdroj:
(ÚKZUZ, 2003)**



Příloha 8: Primární listy nekrotické. Zdroj: (ÚKZUZ, 2003)



Příloha 7: Primární kořen v osemeni. Zdroj: (Foto autor)



Příloha 11: Deformovaný klíčeneček. Zdroj: (Foto autor)



Příloha 10: Rozštěpený kořen. Zdroj: (Foto autor)



Příloha 9: Porovnání zakrslých klíčenců s normálním klíčencem. Zdroj: (Foto autor)



**Příloha 12: Ulomené primární listy.
Zdroj: (Foto autor)**



**Příloha 13: Hluboká prasklina na
hypokotylu. Zdroj: (Foto autor)**