

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra pěstování lesů



**Potenciál využití brassinosteroidů v lesním
semenářství, školkařství a při zakládání lesa**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Petr Bach

Vedoucí práce: Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra pěstování lesů

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Petr Bach

Lesní inženýrství

Název práce

Potenciál využití brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a při zakládání lesa

Název anglicky

Potential of brassinosteroids for forest seed and nursery management and for forest regeneration

Cíle práce

Cílem práce je zrekapitulovat dosavadní studie věnované využití brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a zalesňování, které provádí tým Katedry pěstování lesů. Tyto studie konfrontovat s poznatky získanými jinde. Na základě analýzy výsledků a rozboru literatury posoudit možné oblasti, kde by využití brassinosteroidů mohlo mít praktický smysl, a kam by se měla soustředit pozornost aplikovaného výzkumu těchto růstových regulátorů v oblasti zakládání lesa.

Metodika

Prostudujte literaturu o brassinosteroidech.

Seznamte se s experimenty týkajícími se brassinosteroidů, které se uskutečňují na Katedře pěstování lesů.

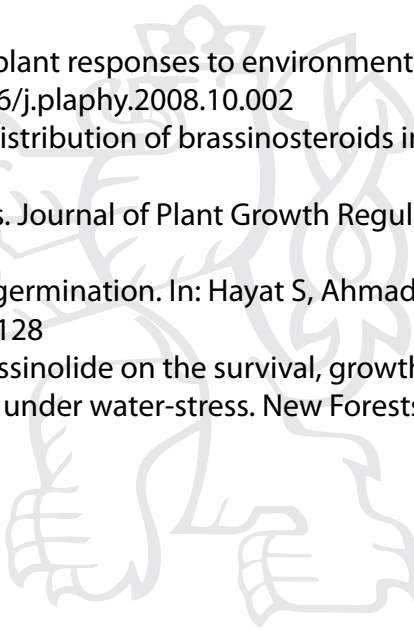
Proveďte konfrontaci výsledků studií s dostupnou literaturou.

Z analýzy vyvodte závěry a navrhněte možná doporučení týkající se směřování dalšího aplikovaného výzkumu brassinosteroidů a jejich případného uplatnění v lesním školkařství a zakládání lesa.

Doporučený rozsah práce

40 stran

Doporučené zdroje informací

- Bajguz A, Hayat S (2009) Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1–8. doi:10.1016/j.plaphy.2008.10.002
- Bajguz A, Tretyn A (2003) The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry* 62: 1027–1046
- Krishna P (2003) Brassinosteroid-mediated stress responses. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 289–297. doi:10.1007/s00344-003-0058-z
- Leubner-Metzger G (2003) Brassinosteroids promote seed germination. In: Hayat S, Ahmad A (eds) *Brassinosteroids*. Kluwer Academic Publisher, pp 119–128
- Li KR, Wang HH, Han G, Wang QJ, Fan J (2008) Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. *New Forests* 35: 255–266. doi:10.1007/s11056-007-9075-2
- 

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 4. 3. 2015

prof. Ing. Vilém Podrázský, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 10. 3. 2015

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan

V Praze dne 14. 04. 2015

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Potenciál využití brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a při zakládání lesa" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2015

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Ivanu Kunešovi, Ph.D., za odborné vedení diplomové práce, poskytnutou cizojazyčnou literaturu, za cenné rady a připomínky v průběhu zpracování této práce.

Dále bych chtěl poděkovat členům výzkumné školkařské stanice, Katedry pěstování lesa, Truba, a to Ing. Olze Novákové, Ing. Nadě Rašákové a Ing. Martinu Balášovi, za poskytnuté informace v oblasti výzkumu brassinosteroidů.

SOUHRN

Brassinosteroidy (BRs) jsou rostlinné steroidní hormony, které mohou mít za určitých podmínek pozitivní vliv na růst a vývoj rostlin a byly označeny jako v pořadí již šestá skupina rostlinných hormonů. Přírodní brassinolid byl poprvé izolován z pylu řepky olejky (*Brassica napus* L.). V současné době se vyrábějí především synteticky a jsou účinné při velmi malých koncentracích. V několika studiích byl prokázán jejich pozitivní vliv na růst, kvetení, klíčení a překonávání stresových podmínek u různých druhů rostlin.

Dosavadní vědecké studie, zabývající se vlivem brassinosteroidů na rostliny byly aplikovány především na zemědělské plodiny. Výzkum v oblasti lesního semenářství a školkařství donedávna téměř zcela chyběl. V České republice se využitím brassinosteroidů v lesnictví začala v nedávné době zabývat i Katedra pěstování lesů Fakulty lesnické a dřevařské ČZU v Praze.

Cílem této diplomové práce je vypracování literární rešerše na téma brassinosteroidy a shrnout dosavadní výzkum jejich vlivu na rostliny. Další část je věnována vlivu brassinosteroidů na klíčení semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v běžných podmínkách a v podmínkách stresových.

Výsledky praktické studie ukazují, že brassinosteroidy mají kladný vliv na klíčení semen borovice v běžných podmínkách, kdy semena ošetřená v BRs roztoku vykazují mnohem vyšší klíčivost, než semena v kontrolních vzorcích. Pozitivní vliv se u semen borovice lesní neprojevil při stresu způsobeném zvýšenou teplotou prostředí. V oblasti lesního školkařství ve středoevropských podmínkách nebyl v dosavadních výzkumech zjištěn prokazatelně pozitivní vliv BRs na sadební materiál.

Klíčová slova: brassinosteroidy, borovice, klíčení, semena, stres

ABSTRACT

Brassinosteroids (BRs) are a class of polyhydroxysteroids that have been recognized as a sixth class of plant hormones. In specific conditions BRs can positively influence the plant growth and development. The first isolated brassinosteroid was natural Brassinolide from rapeseed (*Brassica napus* L.). Recently BRs are extracted primarily synthetically; they are effective even in very low concentrations. Several studies of different plant species show positive influence of BRs on growth, flowering, germination and resistance to stress factors.

Existing scientific studies that deal with BRs impact on plants were predominantly applied on agricultural crops. Until presence, the similar research in forest seed treatment and forest nursery was almost missing. In the Czech Republic the Department of Silviculture of the Faculty of Forestry and Wood Sciences of the Czech University of Life Sciences Prague newly started to deal with the use of BRs in forestry.

The aim of this master thesis is to elaborate literature review on BRs and to summarize existing research of their impact on plants. Second part of the thesis solves influence of BRs on Scots pine (*Pinus silvestris*) seeds germination. Tests are performed in normal and in stress conditions.

Results of the practical part show that BRs affect positively seed germination in normal conditions; seeds treated with BRs show higher germination rate than control seeds. Positive impact was not registered when the seeds were exposed to stress factor – heat. Any research paper showing significant positive influence on forest seedlings in Central European conditions was not published yet.

Keywords: brassinosteroids, pine, germination, seeds, stress

Obsah

1 Úvod.....	7
2 Cíle práce	8
3 Rozbor problematiky	9
3.1 Brassinosteroidy	9
3.1.1 Úvod.....	9
3.1.2 Chemické složení brassinosteroidů.....	10
3.1.3 Přirozený výskyt brassinosteroidů	11
3.1.4 Přenos signálu	12
3.1.5 Vliv brassinosteroidů na rostliny	12
3.1.6 Antistresové účinky brassinosteroidů na rostliny	12
3.1.6.1 Úvod	12
3.1.6.2 Teplotní stres	13
3.1.6.3 Stres zasolením	14
3.1.6.4 Stres suchem	14
3.1.6.5 Patogenní stres	15
3.1.6.6 Ostatní stresy	15
3.1.7 Interakce brassinosteroidů s jinými rostlinnými hormony	16
3.1.8 Vliv brassinosteroidů na obranné rostlinné reakce	17
3.1.9 Budoucí směry ve výzkumu brassinosteroidů	17
3.2 Studie Katedry pěstování lesů.....	18
3.2.1 Úvod.....	18
3.2.2 Vliv na sazenice lesních dřevin	19
3.2.3 Vliv na klíčení semen lesních dřevin	19
3.2.4 Vliv na sazenice ve školkách a při zakládání lesa	19
3.2.4.1 Průměr kořenového krčku	19
3.2.4.2 Výška sazenic	20
3.2.4.3 Objem biomasy.....	20
3.2.4.4 Mortalita	20
3.2.4.5 Zhodnocení	20
3.3 Lesní semenářství.....	21
3.3.1 Hodnocení kvality lesního osiva.....	21
3.3.2 Historie lesního semenářství.....	22
3.3.3 Současnost	24
3.3.4 ČSN 48 1211.....	24

3.4 Klíčení semen	25
4 Metodika	27
4.1 Vliv brassinosteroidů na klíčení semen borovice lesní (<i>Pinus sylvestris</i>) ..	27
4.1.1 Úvod.....	27
4.1.2 Informace o použitém osivu	27
4.1.3 Použitá klimakomora	28
4.1.4 Metodický postup pokusu	29
4.1.4.1 Varianty (koncentrace roztoku BRs).....	29
4.1.4.2 Režimy (podmínky kultivace)	30
4.1.4.3 Postup pokusu.....	31
4.1.4.4 Měření klíčků a počítání semen.....	31
5 Výsledky	32
5.1 Pokus č. 1	32
5.2 Pokus č. 2	34
5.3 Pokus č. 3	36
5.4 Průměr z pokusů č. 1 až 3	38
6 Diskuze	40
6.1 Vliv na sazenice lesních dřevin	40
6.2 Vliv na klíčivost semen	41
7 Závěr	42
8 Seznam literatury a použitých zdrojů	43
9 Přílohy	50

Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tabulka číslo:

- 1) Údaje o klimakomoře
- 2) Počty vyklíčených semen pokusu č. 1
- 3) Počty vyklíčených semen pokusu č. 2
- 4) Počty vyklíčených semen pokusu č. 3
- 5) Průměrné počty vyklíčených semen pokusu č. 1 až 3

Obrázek číslo:

- 1) Chemická struktura brassinolidu
- 2) Malé provozní klíčidlo
- 3) Klíčení rostlin
- 4) Klimakomora Pol-eko

Graf číslo:

- 1) Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 1
- 2) Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 1
- 3) Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 2
- 4) Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 2
- 5) Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 3
- 6) Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 3
- 7) Průměrný celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 1 až 3
- 8) Průměrný počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 1 až 3

Seznam použitých zkratk a symbolů

- ABA – kyselina abscisová
- ATP – adenosintrifosfát
- AV ČR – Akademie věd České republiky
- BL – brassinolid
- BR – brassinosteroid
- BRs – brassinosteroidy
- ČSN – česká technická norma
- ČZU – Česká zemědělská univerzita
- EBR – epibrassinolid
- FLD – Fakulta lesnická a dřevařská
- GA – gibberelin
- HSGs – granule teplotního šoku
- JA – kyselina jasmonová
- M – moll
- NaCl – chlorid sodný

1 Úvod

Trendem dnešní doby je neustálé zvyšování výroby a produkce ve všech oborech a odvětvích. Nejinak je tomu i v zemědělství a lesnictví, kde jsou neustále vyvíjeny nové metody a postupy pro dosažení vyšších výnosů plodin či vyšší produkce dřevní hmoty. Bohužel jsou tyto snahy někdy na úkor kvality produktů a mohou být škodlivé i pro životní prostředí.

Problematika je totiž často řešena hnojením umělými hnojivy, zvyšováním jejich dávek a koncentrací. Organická hnojiva jsou používána čím dál méně, důsledkem neustálého snižování stavů hospodářských zvířat v chovech. Tím jsou neustále zhoršovány vlastnosti půdy a její úrodnost. V lesnictví naštěstí nejsou tyto změny tak patrné, jako v zemědělské výrobě.

Rostlinnými steroidy, podporujícími určité vlastnosti rostlin za specifických podmínek, se lesnický výzkum zabýval zatím pouze sporadicky. Tyto fytohormony však můžou pozitivně ovlivnit budoucí směry zejména v lesním školkařství. Mohou ovlivňovat produkci biomasy, jako například růst kořenů, prodloužení stonku a klíčení semen, ale hlavně mohou (alespoň podle studií ze zemědělství) rostliny chránit před určitými stresovými situacemi.

Ochrana před různými stresy je asi hlavním důvodem pro testování jedné ze skupin rostlinných hormonů, tzv. brassinosteroidů (dále jen BRs). Tyto rostlinné hormony jsou v různém množství obsaženy ve všech rostlinách a jejich částech a jsou pro rostliny velmi prospěšné. Existují studie ukazující schopnost BRs uchránit rostlinu před stresy, jako je sucho, zamokření, vysoké a nízké teploty, zátěž v podobě solí a těžkých kovů, použití pesticidů či napadení rostlin patogeny.

Tyto fytohormony byly zkoumány většinou zatím jen na zemědělských plodinách, na kterých již bylo provedeno mnoho výzkumů s různými, ať už kladnými, nulovými, nebo zápornými výsledky. V lesnictví se tato problematika řešila pouze okrajově a v ČR výzkum uplatnění BRs v lesnictví do nedávné doby prakticky chyběl.

Brassinosteroidy tedy představují, ať už pro lesnický provoz, nebo lesnický výzkum, určitou výzvu do budoucna. Je žádoucí se jimi dále a podrobněji zabývat a provést výzkum jejich vlivu na veškerou možnou problematiku v lesnictví, zejména v semenářství, školkařství a zakládání lesních porostů.

2 Cíle práce

1. Zjistit potenciál využití brassinosteroidů v lesním hospodářství, a to zejména v oblasti semenářství, školkařství a při zakládání lesních porostů.
2. Vypracovat stručnou literární rešerši týkající se brassinosteroidů, tato část bude věnována dosavadním výsledkům výzkumu od různých autorů, na různých rostlinách.
3. Posoudit účinky brassinosteroidů na klíčení osiva borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v optimálních podmínkách kultivace a v podmínkách stresu vyvolaného vysokou teplotou.

3 Rozbor problematiky

3.1 Brassinosteroidy

3.1.1 Úvod

Brassinosteroidy (BRs) jsou rostlinné steroidní hormony, které mohou mít za určitých podmínek pozitivní vliv na růst a vývoj rostlin. Brassinosteroidy jsou třída polyhydroxysteroidů, které byly zařazeny jako v pořadí již šestá skupina rostlinných hormonů. Brassinosteroidy byly pojmenovány podle řepky olejky (*Brassica napus* L.), z jejíhož pylu byly poprvé izolovány (Hradecká et al., 2009).

BRs jsou účinné již při malých koncentracích (10⁻⁸ – 10⁻¹¹ M), pozitivně ovlivňují rostlinný růst a kvetení, podporují klíčení a pomáhají rostlinám překonávat stresové podmínky (Klečáková, 2012).

Byly objeveny roku 1970, když John W. Mitchall a jeho kolegové zjistili, že extrakt z pylu řepky olejky (*Brassica napus*), má podpůrný vliv na elongaci stonku a dělení buněk rostlin (Mitchall et al., 1970). BRs byly nalezeny i v zeleném čaji, borovici, fazoli, hálkách kaštanu a četných dalších rostlinách a jsou přítomny i v medu (Hradecká et al., 2009). Brassinosteroidy rozdělujeme na přírodní, které se označují jako brassinolidy (BL) a syntetické brassinosteroidy (BRs), které jsou připravovány uměle v laboratoři. Pod pojmem brassinosteroidy však bývají v literatuře často označovány i brassinolidy připravené v laboratoři (Hradecká et al., 2009).

Strukturně jsou příbuzné zvířecím a hmyzím steroidním hormonům, jsou třídou rostlinných polyhydroxysteroidů, které jsou všudypřítomně distribuovány v rostlinné říši (Krishna, 2003). I když bylo v roce 1970 a 1980 dobře zdokumentováno, které BRs mohou vyvolat široké spektrum buněčných odpovědí, jako je například prodloužení stonku, růst pylové láčky, xylemové diferenciaci, epinastie listů, kořenů a inhibice (Clouse, Sasse, 1998; Mandava, 1988), stále byl nedostatek definitivních důkazů, které by hrály klíčovou roli v růstu a vývoji rostlin. Li et al., (1996) a Szekeres et al., (1996) vyvolali velký zájem v rozvoji a zkoumání BRs. BRs mají klíčovou roli ve vývoji rostlin a jsou uznávány jako fytohormony (Clouse, Sasse, 1998; Li, Chory, 1999; Müssig, Altmann, 1999). Stále ale víme jen málo o signálních drahách a generegulaci vlastností BRs, i když byly identifikovány některé kritické komponenty signálních drah (Clouse, 2002; Peng, Li, 2003).

Před rokem 1996 bylo zaznamenáno několik předběžných studií, které uvádějí, že ošetření rostlin BRs zvyšuje resistenci rostlin na různé napětí v oblasti životního prostředí

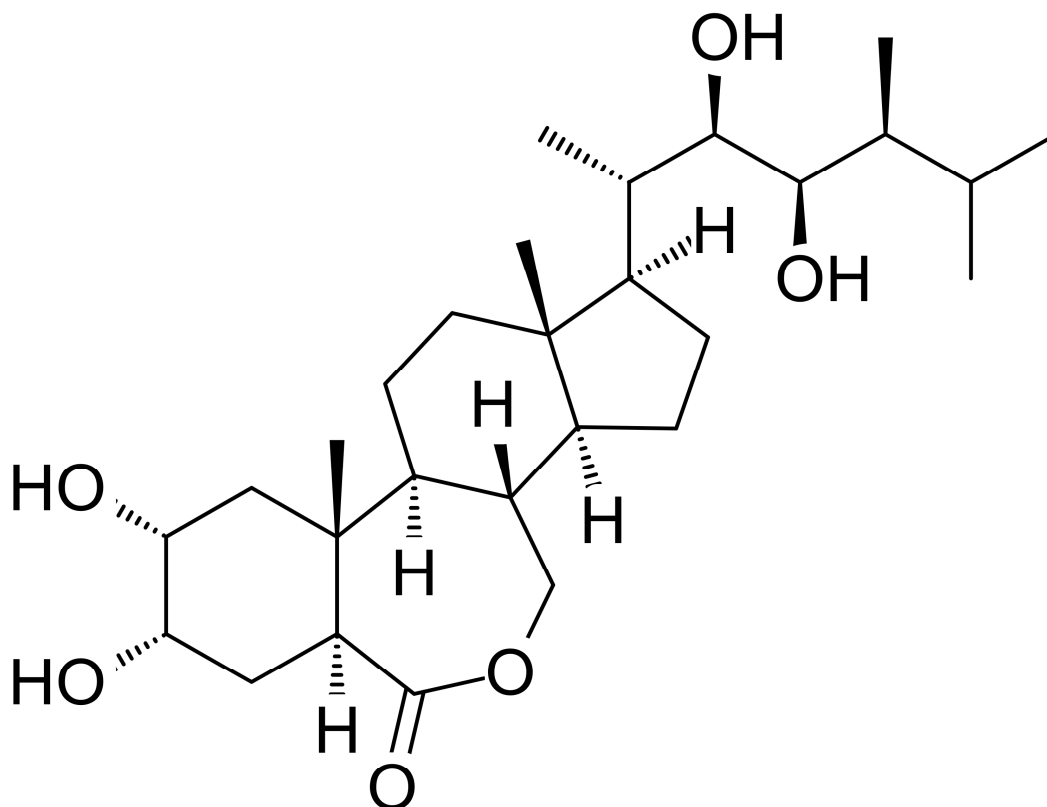
(Ikekawa, Zhao, 1991; Kamuro, Takatsuto, 1991). Takové pozorování vyvolalo velký zájem na rozvoji BR pro využití v zemědělství, ale výsledky obvykle provázejí doprovodné problémy, jako je špatná reprodukovatelnost účinnosti BRs (Krishna, 2003).

V současné době BRs zůstávají jako slibné sloučeniny, u kterých pravděpodobně ještě nenastalo dostatečné uplatnění jejich potenciálu. Stejně jako v úloze BRs ve vývoji rostlin, jsou zapotřebí konečné genetické a biochemické důkazy, schopnosti BRs modulovat reakce na stres rostlin předtím, než budou moci být BRs obecně použity v běžném komerčním zemědělství. Některé nové poznatky na základě molekulárních a biochemických postupů poskytly přesvědčivé důkazy v tomto směru. Ačkoli studium tohoto aspektu BRs bylo na přelomu tisíciletí ještě v začátcích, hodnocení již v tu dobu přinášelo důkazy pro signifikantní účinky BRs na toleranci rostlin ke stresu (Krishna, 2003).

3.1.2 Chemické složení brassinosteroidů

Brassinosteroidy (brassinolidy) jsou polyhydroxylovaný derivát 5 α - cholestan, a sice (22R, 23R, 24S)- 2 α , 3 α , 22, 23 - tetrahydroxy - 24 - methyl - B - homo - 7 - oxa - 5 α - cholestan -6 - on. Tím mají základní strukturu podobnou živočišným hormonům odvozených od cholesterolu, jako jsou androgeny, estrogeny a kortikoidy obratlovců, ekdyson hmyzu a korýšů (Fujioka, 1999).

Rozdíly v aktivitě mezi různými brassinosteroidy vycházejí z rozdílů mezi C-2 a C-3 v A kruhu, přítomností laktonu, ketonu či oxo-skupiny C-6 v B kruhu. Dále závisí na prostorovém rozložení hydroxylových skupin na postranním řetězci, přítomnosti nebo nepřítomnosti metylové nebo etylové skupiny na C-24. (Mandava, 1988).



Obr. č. 1 – Chemická struktura brassinolidu (Rao et al., 2002)

3.1.3 Přírodní výskyt brassinosteroidů

Brassinosteroidy byly nalezeny ve všech druzích rostlin (jednoděložných i dvouděložných), u kterých byl proveden podrobnější výzkum, a jsou také obsaženy ve všech rostlinných orgánech. Výskyt BRs v kořenech byl potvrzen teprve nedávno (Kim et al., 2000).

V rostlinách jsou BsR přítomny ve velmi malých koncentracích, jejich obsah se mění v závislosti na druhu rostliny, typu orgánu a stáří rostlinné tkáně. Mladá pletiva zpravidla obsahují vyšší množství BRs než zralá pletiva. Nejbohatší na BRs jsou semena a pyl rostlin. Dosud největší koncentrace byla zaznamenána v pylu cypřiše (*Cupressus arizonica*) a dalším zajímavým místem výskytu jsou hmyzí hálky kaštanovníku (*Castanea sativa*) nebo hálky v květech u *Distylium racemosum* a barvíčku (*Catharanthus roseus*), (Bajguz, Tretyn, 2003).

Tři základní biologicky aktivní brassinosteroidy jsou brassinolid, 24-epibrassinolid a 28-homobrassinolid (Rao et al., 2002). Často používaný 24-epibrassinolid je syntetickou formou přírodního brassinolidu a připravuje se z brassicasterolu (Arteca, 1996).

Mezi BR je u rostlin nejvíce rozšířen castasteron, brassinolid a typhasterolem.

3.1.4 Přenos signálu

Signální dráhy brassinosteroidů nevyužívají cytoplazmatické sterolové receptory, jak jako je tomu u živočichů a člověka, ale jejich receptor je umístěn v plazmatické membráně, funguje na buněčném povrchu a převádí extracelulární signály do buňky (Li, Cory, 1997).

Hlavním BRs receptorem je serin/treonin kinasa BRI1, která je lokalizována v plazmatické membráně a je exprimována ve všech orgánech mladých rostlin houseníčku (*Arabidopsis thaliana*), (Friedrichsen et al., 2000).

3.1.5 Vliv brassinosteroidů na rostliny

Brassinosteroidy ovlivňují růstové i reprodukční procesy, stimulují růst i dělení buněk, růst mladých vegetativních pletiv (epikotylu, hypokotylu, koleoptile), indukují kvetení, zrání plodů, klíčení semen, tvorbu a růst kořenů, růst pylových láček, podílejí se na diferenciaci systému vodivých pletiv, hrají spolu s dalšími fytohormony zásadní roli při senescenci, aktivují protonové pumpy v buněčných membránách, ovlivňují fotosyntézu, asimilaci uhlíku a fixaci dusíku, podporují produkci etylenu, chrání rostlinu proti abiotickým i biotickým stresům a podílejí se i na dalších procesech v rostlině (Müssig, 2005).

Vývojové a růstové aktivity jsou hlavně spojeny s ATP (adenosintrifosfát) aktivitou, syntézou 1-aminocyklopropan-1-karboxylové kyseliny, změnou v orientaci mikrotubulů a modifikací buněčných stěn (Ono et al., 2000). Brassinosteroidy významně podporují klíčení semen. Mají schopnost antagonizovat inhibiční účinky kyseliny abscisové na klíčení semen (Xi, Yu, 2010).

3.1.6 Antistresové účinky brassinosteroidů na rostliny

3.1.6.1 Úvod

Brassinosteroidy zvyšují odolnost rostlin vůči biotickým i abiotickým stresům. Schopnosti BR pro zvýšení odolnosti rostlin vůči environmentálním tlakům byly prozkoumány v laboratoři, skleníkových a polních podmínkách. Ve většině těchto studií byly zkoumány aspekty růstu rostlin, jako je vegetativní a reprodukční růst, klíčení, zakořeňování, vývoj plodů, listů a další (Krishna, 2003). Vše bylo sledováno u BRs ošetřených a neošetřených rostlin za standardních i stresových podmínek. Výsledky těchto šetření jsou shrnuty v několika zahraničních pracích (Clouse, Sasse, 1998; Kamuro, Takatsuto, 1999;

Khripach et al., 1999, 2000, 1988; Mandava, Sasse, 1999). O mechanismech těchto účinků je zatím známo pouze málo. Mechanismem, který se může podílet na odolnosti k různým typům stresu, je například zvýšená aktivita antioxidantů a jejich vysoký obsah při odpovědi na vysoké a nízké teploty, zasolení, sucho, zraňování a na oxidativní stres, a může hrát hlavní roli při získávání odolnosti rostlin na různé stresy z okolí (Mazorra et al., 2002). Byla také zjištěna vyšší exprese na teplotní šok proteinů nebo ATP (Dhaubhadel et al., 2002; Rao et al., 2002).

3.1.6.2 Teplotní stres

Vzhledem k tomu, že ke změnám teplot může v přírodě dojít mnohem rychleji než k ostatním stresům, teplotní stres byl zkoumán v mnoha studiích. Klíčnými rostlinami kukuřice jsou velmi citlivé na chlad během klíčení a v časných stádiích růstu (Krishna, 2003). Léčba BRs podporuje obnovu růstu sazenic kukuřice po mrazové expozici, BRs také podporovaly ozeleňování listů kukuřice, a to zejména při nižší teplotě za světla (On et al., 1991). Podobně sazenice okurek vyklíčené ze semen smáčených v BR roztoku měly větší růst ve srovnání s kontrolami (bez ošetření BRs), za teploty 5 °C po dobu 3 dnů. Obsah chlorofylu byl udržován u BR ošetřených sazenic v chladném prostředí a zvyšuje se dále při zotavování z chladu (Katsumi, 1991). Plodivost byla vyšší u rostlin rajčat ošetřených BR za chladných podmínek. Tento rozdíl mezi ošetřenými a neošetřenými rostlinami byl méně patrný za optimálních růstových podmínek (Kamuro, Takatsuto, 1991). V podpoře růstu byly účinky BR v rýži zřejmé za nízkých teplotních podmínek, ale ne za optimálních podmínek pro růst (Kamuro, Takatsuto, 1991).

Účinky zvýšené teploty v BRs ošetřené a neošetřené pšenici, byly zkoumány na úrovni celkové syntézy proteinů a listových buněk v ultrastrukturách (Krishna, 2003). Proteinová syntéza byla udržována v BR ošetřených listech na 43 °C, na úrovni srovnatelné s 23 °C. V neošetřených listech se snížila 2,5krát za teploty 43 °C ve srovnání se vzorky při teplotě kontrolní (Kulaeva et al., 1991). Během teplotního stresu u rostlin, malé proteiny tepelného šoku produkují vysoce žádané cytoplazmatické komplexy, označované jako granule teplotního šoku (HSGs). Předpokládá se, že HSGs představují ochranu při skladování (Nove et al., 1989). Kulaeva et al., 1991, uvedl, že HSGs jsou v buňkách listů pšenice agregovány do malých shluků. Průměrný počet HSGs ve shlucích a průměrná velikost shluků byla vyšší u listů ošetřených BR oproti neošetřeným listům.

3.1.6.3 Stres zasolením

Vliv BRs na ultrastruktury buněk listů ječmene byl přezkoumán na základě solného stresu. Listové segmenty byly preinkubovány buď BRs roztokem, nebo vodou a pak inkubovány v roztoku 0,5M NaCl (chloridu sodného) v přítomnosti nebo nepřítomnosti BRs. BRs neměly žádný vliv na ultrastruktury listových buněk za normálních podmínek, ale poškození vyvolané solí, namáhání jader a chloroplastů bylo významně sníženo zapracováním BRs (Kulaeva et al., 1991). Je zajímavé, že klíčivost semen blahovičnicku pobřežního (*Eucalyptus camaldulensis*) v přítomnosti 150mM soli, byla zvýšena, ale když sazenice pěstované hydroponicky v soli čerpaly BRs prostřednictvím kořenů, byly způsobeny větší škody (Sasse, 1999). V jiné studii semena rýže máčená ve vodě nebo 150mM NaCl v přítomnosti nebo nepřítomnosti BRs byla testována na klíčení a růst osiva. Když byl solný roztok doplněn BRs, inhibiční účinek soli na klíčení byl značně snížen. Podpora růstu BR za stresových podmínek solí byla spojena se zvýšenými hladinami nukleových kyselin a rozpustných proteinů (Uradha, Rao, 2001).

3.1.6.4 Stres suchem

Expozice rostlin cukrové řepy suchem vede ke snížení hmotnosti hlavního kořenu v poměru k závažnosti stresu. Léčba BR plně kompenzovala snížení biomasy způsobené mírným suchem (Krishna, 2003). Zvýšení růstu kořenů u BR ošetřených rostlin, oproti neošetřeným rostlinám, bylo pozorováno pouze za stresových podmínek (Krishna, 2003).

Zvýšení biomasy koreluje s nárůstem kyselé aktivity u mladých listů (Schillinget, et al., 1991). Ošetřuje se buď osivo, nebo se provádí postřik na list, aby na tolerantní a citlivé odrůdy pšenice k suchu měly BRs stimulační dopad na růst za stresových podmínek. Ačkoli jemné rozdíly v BRs účincích na dvě odrůdy pšenice byly zaznamenány, celkově k suchu tolerantní odrůdy vykazovaly vyšší odpověď na použití BRs za vlhkých stresových podmínek (Krishna, 2003). Zvýšená absorpce vody, membránová stabilita a zvýšení koncentrací oxidu uhličitého a dusíku u asimilačních vazeb v BRs ošetřených rostlinách pod tlakem byly korelovány s tolerancí k suchu indukovanou BRs (Sairams, 1994). Ve studii s rostlinami okurek bylo také prokázáno, že léčba BRs zlepšuje odolnost proti vysychání a vysokoteplotnímu stresu. Obsah volných aminokyselin a amidů v listech ošetřených rostlin byl vyšší ve srovnání s neošetřenými rostlinami (Pustovoitova et al., 2001).

3.1.6.5 Patogenní stres

Potenciál BRs ke zvýšení odolnosti rostlin proti houbovým patogenním infekcím byl zkoumán v několika studiích (Khripach et al., 1999, 2000). Je třeba poznamenat, že v některých šetřeních se ukázaly být BRs účinnější v jejich ochranných účincích než standardní fungicidy. Bramborové rostliny ošetřené BRs roztokem měly menší výskyt infekce *Phytophthora infestans*. Zvýšení odolnosti u BR ošetřených hlíz brambor bylo spojeno se zvyšováním obsahu kyseliny abscisové (ABA), ethylenu a s přítomností fenolických a terpenoidních látek (Krishna, 2003). BRs podpořená rezistence k indukovanému onemocnění byla zaznamenána také u ječmene a rostlin okurek. U rostlin okurek za zvýšené aktivity peroxidázy a polyphenoloxidase enzymů, které se podílejí na metabolismu polyfenolů, byl stanoven faktor přispívající k BRs indukované odolnosti vůči chorobám (Krishna, 2003).

Byla provedena studie s cílem zjistit, zda exogenní aplikace epibrassinolidu (EBR) má vliv na expresi symptomů choroby v rostlinách rajčete, očkovaných přeslenatkou běločernou (*Verticillium dahliae*). Sazenice rajčat pěstované po dobu 14 dnů v přítomnosti 1M EBR byly kořenem naočkovány *V. dahliae* a hodnoceny symptomy onemocnění 28 dnů po inokulaci. EBR ošetřené rostliny buď nevykazovaly žádné příznaky onemocnění, nebo měly nejnižší stupeň onemocnění, a to vzhledem k tomu, že většina z neošetřených rostlin ukázala mírné až závažné příznaky. Krátkodobé expozice sazenic (24 hodin) před očkováním *V. dahliae* nesnížily symptomy nemoci (Krishna, Dobinson, nepublikované výsledky).

Obecně lze uvést, že BR mají potenciál také jako fungicidy, neboť BRs aplikované ve vhodné koncentraci v určitých vývojových stádiích rostliny mohou stimulovat růst plísní a progresi onemocnění. To znamená, že koncentrace BR a načasování a způsob použití BRs jsou důležité úvahy v případě, že mají být BR vyvinuty a použity jako fungicidy (Krishna, 2003).

3.1.6.6 Ostatní stresy

Brassinosteroidy jsou uváděny jako účinné při snižování poškození pesticidy a herbicidy a při kontrole vývoje hmyzu (Cutler, 1991). Zdá se, že v těchto směrech bylo provedeno málo studií. Je proto žádoucí další zkoumání BR účinků, než bude možné říci, že mají BRs potenciál jako ochrana rostlin nebo insekticid.

Ze studií popsaných výše vyplývá, že účinky brassinosteroidů na růst a výnos rostlin jsou více zřejmé za stresových podmínek v porovnání s optimálními růstovými podmínkami.

Nicméně tato předběžná šetření potřebují ještě intenzivní zkoumání (Krishna, 2003). Role BRs ve vývoji rostlin byla potvrzena pomocí genetických, molekulárních a biochemických přístupů. Je také potřeba systematické a důkladné šetření pomocí ucelených postupů k potvrzení BRs účinků za stresových podmínek (Krishna, 2003). Bylo již provedeno několik studií v oblasti BRs a nadcházející data začínají poskytovat letmý pohled na molekulární změny základních tolerancí ke stresu. Před posouzením těchto studií byly přezkoumány nepřímé důkazy vlivu BRs na signální dráhy, které vážou BRs přípravky na stresové reakce rostlin (Krishna, 2003).

3.1.7 Interakce brassinosteroidů s jinými rostlinnými hormony

Dřívější analýzy účinků BRs na podporu růstu ukázaly, že BR účinkují v interakci s jinými rostlinnými hormony (Khripach et al., 1999; Mandava, 1988). Například, interakce BRs a auxinu produkuje synergické účinky s gibberellinem (GA). Kyselina abscisová (ABA) je antagonistka k reakci na BRs, některé rozdíly v genové regulaci podle těchto dvou hormonů byly již zaznamenány (Abraham et al., 2003; Wilen et al., 1995). Nedávné molekulární studie silně podporují názor, že existuje interakce mezi BRs a jinými rostlinnými hormony, navíc paralelní signální dráhy hormonů regulují expresi genů společných cílů (Krishna, 2003). Interakce mezi BR a auxiny, GA, ABA, ethylenem a kyselinou jasmonovou (JA), zahrnuje změny v hormonech biosyntetických genů nebo v signalizačních meziproduktech (Bouquin et al., 2001; Friedrichsen et al., 2002; Goda et al., 2002; Li et al., 2003; Mussig et al., 2000, 2002; Yi et al., 1999). Při stanovení molekulární změny spojené s BRs tolerancí indukované stresem je třeba připomenout, že ne všechny změny v genové expresi budou představovat primární odpovědi. Je pravděpodobné, že některé změny budou od BRs interakce s jinými hormony (Krishna, 2003). Vzhledem k tomu, že role ABA je nejvýznamnější v chladovém, solném a suchém napětí (Zhu, 2002) a JA a ethylen v obranných reakcích rostlin (Liechti, Farmer, 2002, Wang et al., 2002), je již dobře zdokumentováno zapojení těchto hormonů v toleranci rostlin ke stresům.

3.1.8 Vliv brassinosteroidů na obranné rostlinné reakce

Systematické poškození signalizace u rostlin vede k expresi obranných genů odezvy, tím je způsobeno, že u rostlin po napadení hmyzem se také vyskytuje odpověď na některé patogeny (Krishna, 2003). Systemin je specifický rodinný peptid lilkovitých s 18 aminokyselinami, který je uvolňován z místa rány, což vyvolává řetězec signalizačních událostí, které vedou k expresi genů odezvy a obrany (Krishna, 2003). Dochází k signalizaci systeminu, která nastane přes zvýšenou syntézu kyseliny jasmonové (JA), (Ryan, 2000).

Zajímavé nedávné zjištění je, že receptor SR160 systeminu v rajčeti a také LRR-RLK, je identický s putativním BR receptorem tBR11 (Montoya et al., 2002; Scheer, Ryan, 2002), z čehož vyplývá, že BRs a systemin používají stejný receptor pro signalizaci u rajčat (Szekeres, 2003). Zbývá stanovit, jaké jsou dva ligandy v interakci se stejnými receptory a jaká je signalizace, která vede k aktivaci různých buněčných odezev a reguluje je (Krishna, 2003). Z toho, co v současné době víme o BR a systeminu signálních drah, je obtížné předpokládat, jak se obě dráhy mohou propojit. Další výzkum by měl odhalit nové a správné mechanismy, které rostliny brání proti environmentálnímu stresu.

3.1.9 Budoucí směry ve výzkumu brassinosteroidů

Na základě rešeršního rozboru literatury Krishna (2003) formuloval následující budoucí směry ve výzkumu BRs.

Výsledky minulých, nedávných studií ukazují, že BRs mají schopnost podporovat toleranci proti širokému spektru biotických a abiotických stresů v rostlinách, ale mechanismus, kterým BRs indukují toleranci ke stresu, zůstává do značné míry neprozkoumán. Nedávná pozorování molekulárních změn, doprovázejících teplotní odolnost vůči stresu naznačují, že komplexní transkripční a translační přeprogramování se vyskytuje v reakci na BRs a stres.

Lze předpokládat, že schopnost tolerance BRs proti širokému spektru namáhání, vyplývá především ze spojení s jinými hormony. Schopnost BRs se podílí na obranné reakci rostlin, což v několika kombinacích znamená, že řízení signalizace stresové odpovědi je i nadále velmi pravděpodobné. Srovnání celogenomových expresních profilů BRs ošetřených rostlin, vystavených různým podnětům v oblasti životního prostředí, by mělo umožnit identifikaci toho, co lze označit jako "obecná reakce na stres" (geny aktivovány v reakci na různé stresy) a "specifické stresové reakce" (geny regulovány v reakci na konkrétní stres nebo

související namáhání). V takovém případě je možné, že nové zátěžové geny, jakož i nové regulátory stresových reakcí, jsou identifikovány. Objasnění funkce těchto genů může vrhnout světlo nejen na to, jak BRs zprostředkovávají zvýšení odolnosti vůči stresu, ale bude také zlepšeno naše současné chápání molekulárních mechanismů tolerance vůči stresu.

Značný úkol do budoucna spočívá v identifikaci signálních drah, které vedou k BRs zprostředkované reakci na stres a v chápání kombinace mezi signalizací BRs a dalšími hormony. Drtivá skupina genetických mutantů, s hormony deficientními a hormony necitlivými, stejně jako transgenní rostliny a biosyntetické geny, by mohly být využity při odpovědi na výše uvedené otázky. Jakmile budeme mechanismus BR lépe chápat, budeme mít evidentně nové příležitosti pro zemědělské biotechnologie. Vedle rozkrytí režimu BR účinku musíme znát také další aspekty, jako je příjem, doprava a stabilita BR, stejně jako vývoj BR analogů s vysokou aktivitou. Tyto aspekty by měly být i nadále prozkoumány s vědomím, že jedinečné mechanismy mohou vést k implementaci s předvídatelnými účinky použití BRs v této oblasti, což umožňuje plný potenciál využití BRs v budoucnu (Krishna, 2003).

3.2 Studie Katedry pěstování lesů

3.2.1 Úvod

V České republice se na výzkumu syntézy brassinosteroidů podílí Laboratoř růstových regulátorů v Olomouci a Ústav organické chemie a biochemie AV ČR. Ověřovací pokusy probíhají mimo jiné i na České zemědělské univerzitě v Praze (Klečáková 2012).

Využitím brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a zakládání lesa se v posledních několika letech zabývá také Katedra pěstování lesa Fakulty lesnické a dřevařské na České zemědělské univerzitě v Praze. K tomuto výzkumu slouží katedře specializované pracoviště výzkumná školkařská stanice Truba nedaleko Kostelce nad Černými lesy. Na tomto pracovišti se zabývá skupina doktorandů, pod vedením Ing. Ivana Kuneše, Ph.D., mimo jiné také brassinosteroidy a mají zde k dispozici kvalitně vybavenou laboratoř k různým pokusům.

3.2.2 Vliv na sazenice lesních dřevin

Efekt aplikace roztoku brassinosteroidů (BRs) na sazenice lesních dřevin může být rozdílný v závislosti na dřevině a sledovaném parametru. Z pohledu statistického vyhodnocení byl v případě borovice lesní potvrzen pozitivní vliv zvyšující se koncentrace BRs na snížení mortality, efekt na přírůst byl spíše negativní. U smrku ztepilého (*Picea abies*) nebyl zjištěn statisticky průkazný pozitivní vliv aplikace roztoku BRs na snížení mortality (Nováková et al., 2015).

3.2.3 Vliv na klíčení semen lesních dřevin

Brassinosteroidy významně podporují klíčení semen. Mají schopnost antagonizovat inhibiční účinky kyseliny abscisové na klíčení semen (Xi, Yu, 2010).

Stres suchem výrazně snížil klíčivost a klíčení smrku ztepilého (*Picea abies*), borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a douglasky tisolisté (*Pseudotsuga mensiesii*). Léčba aplikací BRs byla velmi účinná v boji proti suchu, stresovým účinkům na semena smrku ztepilého a borovice lesní. Dub letní (*Quercus robur*) nebyl podroben stresu suchem, ale za optimálního kultivačního režimu klíčení se kontroly a BRs ošetřené žaludy nelišily. Za optimálního pěstebního režimu, byly účinky BRs léčby pozitivní pouze v případě smrku ztepilého (Kuneš et al., 2015).

3.2.4 Vliv na sazenice ve školkách a při zakládání lesa

Vlivem BRs na sazenice lesních dřevin se zabýval Jakub Poláček (Poláček 2014) ve své bakalářské práci a dospěl k těmto výsledkům.

3.2.4.1 Průměr kořenového krčku

V případě průměru kořenového krčku dosahovaly sazenice ošetřené brassinosteroidy na jaře roku 2012, kdy probíhalo první měření, signifikantně vyšších hodnot o 1,07 mm než sazenice kontrolní. Na podzim téhož roku se ale rozdíl u sazenic ošetřených i kontrolních snížil, ošetřené sazenice stále vykazovaly signifikantně vyšší hodnotu, ale už jen o 0,50 mm. Při finálním měření za rok 2013 dosahovaly vyšších hodnot sazenice kontrolní, a to o 0,38 mm.

3.2.4.2 Výška sazenic

V případě výšky sazenic vykazovaly od počátku měření vyšší výšky sazenice kontrolní (neošetřené). Na jaře roku 2012 to bylo o 1,09 cm, na podzim roku 2012 se rozdíl kontrolních sazenic zvýšil na 2,06 cm a poslední měření za rok 2013 ukázalo, že kontrolní sazenice vykazují vyšší hodnoty o 5,27 cm. U všech tří termínů měření byl mezi hodnotami brassinosteroidy ošetřené a kontrolní varianty nalezen statisticky významný rozdíl.

3.2.4.3 Objem biomasy

Objemu biomasy ukazuje, že nejmenší rozdíl v obou variantách sazenic byl právě zde. Podzemní části sazenic byly změřeny se stejnými výsledky, ovšem nadzemní části sazenic vykazovaly o 8,75 cm³ vyšší hodnoty sazenice kontrolní.

3.2.4.4 Mortalita

Mortalita (úmrtnost) sazenic byla za celé sledované období vyšší u sazenic ošetřených brassinosteroidy. V roce 2012 byla mortalita ošetřených sazenic vyšší o 12,8 %, než u kontrolních sazenic a v následujícím roce 2013 se ještě zvýšila na 13,8 %. Mortalita byla otestována Hayterovým testem a v obou sledovaných případech byl mezi kontrolní a ošetřenou variantou potvrzen statisticky signifikantní rozdíl.

3.2.4.5 Zhodnocení

V hodnotách průměru kořenového krčku sazenic buku lesního jsou v prvních dvou termínech měření jen nepatrné rozdíly mezi ošetřenou a neošetřenou variantou. Statisticky významný rozdíl mezi variantami byl nalezen v měření provedeném na jaře 2012 a na podzim 2013. U podzimního měření 2013 vykazovala brassinosteroidy ošetřená varianta vyšší průměr kořenového krčku o 0,44 mm.

V případě výšky vykazovaly od počátku měření vyšší hodnoty sazenice ošetřené. U prvního měření na jaře 2012 byly ošetřené sazenice signifikantně vyšší než kontrolní varianta. Stejný případ nastal na podzim roku 2012 i na podzim roku 2013, kdy v obou případech byly naměřené údaje signifikantně vyšší u brassinosteroidy ošetřené varianty.

Hodnoty mortality ukazují, že vyšší procento úmrtnosti sazenic během sledovaného období bylo u kontrolních (neošetřených) sazenic. Tento údaj byl potvrzen Hayterovým testem jako signifikantní v roce 2012.

3.3 Lesní semenářství

3.3.1 Hodnocení kvality lesního osiva

Lesní semenářství je obor lesnické činnosti, jehož cílem je zajistit geneticky vysoce hodnotné a kvalitní osivo pro obnovu nebo zakládání lesních porostů (<http://obnova-lesa.euweb.cz>).

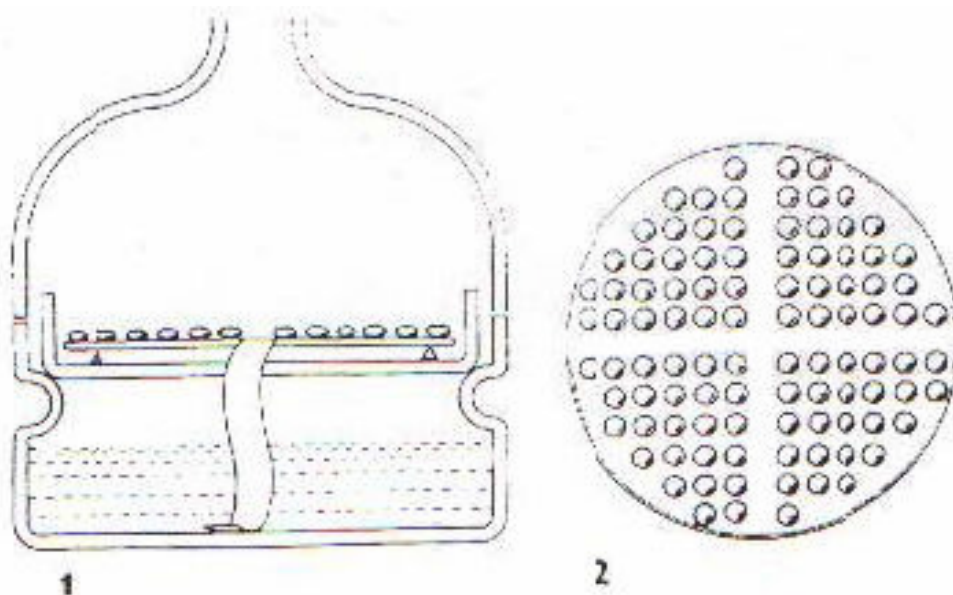
Lesním osivem jsou semena a plody lesních dřevin, které je možné použít k výsevu v lesních školkách nebo k síji přímo v lese.

Dle webu (<http://obnova-lesa.euweb.cz>), jsou posuzovány zejména tyto parametry lesního osiva.

Kvalitu osiva lesních dřevin vyjadřujeme původem, čistotou, klíčivostí, případně životností nebo procentem řezu jednotlivých oddílů osiva.

Původ osiva (provenience) je základem celého hodnocení osiva. Semena neznámého původu nesmíme vysévat! Každá zásilka, oddíl semen z uznaných porostů, musí být doložena listem o původu se všemi potřebnými údaji, podle kterých můžeme hodnotit původ osiva a jeho vlastnosti.

Klíčivost semen je ukazatel jakosti určený počtem čistých vyklíčených semen v průměrném vzorku za stanovenou dobu, vyjádřený v procentech. K zjišťování klíčivosti se používají různé typy klíčidel (Jakobsenovo, klíčidlo SLH apod.), které musíme před zkouškou dezinfikovat 0,4 % roztokem formalínu. Dnes jsou však klasické metody stanovení klíčivosti nahrazovány biochemickými a rentgenologickými.



Obr. č. 2 – Malé provozní klíčidlo. 1 – klíčidlo, 2 – schéma rozmístění zkoušených semen na klíčidle (Bezecný et al., 1992).

Energie klíčení semen, ukazatel jakosti určený poměrem počtu vyklíčených semen v průměrném vzorku na začátku a na konci stanovené doby. Vyjadřuje se v procentech.

Sypavost je ukazatel jakosti semenné suroviny určený poměrem hmotnosti čistých semen vypadlých a vyluštěných z průměrného vzorku šišek nebo šištic k celkové hmotnosti průměrného vzorku.

Průměrný vzorek osiva jsou semena (plody) odebraná ve stanovené hmotnosti tak, aby vystihovala průměrnou jakost osiva oddílu.

3.3.2 Historie lesního semenářství

Semenářský závod Týniště nad Orlicí (LČR) popisuje historii lesního semenářství v ČR následovně.

Lesní semenářství vzniklo v souvislosti s rozvojem holosečného způsobu hospodaření a se zaváděním smrkových a borových monokultur. Semena se sice sbírala již v 16. století, ale ne pro lesnické účely, spíše pro účely vypěstování okrasných dřevin pro parky a sadovnické účely

Koncem 18. století, kdy docházelo k systematickému a plánovitému mýcení lesů (holosečnému způsobu hospodaření) a bylo třeba tyto vykácené plochy zalesnit, se zvýšil zájem o lesní osivo, především smrku a borovice. Požadavky na osivo se zvyšovaly, osivo bylo požadováno každoročně. Pokud byly káceny původní smrkové a borové porosty, šišky se

sbíraly a luštily domácí, jen pro vlastní potřebu. Smrk a borovice byly zaváděny i do míst, kde původně nerostly, tj. do oblastí listnatých dřevin, takže potřeba lesního osiva rostla. Dosavadní způsoby sběru a luštění byly již nedostačující. Proto koncem 18. století začaly vznikat první semenářské závody, které zaznamenaly největší rozvoj v polovině 19. století. Nejstarší lušτίrna byla založena Conradem Applem v německém Darstadu v roce 1789. Na našem území byl první semenářský závod (Pošumavská lušτίrna) založen v roce 1910 E. Rechtsem v Českých Budějovicích. Lušτίrna vznikla rekonstrukcí místního pivovaru a měla kapacitu cca 500 tun šišek za rok. V letech 1946–48 vznikl semenářský závod v Janovicích u Rýmařova, a to rekonstrukcí starého pivovaru.

V době, kdy vznikala větší potřeba osiva, šlo jen o jeho získání a majitelům luštírny čistě jen o zisk. Nejlevnější surovinu získali v době bohatých úrod, což vedlo k tomu, že se šišky sbíraly všude tam, kde to šlo bez obtíží, tedy i v porostech nekvalitních, netvárných, málo odolných. V případě neúrody v jedné zemi byly šišky nakupovány v zahraničí z neznámých podmínek a porostů. Z tohoto semena vznikající porosty byly často netvárné, pomalu rostly, byly málo odolné biotickým a abiotickým činitelům. Teprve v této době se začala věnovat pozornost původu osiva.

V našich podmínkách se tyto snahy o zavedení znalosti původu osiva, tj. aby sběr semen lesních dřevin byl prováděn jen z kvalitních porostů, datují k roku 1927, kdy Dr. Ing. G. Vincent z Výzkumného ústavu pro pěstování lesů a lesnickou biologii v Brně vypracoval konkrétní směrnice. Platnost jen pro státní lesy, kterých bylo v té době pouze 15 %, způsobila, že se všeobecně příliš neujaly.

První období lesního semenářství bylo tedy zaměřeno převážně na technologii zpracování šišek. Později se začala věnovat větší pozornost kvalitě osiva a přistupovalo se k vyhledávání vhodnějších způsobů ošetřování osiva po sběru, hlavně jeho skladování. Začala se zjišťovat i vnitřní kvalita osiva, energie klíčení, absolutní hmotnost, klíčivost apod.

V další etapě lesního semenářství se začal preferovat genetický základ osiva, reprezentovaný uznanými porosty, později se přistupuje ke šlechtění dřevin.

Hlavním úkolem lesního semenářství se postupně stalo zajištění dostatečného množství osiva co nejvyšší genetické hodnoty všech požadovaných druhů dřevin pro každoroční výsevy. Semenné roky se neopakují každoročně, např. u naší hlavní dřeviny – smrku – se semenné roky opakují po 10 letech 1971, 1980, 1992. Obdobně u hlavních listnatých dřevin BK, DB se úrody opakují po 2–5 letech. U těchto semen s vysokým obsahem vody je situace složitější v oblasti skladování a přechování osiva. Tyto dřeviny si přirozenou životnost podrží pouze půl roku.

3.3.3 Současnost

Investorem nového závodu byl podnik Státní lesy, průmyslové výroby Chrudim. Dnem 1. 1. 1971 byl rozhodnutím podnikového ředitele Státních lesů, průmyslové výroby Chrudim, zřízen Semenářský závod v Týništi nad Orlicí jako organizační jednotka tohoto podniku. Při reorganizaci v roce 1974 byl přičleněn k Východočeským státním lesům jako samostatný závod. V současné době funguje Semenářský závod jako účelový závod Lesů České republiky, s. p., poskytující služby všem majitelům lesa.

3.3.4 ČSN 48 1211

Česká technická norma: Lesní semenářství – Sběr, kvalita a zkoušky kvality semenného materiálu lesních dřevin.

Tato norma se zabývá semenářstvím lesních dřevin a pro tuto práci je z jejího obsahu stěžejní především zkouška klíčivosti (stanovení energie klíčení a klíčivosti).

- **Zkouška klíčivosti:** zjišťuje se počet čistých semen, která za příznivých podmínek a za určitou dobu vyklíčí a pravděpodobně se vyvinou v normální a zdravé semenáčky.
- **Začátek zkoušky klíčivosti:** je den, kdy se semena uloží na vlhký substrát na klíčidle nebo do odpovídajících nádob. Za jeden den se při zkoušce klíčivosti považuje časový interval 24 hodin.
- **Energie klíčení semen:** počet normálně vyklíčených semen zjištěných při prvním počítání v určité, normou stanovenou dobu, vyjádřených v procentech počtu zaklíčených čistých semen.
- **Klíčivost semen:** počet semen normálně vyklíčených za normou stanovenou dobu, vyjádřený v procentech počtu zaklíčených čistých semen.
- **Vyklíčené semeno:** délka klíčku je minimálně 4krát delší, než je velikost semene.

Zkouška klíčivosti osiva borovice lesní (*Pinus sylvestris*)

- **Semena zaklíčovat:** na povrchu filtračního papíru.
- **Teplota ve °C:** inkubace při střídavé teplotě (16 hodin ve tmě při teplotě 20±2 °C a 8 hodin na světle při teplotě 30±2 °C), nebo inkubace při stálé teplotě 20±2 °C.
- **Energie klíčení:** je počítána 7. den od počátku kultivace.
- **Klíčivost:** je stanovována při ukončení zkoušky, což je 21. den od počátku kultivace.
- **Průměrná klíčivost semen:** 85 %

3.4 Klíčení semen

Klíčení semene je proces, při kterém ze semene, zárodku rostliny, vyrůstá klíček.

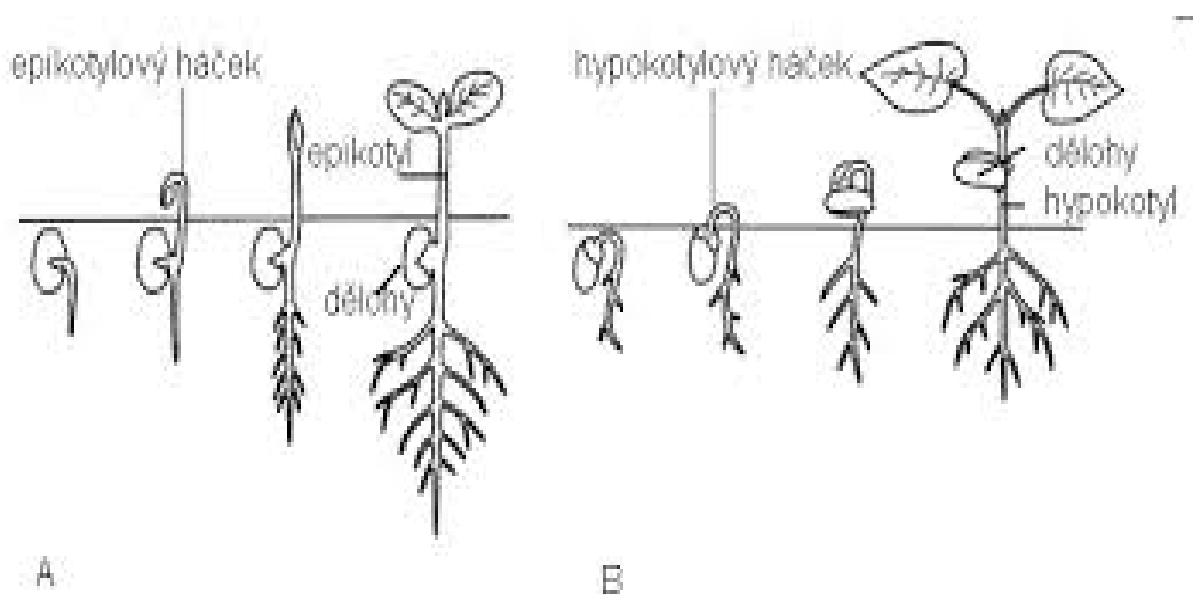
Semena vyšších rostlin se tvoří v plodech rostlin po spojení samičí a samčí pohlavní buňky. Všechna plně rozvinutá semena obsahují zárodek a u většiny rostlinných druhů i zásoby výživných látek uložených v osemení. Rostliny mohou tvořit i semena, která postrádají zárodek a jsou sterilní (www.fao.org). Sterilní osivo nikdy neklíčí. Některá semena klíčí ihned a později jejich klíčivost silně klesá. Většina semen však prochází před klíčením obdobím klidu. Během této doby osivo bezpečně překoná nepříznivé podmínky. Za příznivých podmínek, osivo začne klíčit a vyvíjí se v rostlinu.

Klíčivost klesá s postupem času a může být ještě omezena dlouhou dobou nebo nevhodným způsobem skladování. Ke zjištění klíčivosti se provádí orientační zkoušky klíčivosti.

Klíčivost semen závisí na vnitřních a vnějších podmínkách. Mezi nejdůležitější vnější faktory patří teplota, voda, kyslík a někdy i světlo nebo tma (Raven, 2009). Semena různých rostlin vyžadují různé podmínky pro úspěšné klíčení osiva. Podmínky klíčení jsou často odpovědí na běžné podmínky prostředí.

- **Vlhkost** – Zralá semena jsou často extrémně suchá a musí přijmout značné množství vody v poměru k hmotnosti suchého osiva před zahájením klíčení a růstu. Absorpce vody semen vede k bobtnání. Během klíčení jsou pro růst děložní rostliny použity zásobní látky uložené v osemení.
- **Kyslík** – je nezbytný pro metabolismus klíčících semen (Siegel, Rosen, 1962). Kyslík se používá u aerobního dýchání, které je hlavním zdrojem energie, dokud sazenici nenarostou listy (Raven, 2009).
- **Teplota** – ovlivňuje buněčný metabolismus a růst. Semena z různých druhů rostlin mohou klíčit v širokém rozsahu teplot. Mnoho semen klíčí při teplotách mírně nad pokojovou teplotou (16 až 24 °C), zatímco jiné klíčí jen málo stupňů nad 0 °C. Některá semena vyžadují působení nízkých teplot ke stratifikaci – překonání období klidu. Jiná zase klíčí pouze po překonání vysokých teplot během lesního požáru.

- **Světlo nebo tma** – může mít zásadní vliv na klíčení a je typem fyziologického klidu. Většina semen není ovlivněna světlem a tmou, ale mnohá, včetně semen lesních rostlin nebudou klíčit, pokud nebude dostatek světla pro růst mladé rostliny (Raven, 2009).
- **Odstranění, nebo narušení osemení** – skarifikace napodobuje přírodní procesy, které oslabují, poškozují, nebo odstraňují osemení před klíčením. V přírodě, některá semena vyžadují zvláštní podmínky ke klíčení. Některá musí projít trávicím traktem zvířete, aby bylo oslabeno osemení, které jinak brání klíčení (Raven, 2009).



Obr. č. 3 – Klíčení rostlin (www1).

4 Metodika

4.1 Vliv brassinosteroidů na klíčení semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*)

4.1.1 Úvod

Předmětem této diplomové práce je zrekapitulovat dosavadní studie věnované využití brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a zalesňování, které provádí tým Katedry pěstování lesů.

Dle dosavadních studií, vypracovaných katedrou, mají BRs prokazatelně pozitivní vliv hlavně na klíčivost semen (Kuneš et al. 2015). Pozitivní vliv na semenáčky a sazenice je buď nulový, nebo zanedbatelný, někdy však i záporný. Proto je věnována pozornost v této práci zejména klíčivosti osiva.

Tato diplomová práce se zabývá především klíčivostí semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*), za různých podmínek kultivace. Nakličování semen je prováděno v přítomnosti různých koncentrací BRs roztoku za běžných a stresových podmínek. Semena byla stresována zvyšováním teploty na 42 °C. V této části práce jsou použity hodnoty pokusu prováděného Katedrou pěstování lesa v laboratoři výzkumné stanice Truba za použití klimakomory.

4.1.2 Informace o použitém osivu

Osivo, které je pro pokus použito, bylo získáno ze Semenářského závodu Týniště nad Orlicí, který patří státnímu podniku Lesy České republiky. Informace z průvodního listu jsou uvedeny níže:

- **Dřevina:** Borovice lesní (*Pinus sylvestris*)
- **Lesní oblast:** 18 Severočeská písková plošina a Český ráj
- **Původ:** I Neautochtonní
- **Výškové pásmo (LVS):** 3 dubobukový (401–550 m/m)
- **Kategorie OECD:** Kvalifikovaný
- **Číslo uznané jednotky:** CZ-3-3-BO-55-18-3-P
- **Čistota:** 99,9 %
- **Klíčivost:** 84 %
- **Energie:** 41 %
- **Počet klíč. semen/kg:** 111 739 ks
- **Semena svěží:** 0 %

4.1.3 Použitá klimakomora

Pro tento pokus byla použita klimakomora značky Pol-eko, typ KK 700, polské výroby. Tato komora je schopna udržovat teplotu v rozmezí -10 až $+60$ °C, lze libovolně regulovat intenzitu osvětlení, ventilaci a částečně také vlhkost (tato funkce nebyla pro pokus využita). Požadované parametry prostředí v klimakomoře se nastaví před začátkem pokusu a potom již při provozu probíhají automaticky, bez zásahu obsluhy.

Pro tento konkrétní pokus na klíčení semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*) byl použit program na klíčení, který odpovídá normě ČSN 48 1211. Bylo nastaveno střídání dvou režimů během dne (den = 24 hodin) a to 8 hodin světlo při teplotě 30 °C a 16 hodin tma při teplotě 20 °C.

Pro stresování osiva byl použit speciální program zvyšování teploty až na 42 °C, který byl simulovat reálně naměřený průběh teplot na povrchu půdy za slunečného dne (viz kapitola 4.1.4.2.).

Tab. č. 1 – Údaje o klimakomoře (www.pol-eko.com.pl)

Kapacita komory (l)	625
Rozsah provozních teplot (°C)	-10...+60
Regulace teploty (°C)	0,1
Teplotní stabilita (°C)	$\pm 0,3$
Rozložení teploty (°C)	$\pm 0,8$



Obr. č. 4 – Klimakomora Pol-eko, typ KK 700 (foto: Pol-eko)

4.1.4 Metodický postup pokusu

Semena borovice lesní (*Pinus sylvestris*) byla rozdělena na 10 vzorků (variant), počet v každém vzorku je 500 semen. U pěti variant byly vytvořeny běžné podmínky kultivace (teplota běžně zaznamenávaná pod zásypkou na nechráněném záhoně v půdním substrátu) a zbývajících pět variant bylo vystaveno stresu v podobě zvýšené teploty na 42 °C.

Celý pokus byl třikrát zopakován.

4.1.4.1 Varianty (koncentrace roztoku BRs)

Výchozí koncentrace = 10 mg na 1 l H₂O

M2 = 0,02 mg/l (střední koncentrace upravená, byla zvolena z důvodu konzistentnosti s předchozími experimenty)

H (high) = 0,4 mg/l (nízká koncentrace)

M (medium) = 0,04 mg/l (střední koncentrace)

L (low) = 0,004 mg/l (vysoká koncentrace)

K (kontrola) = kontrolní vzorek bez použití BR

M2S = 0,02 mg/l, vystaveno stresu

HS = 0,4 mg/l, vystaveno stresu

MS = 0,04 mg/l, vystaveno stresu

LS = 0,004 mg/l, vystaveno stresu

KS = kontrolní vzorek bez použití BR, vystaveno stresu

4.1.4.2 Režimy (podmínky kultivace)

OPTIMÁLNÍ: semena vystavena podmínkám dle normy ČSN 48 1211, inkubace při střídavé teplotě (16 hodin ve tmě při teplotě 20 ± 2 °C a 8 hodin na světle při teplotě 30 ± 2 °C.

STRESOVANÝ: semena vystavena jednomu stresovému cyklu zvyšováním teploty dle níže uvedeného programu.

Program pro teplotní stres, 7 segmentů

1. 30 °C	1 hodina
2. 37 °C	1 hodina
3. 40 °C	1 hodina
4. 42 °C	1 hodina
5. 40 °C	1 hodina
6. 37 °C	1 hodina
7. 30 °C	1 hodina

Celková délka programu 10 hodin. V rámci každého segmentu je udržována příslušná konstantní teplota, mezi jednotlivými segmenty jsou řazeny přechodové úseky o délce 30 minut, při kterých dochází k rovnoměrné změně nastavených podmínek (teploty).

4.1.4.3 Postup pokusu

Celý pokus probíhal ve sterilním prostředí. Veškerý použitý materiál (filtrační papír, krabičky, voda, nástroje, včetně klimakomory) byl sterilizován a semena byla před použitím desinfikována roztokem sava (1 : 5).

1. desinfekce před macerováním po dobu 5–10 minut (savo, koncentrace 1 : 5)
2. macerování v brassinostereidech po dobu 48 hodin
3. v prvním týdnu kultivace stresování zvýšenou teplotou
4. každý týden počítání vyklíčených semen

Celý pokus byl třikrát zopakován.

4.1.4.4 Měření klíčků a počítání semen

Celková doba trvání pokusu, od založení po ukončení trvala pět týdnů (35 dnů). Vždy po sedmi dnech byla počítána vyklíčená semena (7., 14., 21., 28., a 35. den). První týden od založení po první počítání vyklíčených semen se do doby zkoušky klíčivosti nepočítá, takže pokus trval 28 dní. Dle ČSN 48 1211 je doba pro zkoušku klíčivosti borovice lesní (*Pinus sylvestris*) 21 dní, ale v tomto pokusu je doba prodloužena na 28 dnů, kvůli porovnatelnosti výsledků s jinými dřevinami.

Za vyklíčené semeno je považováno semeno, jehož délka klíčku je čtyřnásobkem délky semene a měří se v milimetrech. Při ukončení pokusu jsou ale za vyklíčená semena považována všechna semena, která mají klíček (i kratší než čtyřnásobek délky semene).

Sedmý den od založení pokusu byla stresovaná semena (M2S, HS, M2, LS, KS) vystavena zvýšené teplotě (jeden 8hodinový cyklus s maximální teplotou 42 °C, viz kap. 4.1.4.2).

5 Výsledky

Pokus s klíčením semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*) byl třikrát zopakován (založení pokusu 30. 7. 2014, 16. 10. 2014 a 20. 11. 2014).

Na každé počítání vyklíčených semen byla vytvořena tabulka, do které byly průběžně zaznamenávány počty vyklíčených semen v jednotlivých týdnech počítání u konkrétních koncentrací BRs roztoku a kontrolních vzorků (bez ošetření BRs). Další rozdělení vzorků je na vzorky nestresované (za běžných podmínek kultivace) a vzorky stresované (zvyšování teploty až na 42 °C).

Nakonec byla vytvořena tabulka s průměrnými hodnotami všech tří pokusů, tyto hodnoty by měly být pro nás nejvíce vypovídající.

Každá tabulka je doplněna grafem celkového počtu vyklíčených semen za pokus a průběžným grafem vývoje počtu naklíčených semen z jednotlivých počítání.

5.1 Pokus č. 1

Tab. č. 2 – Počty vyklíčených semen pokusu č. 1

Pinus sylvestris, založeno 30. 7. 2014

datum počítání	M2	H	M	L	K	M2S	HS	MS	LS	KS	součet
6.8.	0	14	0	10	0	0	10	0	0	0	34
13.8.	38	101	17	75	2	6	10	0	2	17	268
18.8.	23	55	33	21	0	0	0	0	0	17	302
26.8.	0	8	6	0	0	0	0	0	0	7	21
3.9.	1	0	1	7	1	0	0	8	1	3	22
Celkem	62	178	57	113	3	6	20	8	3	44	647

6. 8. – stresový cyklus

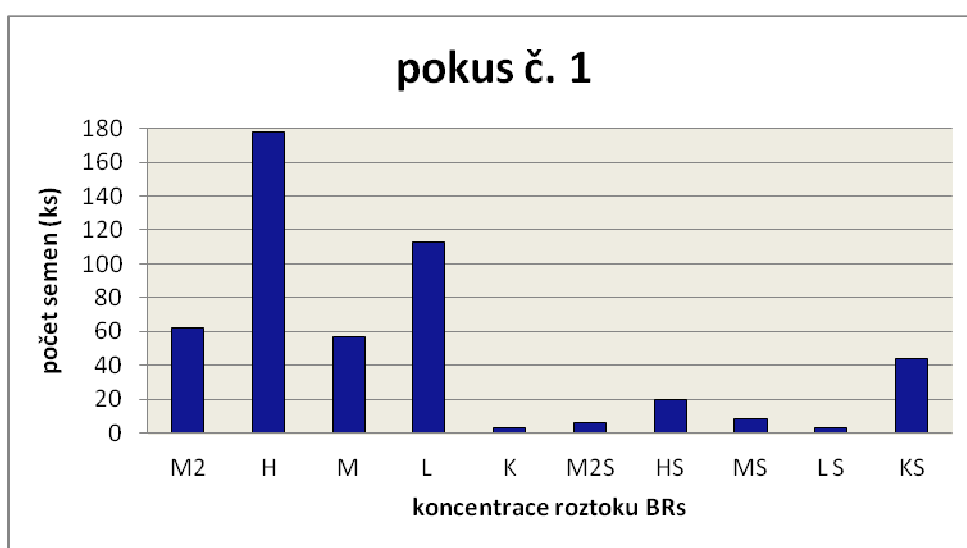
První pokus byl založen 30. 7. 2014. Počet vyklíčených semen byl počítán poprvé 6. 8., dále pak 13. 8., 18. 8., 26. 8. Poslední počítání bylo provedeno 3. 9. 2014 (viz tab. č. 2) a celkově v pokusu vyklíčilo 647 semen z 5000, což je klíčivost 13 %. Tato klíčivost je méně než poloviční oproti pokusům č. 2 a 3.

Dle zjištěných údajů nejvíce semen vyklíčilo v třetím týdnu, tedy při třetím počítání od počátku pokusu, což je rozdílné od pokusů č. 2 a 3. V třetím týdnu vyklíčilo 46,7 % semen z celkového počtu vyklíčených semen, druhý týden 41,4 % a další týdny podstatně nižší

počet. Stresovaná semena dosahovala pouze 18 % klíčivosti z celkového počtu vyklíčených semen.

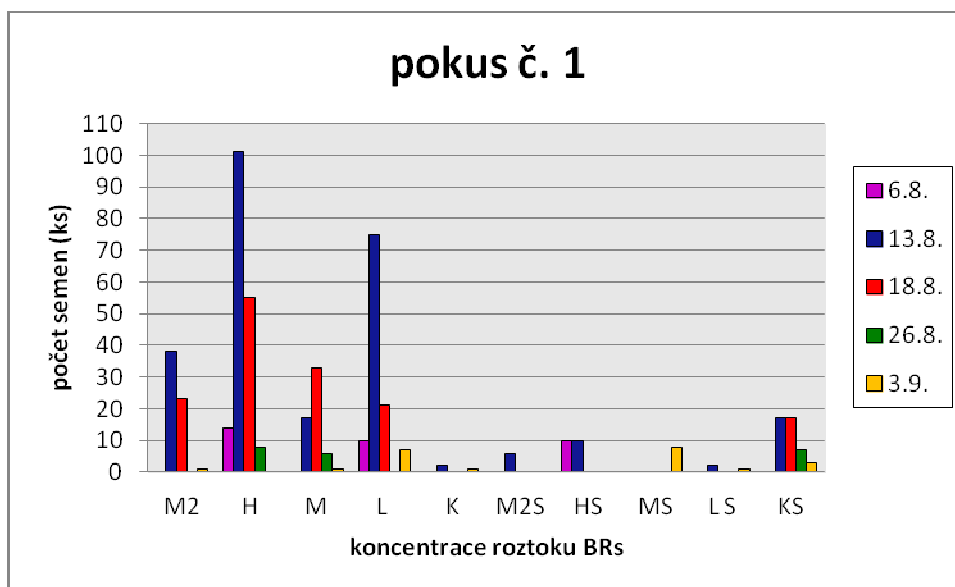
U nestresovaných semen je jednoznačně zaznamenán vliv BRs na klíčení, protože z kontrolního vzorku (bez použití BRs) vyklíčila pouze tři semena. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo u koncentrací H (178 semen) a L (113 semen). U koncentrací MC a M je méně než poloviční počet semen.

Stresovaná semena vykazují zcela opačné hodnoty. U kontrolního vzorku (bez použití BRs) vyklíčil největší počet semen, a to 44. Ze semen ošetřených BRs roztokem vykazoval nejlepší výsledky vzorek HS (20 semen), klíčivost dalších variant byla zanedbatelná.



Graf č. 1 – Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 1

Graf číslo 1 znázorňuje razantní rozdíl v počtu vyklíčených semen v podmínkách bez stresu a se stresem. Ze stresovaných semen vyklíčilo nejvíce v kontrolním vzorku bez ošetření BRs, což je neobvyklý výsledek, podle kterého mají BRs negativní vliv na klíčení semen borovice při vyšších teplotách.



Graf č. 2 – Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 1

Graf číslo 2 znázorňuje, že největší počet semen vyklíčil v druhém týdnu kultivace a další větší počet semen v týdnu třetím.

5.2 Pokus č. 2

Tab. č. 3 – Počty vyklíčených semen pokusu č. 2

Pinus sylvestris, založeno 16. 10. 2014

datum počítání	M2	H	M	L	K	M2S	HS	MS	LS	KS	součet
23.10.	140	177	175	61	54	182	110	93	36	36	1064
30.10.	82	51	65	20	16	110	22	30	33	21	450
5.11.	3	9	3	13	3	5	13	5	13	3	70
12.11.	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3
19.11.	18	23	19	21	11	19	45	25	21	18	220
celkem	225	237	243	94	73	297	147	128	83	78	1807

22. 10. – stresový cyklus

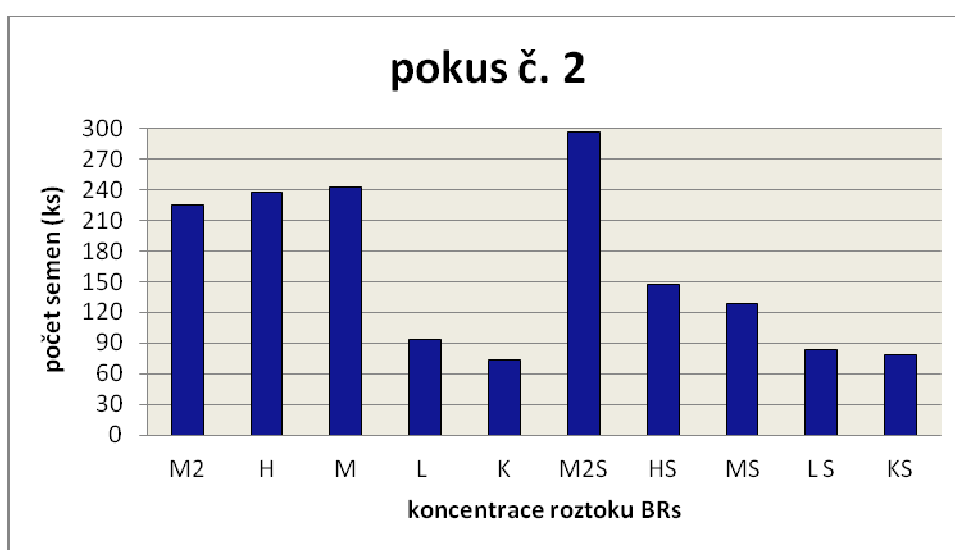
Druhý pokus byl založen 16. 10. 2014, počet vyklíčených semen byl počítán poprvé 23. 10., dále pak 30. 10., 5. 11., 12. 11. Poslední počítání bylo provedeno 19. 11. 2014 (viz tab. č. 3). Celkově v pokusu vyklíčilo 1807 semen z 5000, což je klíčivost 36 %.

Z výsledků vyplývá, že nejvíce semen vyklíčilo v prvním týdnu, tedy při prvním počítání od počátku pokusu, a to 58,9 %, a méně než poloviční počet v druhém týdnu

(24,9 %). Počet vyklíčených stresovaných semen dosahoval 68 % z celkového počtu vyklíčených semen, což je zcela rozdílný výsledek oproti pokusu č. 1. Zajímavostí je, že v posledním týdnu vyklíčilo ještě 12,2 % semen, neboť u pokusu č. 1 již poslední týden vyklíčilo pouze zanedbatelné množství semen.

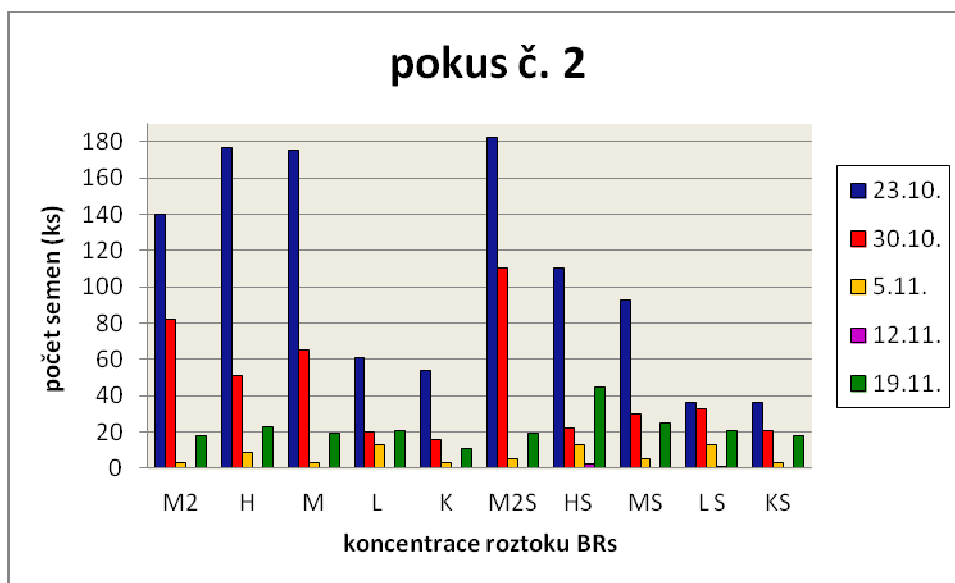
U nestresovaných vzorků jsou srovnatelné výsledky u koncentrací M2, H a M, a to v průměru 235 vyklíčených semen. Kontrolní vzorek byl zde však na nízké úrovni, a to pouze 73 semen.

Ze stresovaných vzorků vyklíčilo nejvíce semen ve vzorku s koncentrací MCS (297 semen), dále pak byly vzorky HS a MS. Kontrolní vzorek vykazoval počet nižší (78 semen).



Graf č. 3 – Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 2

Graf číslo 3 zobrazuje vcelku vyrovnaný počet vyklíčených semen v pokusu č. 2. Semen ošetřených BRs vyklíčilo mnohem vyšší počet než semen neošetřených v kontrolních vzorcích, a to jak za stresu, tak i bez něho.



Graf č. 4 – Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 2

Z grafu číslo 4 je zřejmé, že největší počet semen vyklíčil v prvním týdnu pokusu, dále pak v druhém týdnu, v dalších týdnech již vyklíčil pouze minimální počet semen.

5.3 Pokus č. 3

Tab. č. 4 – Počty vyklíčených semen pokusu č. 3

Pinus sylvestris, založeno 20. 11. 2014

datum počítání	M2	H	M	L	K	M2S	HS	MS	LS	KS	součet
27.11.	122	238	207	169	113	0	0	9	100	2	960
4.12.	40	48	58	72	39	0	0	0	88	0	345
11.12.	1	3	2	3	1	0	0	0	3	0	13
18.12.	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	4
25.12.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
celkem	163	289	268	244	153	0	0	9	194	2	1322

3. 12. stresový cyklus

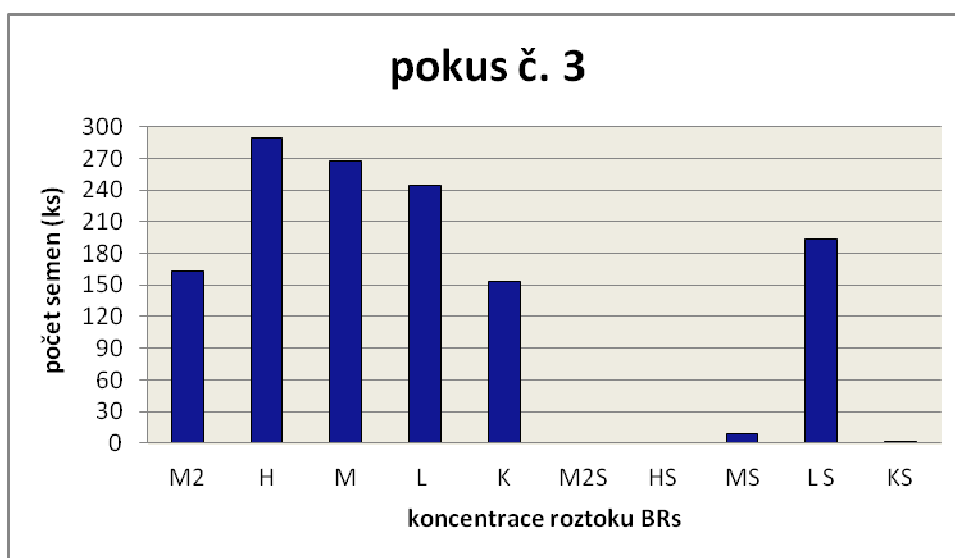
Poslední pokus byl založen 20. 11. 2014. Počet vyklíčených semen byl počítán poprvé 27. 11., dále pak 4. 12., 11. 12., 18. 12. Poslední počítání bylo provedeno 25. 12. 2014 (viz tab. č. 4). Celkově v pokusu vyklíčilo 1322 semen z 5000, což je klíčivost 26,4 %.

Z výsledků vyplývá, že nejvíce semen vyklíčilo v prvním týdnu (jako u pokusu č. 2), tedy při prvním počítání od počátku pokusu, a to 72,6 %. V druhém týdnu vyklíčilo 26,1 %

a další týdný vyklíčil pouze zanedbatelný nebo nulový počet semen. Klíčení u většiny semen tedy proběhlo v prvních dvou týdnech. Počet vyklíčených stresovaných semen dosahoval 18 % z celkového počtu vyklíčených semen, což je shodný výsledek s pokusem č. 1.

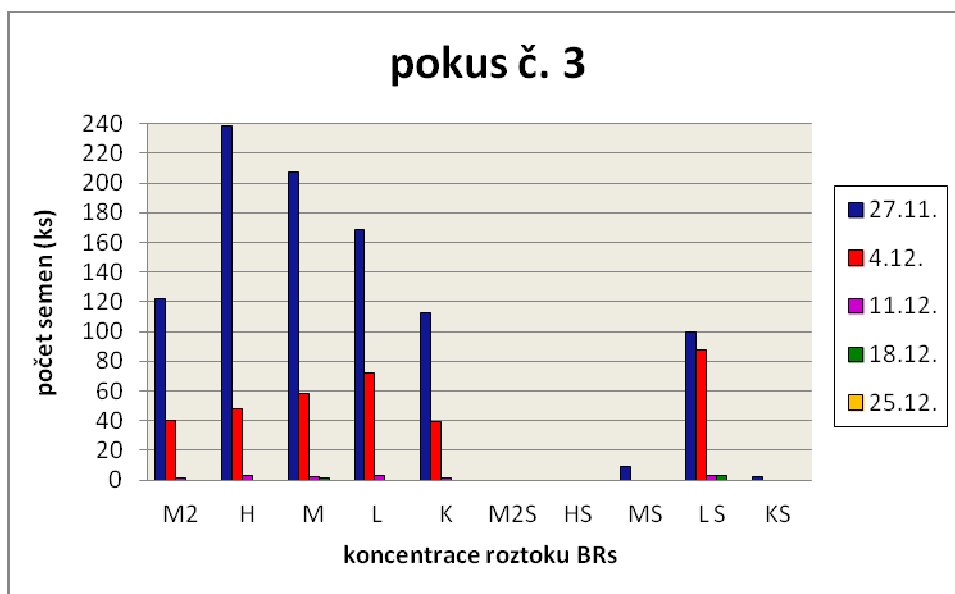
Nestresované vzorky vykazují vcelku vyrovnaných výsledků, koncentrace H 289 semen, M 268 a L 244. Kontrolní vzorek má počet 153 semen.

U stresovaných vzorků bylo dosaženo abnormálních výsledků, které lze jen těžko objasnit. V případě varianty LS bylo zaznamenáno 194 ks vyklíčených semen. Klíčivost semen v ostatních variantách je zanedbatelná (MS 9 semen, ostatní klíčivost nulová). V kontrolním vzorku KS vyklíčila pouze dvě semena.



Graf č. 5 – Celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 3

Graf číslo 5 zobrazuje, že za stresových podmínek vyklíčil malý počet semen ve všech koncentracích, kromě koncentrace LS. V nestresovém prostředí vyklíčilo od 150 do 200 semen ve všech koncentracích i v kontrolním vzorku.



Graf č. 6 – Počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 3

Graf číslo 6 opět zobrazuje razantní počet vyklíčených semen v prvním, dále pak v druhém týdnu. V dalších týdnech byly počty nulové, nebo téměř nulové.

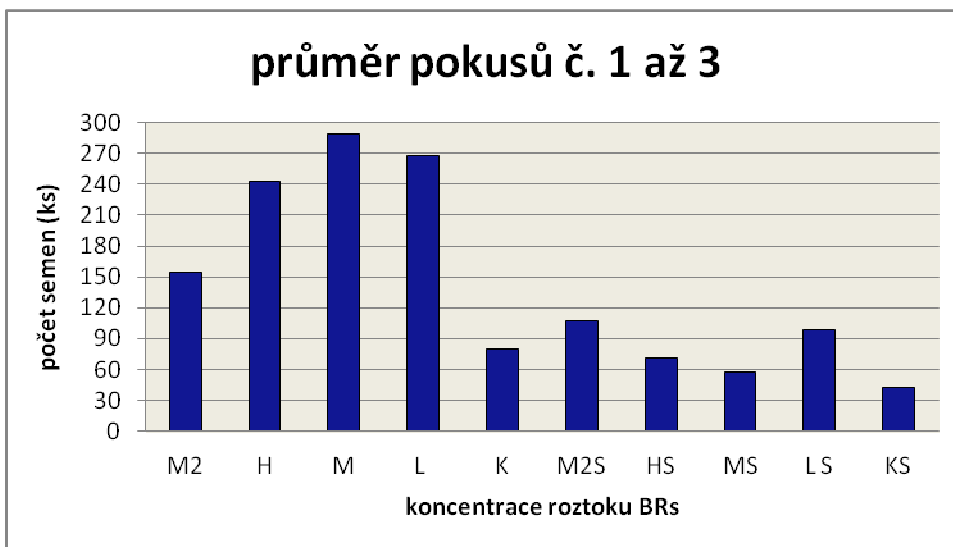
5.4 Průměr z pokusů č. 1 až 3

Tab. č. 5 – Průměrné počty vyklíčených semen pokusu č. 1 až 3

počítání	M2	H	M	L	K	M2S	HS	MS	LS	KS	součet
7. den	87	143	127	80	56	60	40	34	45	13	685
14. den	53	67	140	167	19	39	11	10	41	13	560
21. den	9	22	13	12	1	2	4	2	5	7	77
28. den	0	3	2	0	0	0	1	0	1	2	9
35. den	6	8	7	9	4	6	15	11	7	7	80
celkem	155	243	289	268	80	107	71	57	99	42	1411

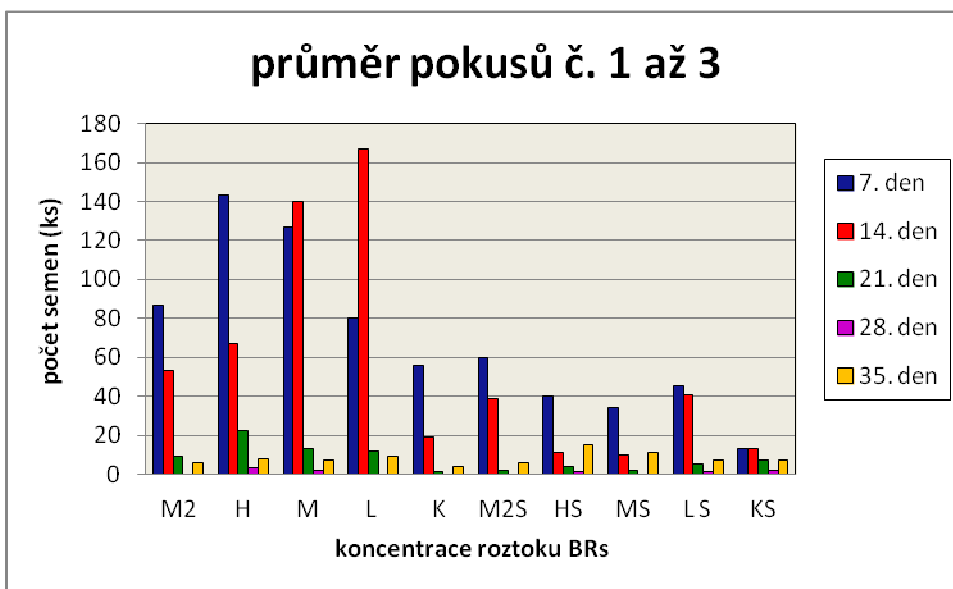
V tabulce č. 5 jsou uvedeny souhrnné výsledky (průměry) za všechna opakování pokusu.

Průměrně vyklíčilo 1411 semen z celkového počtu 5000, což je klíčivost 28,2 %. Nejvyšší počet semen vyklíčil v prvním a druhém týdnu, tedy při počítání první a čtrnáctý den od založení pokusu. První týden (vztaženo k celkovému počtu vyklíčených semen) vyklíčilo 48,6 %, druhý týden 39,7 %, třetí týden však už pouze 5,5 %, čtvrtý týden zanedbatelných 0,6 % a pátý týden (díky abnormálním výsledkům pokusu č. 2) 5,7 %.



Graf č. 7 – Průměrný celkový počet vyklíčených semen pokusu č. 1 až 3

Graf číslo 7 zobrazuje průměrné hodnoty z pokusů 1 až 3 a je z něho zřejmé, že za běžných podmínek kultivace vyklíčil podstatně vyšší počet semen než za podmínek stresových, bez ohledu na koncentraci BRs roztoku. Kontrolní vzorek u semen bez stresu vypovídá o pozitivním vlivu BRs na klíčení semen borovice lesní.



Graf č. 8 – Průměrný počet vyklíčených semen v jednotlivých týdnech pokusu č. 1 až 3

Graf číslo 8 zobrazuje průměrné hodnoty z pokusů 1 až 3, v jednotlivých týdnech kultivace. Nejvyšší počet semen vyklíčil v prvním a druhém týdnu, bez ohledu na koncentrace. V dalších týdnech počet vyklíčených semen již rapidně klesl k počtům do 20 kusů.

6 Diskuze

Zatímco doposud publikované zahraniční studie v oblasti zemědělství (Krishna, 2003; Müssig, 2005) popisují prokazatelně pozitivní vliv na růst a vývoj zemědělských plodin, v oblasti lesnictví nejsou výsledky tak jednoznačné. V některých pokusech měly BRs dokonce i negativní vliv na lesní sazenice.

Mandava (1988), Rao et al., (2002), a Bajguz (2007) ve svých výzkumech zmiňují pozitivní vliv BRs na stimulaci prodlužování stonku u mnoha převážně zemědělských rostlin.

6.1 Vliv na sazenice lesních dřevin

Účinkům aplikace BRs na dřeviny se ve svých pracích věnovali Li et al., (2008), kteří testovali vliv BRs na sazenice trnovníku akátu (*Robinia pseudoacacia* L.), které byly před výsadbou namáčeny v roztoku s BRs v koncentraci 0–0,4 mg.l⁻¹. Tato studie udává, že u sazenic došlo jak k výraznému zvýšení růstu, tak k jejich vyšší odolnosti proti stresům. Nejlepší výsledky byly dosaženy při použití roztoku s BRs o koncentraci 0,2 mg.l⁻¹.

Zajímavých výsledků dosáhli také Mandava, Thompson (1983), kteří uvádějí, že aplikace brassinosteroidů u druhu *Phaseolus vulgaris* způsobila prodloužení, zakřivení a otok při dávce nižší než 0,01 mg a prasknutí stonku v množství vyšším než 0,1 mg.

Poláček (2014) uvádí, že v hodnotách průměru kořenového krčku sazenic buku lesního jsou u měření jen nepatrné rozdíly mezi ošetřenou a neošetřenou variantou. V případě výšky vykazovaly signifikantně vyšší hodnoty sazenice ošetřené. Hodnoty mortality ukazují, že vyšší procento úmrtnosti sazenic během sledovaného období bylo u kontrolních (neošetřených) sazenic. Dle Poláčka (2014) mají tedy BRs pozitivní vliv na přírůst sazenic buku lesního, ale Nováková et al. (2015) uvádějí, že efekt aplikace roztoku brassinosteroidů (BRs) na sazenice lesních dřevin může být rozdílný v závislosti na dřevině a sledovaném parametru. Z pohledu statistického vyhodnocení byl v případě borovice lesní potvrzen pozitivní vliv zvyšující se koncentrace BRs na snížení mortality, efekt na přírůst byl spíše negativní. U smrku ztepilého (*Picea abies*) nebyl zjištěn statisticky průkazný pozitivní vliv aplikace roztoku BRs na snížení mortality.

Vlivem BRs na mortalitu sazenic v podmínkách různých lesních školek se zabývali také Nováková et al. (2015), kteří tvrdí následující: V lesní školce Čikov byla mortalita smrku nejnižší u varianty K (kontrola) – (2,0 %), nejvyšší u varianty S (střední) – (5,7 %). V Klášterci nad Ohří byla průkazně nejnižší mortalita zjištěna u varianty N (nizká, 1,3 %) oproti K (kontrola, 4,4 %) a S (střední, 3,7 %). Mezi mortalitou SM u jednotlivých

testovaných variant v lesní školce Tišice nebyl zjištěn žádný statisticky průkazný rozdíl; mortalita byla celkově nízká (max. 1,02 %).

Dále Nováková et al. (2015) uvádějí, že u borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v lesní školce Tišice byla průkazně odlišná u všech testovaných variant. Nejnižší byla u varianty V (vysoká) a dále byla zaznamenána zvyšující se mortalita v závislosti na poklesu dávky BRs.

6.2 Vliv na klíčivost semen

Kuneš et al., (2015) uvádějí, že stres suchem výrazně snížil klíčivost a klíčení smrku ztepilého (*Picea abies*), borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a douglasky tisolisté (*Pseudotsuga mensiesii*), ale při aplikaci BRs bylo dosaženo vyšší klíčivosti při stresových účincích sucha na semena smrku ztepilého a borovice lesní.

Potvrdit lze výzkumy Xi, Zu, (2010), kteří uvádí, že brassinosteroidy významně podporují klíčení semen. V pokusu této práce bylo zjištěno, že BRs mají prokazatelně pozitivní vliv na klíčení semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*). Zatímco semena neošetřená BRs měla klíčivost pouze 16 %, semena ošetřená BRs roztokem měla klíčivost 47,8 %.

Semenářský závod Týniště nad Orlicí uvádí u osiva použitého v tomto pokusu klíčivost 84 %, ale klíčivost zjištěna v pokusech této práce (semena ošetřená BRs roztokem) je pouze 47,8 %, za běžných podmínek kultivace. Klíčivost kontrolního vzorku byla pouhých 16 %. Za stresových podmínek (zvýšená teplota) byla klíčivost 16,7 % u semen ošetřených BRs a 8,4 % u vzorku kontrolního.

Energie klíčení byla stanovena semenářským závodem na 41 %, ale v této práci (semena ošetřená BRs roztokem) vyšla v běžných podmínkách kultivace na 21,86 % a u kontrolního vzorku byla pouhých 11,2 %. Za stresových podmínek byla energie klíčení 8,95 % u semen ošetřených BRs a 2,6 % u vzorku kontrolního. I přes celkovou nízkou klíčivost nezávisle na variantách lze zaznamenat mírně pozitivní vliv BRs, a to jak u variant kultivovaných za standardních podmínek, tak u variant vystavených teplotnímu stresu.

Li et al. (2004) uvádí, že rychlost klíčení a energie klíčení u *Ailanthus altissima* vzrostla o 17,6 % a 18,8 % a průměrná rychlost klíčení (tj. doba klíčení) semen byla zkrácena o 1,4 dne za použití optimální koncentrace BRs (0,4 mg.l⁻¹) ve srovnání s kontrolou.

Některé dílčí výsledky sice naznačují pozitivní vliv BRs na klíčení semen lesních dřevin, ale vzhledem k relativně malému efektu by případné zavedení do praxe bylo zatím zřejmě předčasné. Je třeba dalšího podrobného zkoumání vlivu BRs na klíčení semen různých lesních dřevin, pro zvýšení reprodukovatelnosti výsledků.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo posoudit potenciál využití brassinosteroidů v lesním semenářství, školkařství a při zakládání lesa. Brassinosteroidy jsou rostlinné hormony, které se přirozeně vyskytují v rostlinách a mohou mít, za určitých podmínek, pozitivní vliv na růst a vývoj všech druhů rostlin. Dnes se vyrábí synteticky a jsou účinné již při velmi nízkých koncentracích. V zemědělství je známa již celá řada výsledků výzkumu, ale v oblasti lesnictví však zatím nebylo provedeno dostatečné množství výzkumů, v oblasti BRs.

V práci bylo, kromě stručné literární rešerše o brassinosteroidech, zhodnoceno několik konkrétních výzkumů a studií o vlivu brassinosteroidů na semena lesních dřevin a lesní sazenice. Posuzován byl vliv BRs na klíčení semen, mortalitu sazenic, růst biomasy a také vliv na toleranci vůči stresu.

Při celkovém zhodnocení dosavadních výsledků výzkumu v oblasti lesnictví nelze jednoznačně tvrdit, že mají BRs prokazatelně pozitivní vliv na lesní osivo a sazenice lesních dřevin. Brassinosteroidy mohou, za určitých podmínek, způsobovat zvýšení přírůstu biomasy (zvětšení nadzemní části, kořenů, kořenového krčku), dále mohou snižovat mortalitu sazenic a také mohou zvyšovat klíčivost a energii klíčení semen. Za určitých podmínek je však vliv BRs nulový, někdy dokonce záporný, kdy vzorky ošetřené BRs roztokem vykazují horší výsledky než vzorky kontrolní.

Náplní praktické části této práce byl pokus, jehož cílem bylo zhodnotit vliv brassinosteroidů na klíčení semen borovice lesní (*Pinus sylvestris*), a to jak v běžných podmínkách kultivace, tak v podmínkách stresových. Celý pokus probíhal v klimakomoře, kde byla semena vystavena stresu zvyšováním teploty na 42 °C. Z výsledků vyplývá, že semena ošetřená různými koncentracemi BRs roztoku vykazovala znatelně vyšší klíčivost, než semena v kontrolních vzorcích (bez použití BRs) za běžných podmínek kultivace. Semena vystavená stresu v podobě zvýšené teploty měla při použití BRs také vyšší klíčivost, ale ne tak markantní jako u semen v běžných podmínkách kultivace.

Závěrem lze tedy říci, že jistý potenciál využití brassinosteroidů v lesním hospodářství je, ale výsledky dosavadních studií ukazují, že zavedení BRs do běžné praxe nemá v současné době efektivní význam.

8 Seznam literatury a použitých zdrojů

- Abraham E., Rigo G., Szekely G., Nagy R., Koncz C., Szabados L. 2003. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 51: 363–372.
- Arteca, R. N. 1996. *Plant growth substances: principles and applications*. Chapman & Hall. New York. p. 332. ISBN: 0412039117.
- Bajguz A. 2007. Metabolism of brassinosteroids in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 95–107. doi:10.1016/j.plaphy.2007.01.002.
- Bajguz A., Tretyn A., 2003. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 62: 1027–1046.
- Bezecný I., Bártová J., Škarda J. 1992. Growth hormone treatment increases oestrogen receptor concentration in the guinea-pig uterus. *Journal of Endocrinology*, 134: 5–9.
- Bouquin T., Meier C., Foster R., Nielsen ME., Mundy J. 2001. Control of specific gene expression by gibberellin and brassi-nosteroid. *Plant Physiol*, 127: 450–458.
- Clouse S. 2000. Brassinosteroids. *Current biology*. Volume 11, Issue 22, 13 November 2001, Pages R904. doi:10.1016/S0960-9822(01)00549-8.
- Clouse SD., Sasse JM., 1998. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Review that suppress or enhance either brassinosteroid-deficient of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 427–451.
- Cutler GC. 1991. Brassinosteroids through the looking glass: an appraisal. In: Cutler HG, Yokota T, Adam G Eds. *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 334–345.
- Cutler HG., Yokota T., Adam G. 1991. *Brassino-steroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 280–291.
- ČSN 48 1211. *Lesní semenářství – Sběr, kvalita a zkoušky kvality semenného materiálu lesních dřevin*. 1.4.2006. 60 s.
- Dhaubhadel S., Browning KS., Gallie DR., Krishna P. 2002. Bras-sinosteroid functions to protect the translational machinery and heat shock protein synthesis following thermal stress. *Plant J*, 29: 681–691.

- Fao corporate dokument repository. A guide to forest seed handling [online]. APPENDIX 7 GLOSSARY. Español Français. [cit. 2015-02-17].
Dostupné z: <<http://www.fao.org/DOCREP/006/AD232E/AD232E20.htm> >.
- Friedrichsen DM., Nemhauser J., Muramitsu T., Maloof JN., Alonso J., Ecker JR., Furuya M., Chory J. 2002. Three redundant brassinosteroid early response genes encode putative bHLH transcription factors required for normal growth. *Genetics*, 162: 1445–1456.
- Fujioka S. 1999. Natural occurrence of brassinosteroids in the plant kingdom. In *Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones*, Sakurai A, Yokota T, Clouse SD eds., (Tokyo: Springer), pp 21–45.
- Goda H., Shimada Y., Asami T., Fujioka S., Yoshida S. 2002. Microarray analysis of brassinosteroid-regulated genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 130: 1319–1334.
- Hradecká A., Urban J., Kohout L., Pulkrábek J., Hnilička R., 2009. Využití brassinosteroidů k regulaci stresu během růstu a tvorby výnosu řepy cukrové. *LČař*, 125: 9–10.
- Ikekawa N., Zhao YJ. 1991. Application of 24-epibrassinolide in agriculture. In: Cutler HG, Involvement of Brassinosteroids in the Gravitropic Response of Primary Root of Maize. *Plant Physiol* [online]. 2000, vol. 123, [cit. 2014-02-02]. Dostupné z: <<http://www.plantphysiol.org/cgi/content/abstract/123/3/997> >.
- Kamuro Y., Takatsuto S. 1991. Capability for and problems of practical uses of brassinosteroids. In: Cutler HG, Yokota T, Adam G Eds. *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 292–297.
- Kamuro Y., Takatsuto S. 1999. Practical applications of brassinosteroids in agricultural fields. In: Sakurai A, Yokota T, Clouse SD Eds. *Brassinosteroids Steroidal Plant Hormones*. Tokyo: Springer-Verlag. pp 223–241.
- Katsumi M. 1991. Physiological modes of brassinolide action in cucumber hypocotyl growth. In: Cutler HG, Yokota T, Adam G Eds. *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 246–254.
- Khripach V. A., Zhabinskii V.N., De Groot A.E. 2000. Twenty years of brassinosteroids. *Annals of Botany*, 86: 441–447.
- Kim S., Chang S. CH., Joo E. L., Chung W. S., Kim Y. S., Hwang S., Lee, S. 200.

- Klečáková P. 2012. Využití brassinosteroidů při pěstování zeleniny. Diplomová práce.
- Krishna P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. *Journal of Plant Growth Regulation*, 22: 289–297. doi:10.1007/s00344-003-0058-z.
- Kulaeva O.N., Burkhanova E.A., Fedina A.B., Khokhlova V.A., Bokebayeva G.A., Vorbrodt H.M., Adam G. 2000. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions [online]. USSR Academy of Sciences, Moscow, USSR.
Dostupné z: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9409800>>.
- Kulaeva ON., Burkhanova EA., Fedina AB., Khokhlova VA., Bokebayeva GA., Vorbrodt HM., Adam G. 1991. Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions. In: Cutler HG, Yokota T, Adam G Eds. *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 141–155.
- Kuneš I., Baláš M., Linda R., Gallo J., Nováková O. 2015. Effects of brassinosteroid on seed germination of Norway spruce, Scots pine, Douglas fir, and English oak.
- Lesy ČR – Týniště nad Orlicí. Historie [online]. Místo vydání: Týniště nad Orlicí – Semenářský závod. [cit. 2015-02-17]. Dostupné z: <<http://www.semenarskyzavod.cz/Stranky/historie.aspx>>.
- Li J. 2003. Brassinosteroids signal through two receptor-like kinases. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 494–499.
- Li J., Chory J. 1997. A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 90: 929–938.
- Li J., Chory J. 1999. Brassinosteroid actions in plants. *J Exp Bot*, 332: 275–282.
- Li J., Nagpal P., Vitart V., McMorris TC., Chory J., 1996. A role for brassinosteroids in light-dependent development of *Arabidopsis*. *Science*, 272: 398–401.
- Li KR., Wang HH., Han G., Wang QJ., Fan J. 2008. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. *New Forests* 35: 255–266. doi:10.1007/s11056-007-9075-2.
- Liechti R., Farmer EE. 2002. The jasmonate pathway. *Science*, 296: 1649–1650.
- Mandava N. B. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annual Review of Plant*

- Physiology and Plant Molecular Biology, 39: 23–52.
- Mandava N. B., Thompson, M. J. 1983. Chemistry and function of brassinolide. In: Proceedings of the Isopentoid Symposium, Nes W. D., Fuller G., Tsai L. S. (eds.), New York, s. 410–431.
- Mandava NB. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 39: 23–52.
- Mandava NB. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.*, 39: 23–52.
- Mazorra L. M., Núñez M., Hechavarria M., Coll F., Sánchez-Blanco M. J. 2002. Influence of Brassinosteroids on Antioxidant Enzymes Activity in Tomato Under Different Temperatures. *Biologia Plantarum*, 45: 4: 593–596.
- Mitchell JW., Mandava NB., Worley JF., Plimmer JR., Smith MV. 1970. Brassins—a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 225: 1065.
- Montoya T., Nomura T., Farrar K., Kaneta T., Yokota T., Bishop GJ. 2002. Cloning the tomato *Curl3* gene highlights the putative dual role of the leucine-rich repeat receptor kinase tBRI1/ SR160 in plant steroid hormone and peptide hormone signaling. *Plant Cell* 14:3163–3176.
- Müssig C. 2005. Brassinosteroid-Promoted Growth. *Plant biology. Plant Biology*, 7: 2: 110–117. doi: 10.1055/s-2005-837493.
- Müssig C., Altmann T. 1999. Physiology and molecular mode of action of brassinosteroids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37: 5: 363–372. doi:10.1016/S0981-9428(99)80042-4.
- Müssig C., Biesgen C., Lisso J., Uwer U., Weiler EW., Altmann T. 2000. A novel stress-inducible 12-oxophytodienoate reductase from *Arabidopsis thaliana* provides a potential link between brassinosteroid action and jasmonic acid synthesis. *J Plant Physiol*, 157: 143–152.
- Müssig, C., Shin, G., Altmann, T. 2003. Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* [online]. 2003. 133 (3). [cit. 2014-11-24]. Dostupné z: <<http://www.plantphysiol.org/content/133/3/1261.short>>.
- Nováková O., Kuneš I., Gallo J., Baláš M. 2014. Effects of brassinosteroids on prosperity of Scots pine seedlings. *Journal of Forest Science*, 60: 388–393.

- Ono M., Kaye S. M., Peng Y.-K. M., Barnes G., Blanchard W., Carter M. D., Chrzanowski J., Dudek L., Ewig R., Gates D., Hatcher R.E., Jarboe T., Jardin S. C., Johnson D., Kaita R., Kalish M., Kessel C. E., Kugel H. W., Maingi R., Majeski R., Manickam J., McCormack B., Menard J., Mueller D., Nelson B. A., Nelson B. E., Neumeyer C., Oliaro G., Paoletti F., Parsells R., Perry E., Pomphrey N., Ramakrishnan S., Raman R., Rewoldt G., Robinson J., Roquemore A. L., Ryan P., Sabbagh S., Swain D., Synakowski E. J., Viola M., Williams M., Wilson J. R. and NSTX Team. 200. Exploration of spherical torus physics in the NSTX device. *Nucl. Fusion*, 40: 557. doi:10.1088/0029-5515/40/3Y/316.
- Peng P., Li J. 2003. Brassinosteroid signal transduction: a mix of conservation and novelty. *J Plant growth Regul* 22:298–312.
- Poláček J. 2014. Vliv brassinosteroidů na prosperitu mladých kultur lesních dřevin. Bakalářská práce.
- POL-EKO- APARATURA. Komora Klimatyczna KK 700 [online]. Vydal: POL-EKO- APARATURA sp.j. [cit. 2015-03-08]. Dostupné z: <<http://www.pol-eko.com.pl/kk-700.html>>.
- Pustovoitova TN., Zhdanova NE., Zholkevich VN. 2001. Epibrasinolide increases plant drought resistance. *Doklady Biochem Biophys*, 376: 36–38.
- Rao S. R., Vardhini V. B., Sujatha E., Anuradha S. 2002. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. *Current Science*, 82: 1239–1245.
- Raven P. H., Ray F.E., Susan E. Eichhorn *Biology of Plants*, 7th Edition. New York : W. H. Freeman and Company Publishers. ISBN 0-7167-1007-2, s. 504–508.
- Sairam RK. 1994. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. *Plant Growth Regul*, 14: 173–181.
- Sasse J. 1999. Physiological actions of brassinosteroids. In A Sakurai, T Yokota, SD Clouse, eds, *Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones*. Springer-Verlag, Tokyo, pp 137–161.
- Sasse J. 1999. Physiological actions of brassinosteroids. In: Sakurai A, Yokota T, Clouse SD Eds. *Brassinosteroids Steroidal Plant Hormones*. Tokyo: Springer-Verlag. pp 137–161.
- Scheer JM., Ryan CA. 2002. The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 9585–9590.

- Schilling G., Schiller C., Otto S. 1991. Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar beet plants. In: Cutler HG, Yokota T, Adam G Eds. *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. ACS Symp Ser 474. Washington, DC: American Chemical Society. pp 208–219.
- Szekeres M. 2003. Brassinosteroid and systemin: two hormones perceived by the same receptor. *Trends Plant Sci*, 8: 102–104.
- Szekeres M., Nemeth K., Koncz-Kalman Z., Mathur J., Kauschmann A., Altmann T., Redei GP., Naga F., Schell J., Koncz C., 1996. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in Arabidopsis. *Cell*, 85: 171–182.
- Technologie – Obnova lesa, výchova a ochrana porostů [online]. Vydal: Michal Dud. 2009. [cit. 2015-02-07].
Dostupné z: <<http://obnova-lesa.euweb.cz/OBNOVALESA22semen.pdf>>.
- Wang KL-C., Li H., Ecker JR. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell Suppl.*, s. 131–151.
- Wikipedie – otevřená encyklopedie. Brassinosteroidy [online]. [cit. 2015-1-27]. Dostupné z: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Brassinosteroidy>>.
- Wikipedie – otevřená encyklopedie. Klíčení semene [online]. [cit. 2015-01-27]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kl%C3%AD%C4%8Den%C3%AD_semene>.
- Wilén RW., Sacco M., Gusta LV., Krishna P. 1995. Effects of 24-epibrassinolide on freezing and thermotolerance of bromegrass (*Bromus inermis*) cell cultures. *Physiol Plant*, 95:195–202.
- Xi W., Yu H. 2010. MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination and fertility relevant to the brassinosteroid signaling pathway. Department of Biological Sciences and Temasek Life Sciences Laboratory, National University of Singapore, Singapore Published. *Plant Signaling & Behavior*.
- Xi, W. Y., Yu, H. 2010. Mother Of FT and TFL1 regulates seed germination and fertility relevant to the brassinosteroid signaling pathway. *Plant Signaling and Behavior* [online]. 2010. 5 (10). [cit. 2014-11-24].

- Xi, W. Y., Yu, H. 2010. Mother Of FT and TFL1 regulates seed germination and fertility relevant to the brassinosteroid signaling pathway. *Plant Signaling and Behavior* [online]. 2010. 5 (10). [cit. 2014-8-20].
- Yi HC., Joo S, Nam KH., Lee JS., Kang BG., Kim WT. 1999. Auxin and brassinosteroid differentially regulate the expression of three members of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family in mung bean (*Vigna radiata* L. *Plant Mol Biol* 41:443–454.
- Zhu J-K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 53: 247–273.

9 Přílohy

Seznam příloh

Obrázek 1: Osivo borovice lesní.....	51
Obrázek 2: Macerace osiva v roztoku brassinosteroidů.	51
Obrázek 3: Průběh klíčení.....	52
Obrázek 4: Měření délky klíčku.	52
Obrázek 5: Interiér klimakomory.	53

Obrázek 1: Osivo borovice lesní.



Obrázek 2: Macerace osiva v roztoku brassinosteroidů.



Obrázek 3: Průběh klíčení.



Obrázek 4: Měření délky klíčku.



Obrázek 5: Interiér klimakomory.

