

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra ochrany rostlin



**Změny v klíčivosti, životnosti a morfologii semen v závislosti na
délce setrvání v půdě**

Diplomová práce

**Autor práce: Bc. Hana Foffová
Obor studia: N-AML**

Vedoucí práce: RNDr. Jan Kabíček, CSc.

**Konzultanti: Ing. Jan Lukáš, Ph.D.,
Doc. Ing. Zdenka Martinková, CSc.,
Doc. RNDr. Pavel Saska, Ph.D.**

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci Změny v klíčivosti, životnosti a morfologii semen v závislosti na délce setrvání v půdě jsem vypracovala 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 autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala RNDr. Janu Kabíčkoví, CSc. za možnost se podílet na práci výzkumného týmu Funkce biodiverzity bezobratlých a rostlin v agrosystémech. Za připomínky k mé diplomové práci a k její formě. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janu Lukášovi, Ph.D. (VÚRV, v.v.i.) za pomoc a trpělivost při fotografování semen a jejich analýze. I za zprostředkování focení semen na SEM mikroskopu. Mé díky patří i Doc. Ing. Zdence Martinkové, CSc. (VÚRV, v.v.i.) za poskytnutí literatury. Největší dík patří Doc. RNDr. Pavlu Saskovi, Ph.D. za konzultace diplomové práce, za její kontrolu a věcné připomínky. Dále bych chtěla poděkovat paní laborantce Janě Kohoutové (VÚRV, v.v.i.) za pomoc při pokusech klíčení a za příjemné pracovní prostředí.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu a trpělivost při mých studiích.

Práce byla vypracována jako součást řešení grantu GAČR 14-02773S Ekologický význam kolonizace semen půdními mikroorganismy pro predaci (řešitel Pavel Saska, nositel VÚRV, v.v.i.).

Změny v klíčivosti, životnosti a morfologii semen v závislosti na délce setrvání v půdě

Souhrn

Tato práce se zabývá dlouhověkostí 26 druhů semen. Byla analyzována semena, která strávila 0 – 8 let v půdě. Životnost byla zjišťována testem klíčivosti a tzv. crush testem. Dále byla předpovězena doba od zakopání, kdy bylo dosaženo 50 % a 5 % životnosti semen. Životnost se výrazně lišila mezi sledovanými druhy, a to i u příbuzných druhů v rámci jedné čeledi. Druhy semen, u nichž byla 50 % životnost v půdě zjištěna delší než 10 let, jsou *Geum urbanum*, *Thlaspi arvense* a *Urtica dioica*. Naopak nejméně životnými jsou *Chenopodium glaucum*, *Crepis biennis*, *Campanula trachelium* a *Atriplex sagittata*. Tyto druhy neměly v podmínkách experimentu dlouhověkost vyšší než dva roky. Průběh změn životnosti semen s dobou setrvání v půdě byly popsány pomocí logistické křivky. Dále byly analyzovány změny ve zbarvení povrchu semen pomocí obrazové analýzy. Průkazné změny alespoň v jedné části RGB spektra byly zjištěny u celkem 17 druhů.

Klíčová slova: půdní banka semen; klíčení; tetrazoliový test; SEM; obrazová analýza

Changes in germination, longevity and morphology of seeds as affected by duration of seed burial

Summary

This thesis focuses on longevity of 26 species of seeds. The set of seed that spent 0 – 8 years in soil seed bank was analyzed. Seed viability was assessed by means of a germination test and a crush test. Furthermore the time that seed viability in seed populations declined to 50 % or 5 % was predicted. Seed viability was markedly different among the study seeds, also in seeds of the same family. The time of 50 % viability exceeded 10 years in *Geum urbanum*, *Thlaspi arvense* and *Urtica dioica*. On the contrary, the ones with the shortest survival in soil are *Chenopodium glaucum*, *Crepis biennis*, *Campanula trachelium* and *Atriplex sagittata*, which did not survive longer than 2 years under the experimental conditions. The trajectory of changes in seed viability with time spent in soil were described using a logistic curve. The colour changes of the seed coat were determined by means of image analyzes. Significant changes in at least one component of the RGB spectrum were found in 17 species.

Keywords: seed bank; gemination; Tetrazolium Chloride Test; SEM; image analysis

Obsah

| | |
|--|----|
| 1. Úvod..... | 1 |
| 2. Cíle práce a vědecké hypotézy..... | 2 |
| 2.1. Cíle práce..... | 2 |
| 2.2. Hypotézy..... | 2 |
| 3. Literární rešerše..... | 3 |
| 3.1. Půdní zásoba semen..... | 3 |
| 3.2. Životnost a dlouhověkost semen..... | 4 |
| 3.3. Klíčivost..... | 5 |
| 3.4. Klíčení semen..... | 6 |
| 3.5. Dormance semen..... | 6 |
| 3.6. Vliv fytohormonů a sekundárních metabolitů v semenech..... | 7 |
| 3.8. Testování životaschopnosti semen..... | 8 |
| 3.9. Obrazová analýza..... | 10 |
| 4. Materiál a metody..... | 11 |
| 4.1. Studované druhy semen..... | 11 |
| 4.2. Materiál semen..... | 19 |
| 4.3. Testování životnosti..... | 19 |
| 4.4. Statistické vyhodnocení dat..... | 20 |
| 4.5. Obrazová analýza morfologických a barevných změn semen..... | 21 |
| 4.6. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu..... | 22 |
| 5. Výsledky..... | 23 |
| 5.1. Výsledky testů životnosti..... | 23 |
| 5.2. Výsledky klíčivosti a dlouhověkosti jednotlivých druhů semen..... | 29 |
| 5.3. Porovnání klíčivosti a dlouhověkostí semen stejných čeledí..... | 37 |
| 5.4. Výsledky obrazové analýzy..... | 42 |
| 5.5. Výsledky elektronové mikroskopie..... | 57 |
| 6. Diskuze..... | 58 |

| | |
|---|----|
| 6.1. Diskuze o jednotlivých druzích semen | 59 |
| 7. Závěr | 66 |
| 8. Seznam literatury | 67 |
| 9. Fotografie ze scanovacího mikroskopu..... | 75 |

1. Úvod

Tato práce se zabývá životností semen, jejich dlouhověkostí a vnějšími morfologickými změnami. Semena, která opustí svou mateřskou rostlinu, se mohou vydat třemi různými cestami. Za první mohou hned vyklíčit, za druhé mohou být zdrojem potravy jiným organismům, nebo za třetí se mohou stát součástí půdní zásoby semen, kde semena mohou setrvat mnoho let. Půdní zásoby semen se mohou lišit podle lokalit. Nejčastěji se mění druhy semen zastoupené v půdní zásobě semen, populační hustota semen a délka setrvání semen v půdě. Půdní zásoba semen se mění faktory, jako je např. systém hospodaření (v ekologickém zemědělství se do půdní zásoby semen dostává více semen nežli v konvenčním zemědělství), osevnický postup na daném pozemku, geografické umístění pozemku, systém hnojení a mnoho dalších faktorů. Nejvíce nás v zemědělském sektoru trápí dormantní semena plevelů, která klíčí velmi nepravidelně a mají poměrně vysokou životnost. Na jednom metru čtverečním můžeme nalézt více než 1000 semen (Kohout, 1997). Pro správné hospodaření na daném pozemku je vhodné vědět, jaké druhy se na pozemcích v půdní zásobě semen vyskytují a správně detekovat jejich životnost.

2. Cíle práce a vědecké hypotézy

2.1. Cíle práce

Hlavním cílem práce bylo zjistit životnost semen u vybraného spektra bylin, zejména plevelů, vyskytujících se v agroekosystémech střední Evropy v závislosti na délce setrvání v půdě. Vybrané druhy semen se lišily morfologií semen (velikostí, tvarem, hmotností, tloušťkou obalů) a systematickým zařazením. Jednalo se kolekci semen, která setrvala v půdě 1 – 8 let. Těchto cílů bylo dosaženo ve třech krocích: klíčovými experimenty, testy životnosti pomocí tzv. crush testu a tetrazoliového testu.

Vedlejším cílem bylo zdokumentovat morfologické změny na povrchu semen pomocí mikroskopických zobrazovacích metod a kvantifikovat barevné změny pomocí obrazové analýzy.

2.2. Hypotézy

Každý druh semen má jinou životaschopnost.

Životnost semen se mění s dobou setrvání v půdě, přičemž s prodlužujícím se setrváním v půdě se životnost snižuje.

Semena ze stejné čeledi mají podobnější průběh poklesu životnosti než semena nepříbuzná.

Semena v průběhu let strávených v půdě mění svůj vzhled – tvar a barvu. Semena, která byla v půdě delší dobu, jsou v průměru tmavší.

3. Literární rešerše

3.1. Půdní zásoba semen

Semena se po dozrání na mateřské rostlině zpravidla uvolňují a hromadí se na povrchu půdy. Pokud nevyklíčí hned nebo nejsou zničena predátory semen (mikroorganismy, střevlíkovitými brouky (Martinkova et al., 2006), hlodavci, ptáky (Jursík et al., 2011)), povětrnostními vlivy nebo následkem zpracování půdy semena vstupují do půdní zásoby (banky) semen. Půdní zásoba semen na mnoha zemědělských plochách obsahuje přes tisíce semen na jednom metru čtverečním (Egley, 1990; Kohout, 1997). Půdní zásoba semen se může výrazně měnit a je ovlivněna mnoha faktory: půdní strukturou a reakcí, mikrobiálním životem v půdě, systémem zemědělství a hnojení na dané ploše, plodinou a její předplodinou, geografickou polohou a mnoha dalšími faktory. V ekologickém zemědělství je zásoba semen na metr čtvereční o 21,6 % větší než v konvenčním zemědělství (Lacko-Bartosova et al., 2000). To je způsobeno minimalizovaným využitím chemických prostředků ochrany proti plevelům a s tím souvisejícími vyššími populačními hustotami a diverzitou plevelných druhů.

Půdní zásoba semen se pochopitelně nenachází jen na zemědělských plochách, ale i v ostatních ekosystémech. Spektrum semen se v těchto lokalitách velmi mění. Například v půdní zásobě v blízkosti vodních toků se častěji vyskytuje druh rdesno blešník (Araki and Washitani, 2000), kterému nevadí zatopení semen. V půdní zásobě mladých lesů se vyskytuje často kopřiva dvoudomá (Kurova, 2016) nebo kuklík městský (Plue et al., 2013), obě rostliny využívají odhalení půdy, kterou jsou schopny velmi rychle osídlit. Mezi nejvíce rozšířená plevelná semena v půdní zásobě semen polí patří semena rostlin z čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*), mezi které patří např. merlík bílý (*Chenopodium album* L.), jehož zastoupení v půdní zásobě semen může dosahovat až 50 % ze všech semen plevelů v půdě (Kohout, 1997). Mezi další velmi často zastoupená semena v půdní zásobě semen z čeledi laskavcovitých patří semena merlíku mnohosemenného (*Chenopodium polyspermum* L.) (Lacko-Bartosova et al., 2000) nebo merlíku sivého (*Chenopodium glaucum* L.) (Li et al., 2014). Nejen semena z čeledi laskavcovitých jsou perzistentní v půdní zásobě semen. Dalším druhem často se vyskytujícím v půdní zásobě semen polí je penízeck rolní (*Thlaspi arvense* L.) (Gesch et al., 2016), který patří do čeledi brukvovitých.

Půdní zásoba semen se dá rozdělit na dva typy: přechodnou a trvalou. V přechodné půdní zásobě semen jsou semena jen po jednu sezónu např. léto. Naproti tomu v trvalé půdní zásobě semen jsou semena po řadu let. Obě půdní zásoby semen dosahují určitého vrcholu, kdy z nich vyklíčí nejvíce semen (Thompson et al., 1997), v naší zeměpisné šířce je tomu především na jaře a na podzim. Semena zůstávající ukryta v půdní zásobě semen jsou problémem pro zemědělce. Tato semena jsou rozvrstvena po orničním profilu půdy a po vzejití konkurují hlavní plodině s vodou, živinami i světlem (Omami et al., 1999). Většina herbicidních přípravků zde nemůže mít 100 % účinnost, neboť ne všechna semena jsou dormantní a tak klíčí během různé doby (Egley, 1990).

3.2. Životnost a dlouhověkost semen

Dlouhověkost semen je u plevelných druhů velmi rozdílná a zpravidla delší než u kulturních plodin. Dle dlouhověkosti semen můžeme druhy rozdělit do tří skupin. Ty, které tvoří krátkodobou půdní zásobu (do 1 roku, např. podběl lékařský (*Tussilago farfara* L.), střednědobou půdní zásobu (do 5 let, např. pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale* auct. non Wigg)), dlouhodobou půdní zásobu (více než 5 let, např. konopice polní (*Galeopsis tetrahit* L.)) (Grime et al., 1990; Mikulka et al., 2005).

Životnost semen souvisí se senescencí (stárnutím) semen. Jedná se nevratný proces, který se projevuje snižováním efektivity fungování organismu. V organismu se začínají hromadit různé defekty. Tyto defekty nejsou již dobře opravovány a jsou často nahrazovány vadnými, nebo odumřelými buňkami. Před úplnou ztrátou životnosti dochází k deterioraci semene (zhoršení jeho stavu) (Jyoti and Malik, 2013). Přežívání těchto semen je však ovlivňováno mnoha faktory, které můžeme rozdělit na vnější a vnitřní.

Mezi vnitřní faktory ovlivňující dlouhověkost semen patří: genetický materiál mateřské rostliny (Mondoni et al., 2014), velikost semen – menší přežívají delší dobu (Thompson et al., 1993), fyziologické, metabolické, chemické a biochemické změny (Shelar, 2008); snížení dýchání, vyčerpání zásob živin, chemické změny zásob živin, poškození DNA, ztráty integrity buněčných membrán, ztráty funkčnosti organel, ztráty elasticity semene pokles enzymatické aktivity atd. (Jursík et al., 2011).

Mezi vnější faktory ovlivňující dlouhověkost semen řadíme: prostředí v daný rok (teplota, vlhkost, plyny) (Kremer, 1993; Mondoni et al., 2014), vliv půdy a půdního edafonu. Půda

značně ovlivňuje dlouhověkost semen. Na ulehých půdách, kde je nedostatek kyslíku, si semena uchovávají klíčivost i déle než 10 let, a to díky vyššímu obsahu CO₂. Naopak na půdách s dostatkem vody, živin a na biologicky aktivních půdách ztrácí klíčivost už během jednoho roku, zejména důsledkem intenzivního dýchání. Semena dříve spotřebují své zásobní látky, jsou vyčerpána a snáze je napadají aerobní mikroorganismy, které je rozkládají (Kohout, 1997). Dále snižuje dlouhověkost kultivace půdy - zlepšuje podmínky pro klíčení semen a snižuje životnost těchto semen (Cardina et al., 1991). Mezi nejčastější antagonisty semen patří bakterie, houby, roztoči, hmyz a hlodavci (Honek et al., 1999). Nejčastěji semena, která jsou v půdě, napadají houby rodu *Aspergillus* a *Penicillium* (Copeland and Mc Donald, 2001). Tyto houby produkují zároveň celou řadu mykotoxinů (Jyoti and Malik, 2013). Kromě poškození semen může dojít přímo k predaci semen, tedy zkonsumování celého semene např. střevlíkovití brouci, ptáci (Jursík et al., 2011; Martinkova et al., 2006).

Nelze říci, že dlouhověkost semen je ovlivněna zeměpisnou šířkou. Nebyla prokázána delší dlouhověkost semen v subarktických oblastech oproti teplejším oblastem (Conn et al., 2006).

3.3. Klíčivost

Semena plevelných rostlin nemají na rozdíl od kulturních rostlin takovou klíčivost. Kulturní rostliny díky dlouhodobému šlechtění tuto schopnost mají. Z plevelných druhů mají vysokou klíčivost ihned po dozrání například pampeliška lékařská nebo podběl obecný (Kohout, 1997). Většina plevelných druhů má však klíčivost nepravidelnou a u většiny z nich se vyskytuje určité období klidu tzv. dormance, stav kdy semena nejsou schopná vyklíčit.

Některé druhy mají etapovou klíčivost. Jedná se o proces, kdy vyklíčí vždy jen určitý počet semen, který je schopný přežít, zbytek přečkává dál v půdní zásobě semen (např. penízek rolní, merlík bílý). Příčiny neklíčivosti nejsou stále osvětleny, je zřejmé, že se na nich podílejí jak vlivy vnější, tak vnitřní. Mezi vnější vlivy zařazujeme vodu, vzduch, světlo, teplo, obsah živin a půdní reakci. Mezi vnitřní vlivy, které ovlivňují klíčení, řadíme stupně vyzrálости semene, obsah zásobních látek, anatomickou stavbu semene, propustnost oplodí a osemení pro vodu a plyny; činnost enzymů a inhibitorů, a mnoho dalších fyziologických příčin (Kohout, 1997).

3.4. Klíčení semen

Klíčením se rozumí obnovení metabolické aktivity semen, které vede k prodloužení buněk radikuly a hypokotylu embrya. Nedormantním semenům postačí nabobtnání semen ve vodě, jsou-li při tom splněny vnější podmínky (světlo, vzduch, teplota). Na klíčení má také vliv efektivita odstraňování konečných procesů anaerobních procesů (především ethanolu) (Jursík et al., 2011). Dormantní semena se musí zbavit faktorů, které semeno udržují v dormanci (inhibiční látky, semenný obal atd.). K vlastnímu klíčení dochází prasknutím obalů embrya – koleoptyle, koleorhizy a následným růstem radikuly (Procházka a Šebánek, 1997). Proces klíčení semen může být dále ovlivněn faktory jako je orientace semena v půdě, velikost semene, semennými obaly a jejich propustností pro vodu a plyny, mikroflórou semene, fyzikálními a agrotechnickými podmínkami prostředí (Bláha a Hnilička, 2006).

3.5. Dormance semen

Dormanci semen se nazývá klidové stádium, kdy mají semena nižší metabolickou aktivitu (ztrácejí minimum energie), zůstávají živá, ale přesto neklíčí. Semena do fáze dormance vstupují již na mateřské rostlině. Díky dormanci je semeno schopné překonat nevhodné vlivy prostředí, jako je sucho, chlad, vysoké teploty a nedostatku světla (Begon et al., 1997). Zároveň semena, která jsou v dormanci, nejsou schopná vyklíčit ani při vhodných podmínkách. Tato semena musí projít určitými vnějšími podmínkami, aby mohla začít klíčit např. nízké teploty, namočení ve vodě. Dále dochází k vnitřním změnám v semeni. K těm dochází díky procesu tzv. stratifikace (odbourávání inhibitorů klíčení a dochází k růstu hladiny giberelinů a brasinosteroidů) (Procházka and Šebánek, 1997). Díky dormanci rostlina snižuje riziko neúspěšnosti rozmnožování a dalšího vývoje populace. Dormance se rozděluje do dvou typů – primární (tzv. vrozená) a sekundární (tzv. vyvolaná).

Primární dormanci mají rostliny, které neklíčí ihned po dozrání. Primární dormance je velmi častá u druhů, které klíčí jen po určité krátkou dobu sezóny. Dormance zaručuje, aby semena nevyklíčila za nevhodných podmínek. Aby semena mohla opustit primární dormanci, musí být často vystavena nějakým konkrétním podmínkám, které se pro každý druh liší (např. přítomnost vody, nízké teploty, přítomnost světla, fotoperiody nebo vhodné rovnováhy mezi krátkovlnným a dlouhovlnným červeným zářením) (Mikulka et al., 2005).

Sekundární dormance se vyskytuje u semen, které již ukončila primární dormanci nebo ji nikdy neměla. Tato dormance může být vnucená nebo indukovaná. Do sekundární vnucené

dormance se dostává semeno při nevhodných vnějších podmínkách. V sekundární indukované dormanci je semeno, které bylo původně v sekundární vnučené dormanci a nyní potřebuje nějaký nový nebo další impuls k začátku klíčení. Tento typ dormance je zodpovědný za nahromadění velkého počtu semen v půdě, kde tvoří tzv. půdní zásobu semen (Harper, 1977).

Obecně platí, že delší dormance semen se vyskytuje u plevelných rostlin, které jsou jednoleté, nepřezimující, klíčící a vzházející časně na jaře. Rostliny z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) nemají dormanci, naproti tomu semena z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) mají semena s velmi dlouhou dormancí. Semena z jedné čeledi mají podobnou dormanci semen (stejnou délku), ale není tomu vždycky tak (Kohout, 1997). V jiných pokusech bylo zjištěno, že cykly dormance dědí rostlina po své mateřské rostlině. Je tedy možné, aby dvě rostliny stejného druhu měly odlišné cykly dormance. Zároveň bylo zjištěno, že semena stejného druhu, mají různou klíčivost. Zároveň se ukázalo, že se cykly dormance mění i v závislosti na jednotlivých rocích. Tedy semena, která dozrála předchozího roku, nemusí mít stejné cykly dormance, jako letošní (Andersson and Milberg, 1998). Je důležité si uvědomit, že hranice mezi dormancemi není vymežitelná (Mikulka et al., 2005).

3.6. Vliv fytohormonů a sekundárních metabolitů v semenech

Fytohormony vyskytující se v semenech můžeme rozdělit na inhibitory růstu (kyselina abscisová – ABA) a na stimulatory růstu (auxiny, gibereliny, cytokininy). Zvláštním hormonem je etylén, který má smíšené účinky. ABA je jeden z hlavních řídicích faktorů inhibice klíčení (Houba et al., 2002). Kromě kyseliny abscisové způsobuje dormanci semen i kyselina jasmonová, deriváty kyseliny benzoové, deriváty kyseliny skořicové a kumarinu (Procházka a Šebánek, 1997). Kromě klíčení je zároveň fytohormony ovlivňována i životaschopnost, při její ztrátě dochází ke zvyšování obsahu kyseliny abscisové a zároveň se snižuje obsah volných fytohormonů (auxinů, giberelínů) (Procházka, 1998).

Mnoho plevelných semen obsahuje sekundární metabolity (fenoly, alkaloidy), které jim pomáhají se chránit před poškozením životaschopnosti (Davis et al., 2008).

3.7. Metody studia půdní zásoby semen

Detekce semen v půdní zásobě semen je poněkud obtížná. Musí se odebrat jednotlivé vzorky půdy. Odebírá se určitý objem zeminy. Zároveň se nesmí zapomenout odebírat z různých hloubek půdy (Thompson et al., 1997). A však největší množství životaschopných semen se

nachází do hloubky 30 cm orniční vrstvy (Davis et al., 2008). Nejjednodušší metodou detekce semen je vyklíčení semen přímo ze zeminy. Vzorek zeminy se převezde do skleníku, kde se nechají jednotlivé druhy semen vyklíčit a tím zjistíme zastoupení semen. Tato metoda však není schopná detekovat dormantní semena. Mnohem přesnější metoda je vyplavující metoda, kdy se vzorek zeminy přeseje přes síta o různé velikosti ok a následně se semena vyplavují. Ta se následně nechají vyklíčit na filtračním papíře v klimatickém boxu a ta, která nevyklíčí, se mohou ještě detekovat pomocí tetrazoliového testu nebo preparací embrya. Další metodou je flotační metoda, kdy se semena oddělí od zeminy pomocí přidání soli (Thompson et al., 1997).

3.8. Testování životaschopnosti semen

Životaschopnost semen se dá testovat mnoha metodami. Nejčastěji se testuje pomocí jejich klíčivosti v květináčových pokusech ve skleníku nebo na filtračním papíru v Petriho miskách v klimatickém boxu. Zde se simulují podmínky, které by měly být nejbližší podmínkám v přírodě (Mendoza-Urbina et al., 2012). Tyto podmínky by však v přírodě nikdy nenastaly, neboť jsou příliš vhodné, nedochází při nich k vodnímu stresu nebo nedostatku světla. Po vyklíčení semen spočítáme klíčivost, která se uvádí v procentech (Jursík et al., 2011).

Další možností jak testovat životaschopnost semen je pomocí tzv. Tetrazoliového testu (TZ test), na semena se aplikuje 2, 3, 5 - triphenyl tetrazolium chlorid (TTC), který se v živých buňkách změní na tetrazoliovou sůl a živé buňky zčervenají (Potyšová, 2014). Velkou nevýhodou této metody je, že není vhodná pro aplikaci na semena plevelů, která jsou menší, a jejich embryo je malé. Dále se při této metodě musí přistupovat ke každému druhu semen jinak, protože každý druh semene může na TTC reagovat jinak. Tato metoda má velkou výhodu. Na rozdíl od metody klíčení semen je schopná detekovat i živá semena, která jsou v dormanci, ale nelze zjistit, zda jsou semena v daném okamžiku ve fázi dormance nebo ne. Tento test je rychlý, výsledky jsou ještě ten den.

Metodou blízkou tetrazoliovému testu jsou metody pomocí ostatních barviv jako je kyselina sírová, indigokarmín nebo anilín. I zde dojde k barevné změně, kdy se mrtvá část semene obarví do modra. Oproti TZ testu zůstane živá část semena neobarvená (Jyoti and Malik, 2013). Tyto metody se nejvíce používají pro zjišťování životaschopnosti semen stromů.

Životaschopnost semen se také dá otestovat pomocí tzv. crush testu (tlakový test). V této metodě jsou semena podrobena tlaku, který je na ně vyvíjen pinzetou nebo podložním sklíčkem. Semena, která jsou neživá, se rozmáčknou pomocí velmi malého tlaku. Za neživá jsou také prohlášena ta, která jsou kolonizována houbou, zatím co semena, která jsou živá, potřebují pro své rozmáčknutí mnohem větší tlak. Po rozmáčknutí semen je dále vidět, že mrtvá semena jsou prázdná, bez embrya nebo jsou nějak poškozená (např. hmyzem) (Borza et al., 2007).

Další metodou k zjištění životnosti semen je test pomocí elektrické vodivosti semen. Pokud semeno degraduje, dostává se do něho stále více vody. Semena s horší životaschopností vedou lépe elektrický proud než semena živá a zdravá (Jyoti and Malik, 2013). Existuje ještě řada dalších metod pro zjišťování životnosti semen. Mezi ně patří testování pomocí volných mastných kyselin, peroxidu vodíku, chloridu železitého, chlomanu sodného, rentgenových paprsků. Dále se pak využívají testy, kdy se vyjme pouze embryo semene, a zkouší se pouze jeho životnost (Copeland and Mc Donald, 2001). A však tyto testy se pro svoji nepraktičnost a složitost příliš nepoužívají.

Při testování životaschopnosti a dlouhověkosti semen se nejčastěji semena zakopávají do země v různých nádobách (košíky, plastové boxy, skleněné rourky, sklenice otočené dnem vzhůru apod.). Tyto nádoby však semena často ochraňují proti přirozeným podmínkám. Dnes se používají především silonové obálky, které nechrání semeno tolik před vnějšími vlivy (Thompson et al., 1997). Dále bylo zjištěno, že je vhodné semena promíchat s prosetou sterilní půdou, neboť pak nedochází k tak rychlé ztrátě životnosti semen z důvodu napadení patogeny (Van Mourik et al., 2005). Další možností při zjišťování životaschopnosti semen je odebrání půdy z pozemku, o kterém jsou známy informace, např. víme, jak dlouho se na pozemku nemanipulovalo s půdou (Thompson et al., 1997). Jinou možností je vysít semena do půdy, nechat se tam po určitou dobu a pak je získat zpět proplavovací metodou (Lutman et al., 2002). Tato metoda je vhodná pro květináčové pokusy ve sklenících, kdy si můžeme být jisti, že nám k testovaným semenům nedostanou jiná semena. A však netestuje se životnost semen jen z půdních podmínek, ale mnoho pokusů bylo provedeno se semeny z herbářových, muzejních a jiných sbírek. Mnohdy jsou také testována semena, která se objeví v historických stavbách nebo pod nimi.

3.9. Obrazová analýza

Základem každé obrazové analýzy je zkoumaný vzorek, digitalizační zařízení a počítač, který je vybavený vhodným softwarem pro obrazovou analýzu. Vzorek se vloží do digitalizačního zařízení, které jej přetransformuje na jednotlivé pixely a následně jej můžeme diagnostikovat. Nejdůležitějším krokem celé analýzy je segmentace, kdy se vyberou cíle zkoumání. Pak již může dojít k měření či stanování morfologických nebo denzitometrických vlastností (např. plocha, obvod, délka, intenzita zvolené barevné složky). Základní postup obrazové analýzy je digitalizace, zpracování, segmentace, binární transformace, měření, interpretace výsledků a statistická analýza (Lukáš et al., 2008).

4. Materiál a metody

4.1. Studované druhy semen

Druhy semen pro tuto studii byly vybrány vzhledem k zajištění morfologické různorodosti a zastoupení různých systematických skupin. Dalším faktorem byla dostupnost semen, protože v roce sběru semen bylo potřebné odebrat velké množství semen daného druhu. Zároveň semena byla vybírána podle preference střevlíkovitými brouky, neboť stejná sada byla použita pro pokus, ve kterém se sledovala predace těchto semen v závislosti na věku.

Laskavec zelenoklasý (*Amaranthus powellii* S. Watson) je jednoletá rostlina, která dorůstá 20 – 100 cm. Patří do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Jeho listy jsou dlouze řapíkaté. Květenství laskavce zelenoklasého je dlouhé, štíhlé a zelené. Okvětní lístky jsou úzce kopinaté, k vrcholu se nezužují. Plodem je tobolka. Pochází z Ameriky. Nejčastěji se vyskytuje na rumišťích, v okopaninách a okolí lidských sídel (Dostál, 1989b). Jedna rostlina laskavce zelenoklasého je schopná vyprodukovat až 42 000 semen. Semena jsou životaschopná i po průchodu trávicím traktem živočichů (Costea et al., 2004).

Laskavec ohnutý (*Amaranthus retroflexus* L.) je jednoletá rostlina pocházející z čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Lodyha má bledě zelenou někdy i načervenalou barvu, dorůstá do výšky 15 až 100 cm. Lodyha je krátce plstěná. Listy jsou dlouhé řapíkaté nebo věčité (na kraji zvlněné). Horní listy jsou pýřité. Květy jsou v klubičkách, vytvářejí zelenavý až žlutavý hustý lichoklas. Někdy mohou být květy bělavé, načervenalé či nazelenalé. Laskavec ohnutý pochází ze Severní Ameriky. Dnes je jeden z kosmopolitních druhů, který byl zavlečen na mnoho stanovišť (nížiny až pahorkatiny) (Dostál, 1989b). Semena laskavce ohnutého jsou schopná přežít kompostování spojené s vyšší teplotou cca 60°C pouze v 3, 5 % (Tompkins et al., 1998).

Lebeda lesklá (*Atriplex sagittata* L.) je mohutná bylina s 1 - 2 metry vysokou lodyhou, která je větvená. Patří do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Listy mají tmavě zelenou barvu a jsou lesklé. Listy jsou trojúhelníkového tvaru a na spodní straně jsou výrazně pomoučněné. Květenstvím jsou dvoukvětá klubička. Květy jsou většinou jednopohlavné. Plody jsou nažky v krovkách, které jsou různotvaré a z obou stran zploštělé (Hroudá a Skalický, 2003). Semena jsou dvojího typu - černohnědá nebo hnědá. Černá semena mají dormanci, která se nedá přerušit ani osmi týdenní chladovou stratifikací na rozdíl od hnědých, které mají vyšší

klíčivost. Hnědá semena nejsou dormantní (Wang et al., 2012). Hnědá semena lebeda lesklá produkuje na začátku vegetace (Yang et al., 2015). Váha jednotlivých typů semen se různí a zároveň je váha semen ovlivňována větví, na které semena vyrostla, čím je delší tím jsou semena těžší (Mandak and Pysek, 1999). Nejčastěji je můžeme nalézt na skládkách, staveništích, kompostech nebo v silážních jámách (Hrouda a Skalický, 2003). Životnost semen je ovlivněna i solí v půdě. Při přítomnosti solí jsou schopná vyklíčit i semena 8 let stará (Mandak and Holmanova, 2004).

Zvonek kopřivolistý (*Campanula trachelium* L.) je víceletá rostlina, která je řídce srstnatě chlupatá. Řadí se do čeledi zvonkovitých (*Campanulaceae*). Lodyha je přímá, velká 30 – 100 cm. Lodyha je většinou nevětvená, ostře hranatá. Listy jsou drsně chlupaté, bledě zelené, srdčité vejčité. Květy se skládají ve všestranný hrozen. Květy jsou nálevkově zvonkovité 3 – 5 cm velké. Jasně modré nebo modrofialové barvy. Plody jsou tobolky. Nad bází tobolky jsou 3 otvory pro semena. Nejčastěji se nachází ve světlých lesích, křovinách a na kamenitých stráních (Dostál, 1989a).

Kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.) je jednoletá nebo dvouletá rostlina, která je vysoká 20 – 40 cm. Řadí se do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Lodyha je jednoduchá zřídka větvená, přímá a jemně rýhovaná. Na spodní části lodyhy jsou roztroušené chlupy. Listy vytváří jednu přízemní růžici. Listy jsou ouškovitě přisedlé. Květy tvoří hrozen, který má bílou barvu. Plody jsou tříúhelné 4 x 9 mm velké tobolky. Jedná se o druhotně kosmopolitní rostlinu nacházející se na úhorech, pastvinách, cestách, polích, rumištích nížin i hor (Dostál, 1989a). Semena váží 0,11 mg. Často je nazývána jako jeden z celosvětově nejhorších plevelů. Rostlina je schopná vyprodukovat semena již za 6 týdnů, do roka zvládne vyprodukovat 3 generace semen. Jedna rostlina kokošky zvládne vyprodukovat až 17 000 semen, ale velmi záleží na podmínkách prostředí. Stresovaná rostlina zvládne vyprodukovat pouze 50 životaschopných semen. Na povrchu mají semena sliz, díky kterému se mohou přilepit na obuv nebo na zemědělské stroje. Semena jsou schopná přežít průchod přes trávicí soustavu živočichů (Grime et al., 1990). Velký význam na klíčení kokošky pastuší tobolky hraje zasolení prostředí, v kterém se semeno nachází, pokud je půda zasolená, dochází k mnohem menší klíčivosti semen (Rezvani et al., 2014).

Škarda dvouletá (*Crepis biennis* L.) je dvouletá rostlina s přímou lodyhou, která je 30 - 120 cm vysoká. Patří do čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Lodyha škardy dvouleté je hranatá,

řídce listnatá, na spodní části načervenalá. V horní polovině je lodyha vrcholičnatě větvená. Listy, které jsou v přízemní družici, jsou obvejčité až obkopinaté. Úbory se nacházejí ve vrcholíku, který je 25 – 35 mm velký. Plodem jsou nažky 4 – 7 mm velké, 10 – 20žebnaté s chmýřím sněhobílé barvy. Nachází se na travnatých okrajích komunikací, loukách, úhorech a ve světlých křovinách (Dostál, 1989b).

Kuklík městský (*Geum urbanum* L.) je vytrvalá rostlina patřící do čeledi růžovitých (*Rosaceae*). Lodyha je 20 - 60 cm vysoká, větvená, přímá a chlupatá. Přízemní listy jsou přetrhovaně lichozpeřené s 1 - 5 jařmy. Termální lístek je 2 - 10 cm velký, široce vejčitý, na bázi klínovitý. Květy se spojují ve vrcholík 10 - 15 mm velký, nepravidelný, dlouze stopkatý. Korunní plátky jsou 4 mm velké, ověnčené a žluté. Plodem jsou nažky 50 – 70 mm velké, chlupaté, dolní část přívěsku je lysá 3 - 4x větší než horní část. Na bázi jsou nežláznaté trichomy. Nejčastěji se nachází na lesních cestách, rumištích a v křovinách (Dostál, 1989a). Semena kuklíku městského váží 0,73 mg. Semena nejúspěšněji vyklíčí na obnažené půdě, která je zastíněná. Rostlina je schopná vyprodukovat více než 1 000 semen, většina z nich se dostane do půdní zásoby semen (Grime et al., 1990). Semena kuklíku městského jsou velmi často zastoupená v půdní zásobě semen lesů (Plue et al., 2013). Semena kuklíku městského lépe klíčí v mladých lesech, které jsou cca 10 let staré a před tím byly zemědělsky obhospodařované, než v lesích, které jsou starší 10 a více let (Baeten et al., 2010).

Blín černý (*Hyoscyamus niger* L.) je dvouletá rostlina, která je žláznatě vlnitá. Řadí se do čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Lodyha je přímá, 20 – 100 cm vysoká. Přízemní listy jsou dlouze řapíkaté nebo vejčité. Květenství je přisedlé, vytváří vijany. Květ je bledě žlutý s fialovou žilnatinou. Plodem jsou tobolky vejčitého tvaru s víčkem. Semena jsou černohnědá. Celá rostlina je jedovatá. Nachází se na rumištích, úhorech a pustých místech (Dostál, 1989a). Semena tohoto druhu lépe klíčí, pokud jsou namočena alespoň po dobu 24 hodin ve vodě a při teplotě alespoň 25 °C (Verma et al., 2014). Semenné obaly blínu černého jsou tvrdé a málo propustné pro vodu a plyny. Semena ztrácejí inhibitory klíčení během let, dochází ke stratifikaci semene nejčastěji mechanickou, ale může být provedena i chemickými látkami (Cirak et al., 2004).

Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum* L.) je statná vytrvalá bylina mající bohatě větvený kořenový systém. Řadí se do čeledi třezalkovitých (*Hypericaceae*). Lodyhy jsou přímé zřídka poléhavé. V horní polovině jsou lodyhy kvetoucí. Listy jsou přisedlé,

podlouhlé či vejčité. Květenství je volné a bohaté. Květy mají zlatožlutou barvu a jsou dlouze zašpičatělé. Plodem jsou tobolky, v kterých se ukrývají hnědé až černé semena 1 – 1,2 mm dlouhé. Vyskytuje se na sušších loukách, světlých lesích, na skalách a okrajích cest. Od starověku je používána jako léčivá rostlina (Hrouda a Skalický, 2003). Semena váží 0,1 mg. Jedna rostlina je schopná vyprodukovat až 30 000 semen (Grime et al., 1990).

Merlík bílý (*Chenopodium album* L.) je bylina v průměru 10 – 70 cm vysoká, může dorůstat výšky i 150 cm. Má světle zelenou až žlutavou barvu, místy je jakoby pomoučněná. Patří do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Lodyha bývá chudě větvená, rýhovaná s malými postranními větvemi. Listy jsou střídavé řapíkaté, kosočtverečně kopinaté nebo vejčité. Vrchol listu bývá většinou zašpičatělý. Květenstvím je lichoklas až licholata. Plodem bývají okrouhlé až věnčité nažky. Tato rostlina patří mezi nejhorší plevely. Roste na minerálních i organických půdách bez specifických nároků na těžkost půdy nebo pH. Vyskytuje se nejen v okopaninách, ale i v obilninách (Hrouda a Skalický, 2003). Semena váží 1,5 mg. Semena jsou nejčastěji šířena osivem, savci a ptáky. Rostlina podle doby produkuje dva typy semen - dlouhodobní (malá, černá, dormantní) nebo krátkodobní (hnědá, nedormantní) (Grime et al., 1990b). Tento plevel je nejrozšířenějším plevem v půdní zásobě semen (v zastoupení i přes 50 % všech semen půdní zásoby) (Kohout, 1997).

Merlík sivý (*Chenopodium glaucum* L.) je jednoletá načervenalá bylina. Patří do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Lodyha je plazivá, větvená, vystoupavá až vzpřímená 20 – 30 cm, ale i 120 cm vysoká. Listy jsou střídavé, řapíkaté, tmavě zelené nebo s červeným nádechem. Rub listu je šedobílý, jakoby pomoučněný. Květenství je vrcholičnaté, dvojího typu – složené nebo s krátkými vrcholíky. Plodem je nažka v obrysu okrouhlá, zploštělá, velká 0,5 až 0,8 mm. Vyskytuje se na primárně obnažených půdách, skaliskách, druhotných skladištích mrvy, v blízkosti jímek a hnojišť, na rumištích, skládkách, v příkopech a na nádražích. V zemědělských oblastech na zasolených a na silně hnojených půdách (Hrouda a Skalický, 2003). Semena merlíku sivého jsou jedna z mnoha semen, které se nachází v půdní zásobě semen (Li et al., 2014). Semena merlíku sivého jsou zároveň transportována vodními toky, jejich klíčivost se výrazně nemění ani po setrvání ve vodě (Wisskirchen, 2006).

Merlík mnohosemenný (*Chenopodium polyspermum* L.) je jednoletá, lysá, načervenalá bylina vysoká 30 až 60 cm. Řadí se do čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*). Lodyha bývá vzpřímená nebo poléhavá. Listy jsou řapíkaté, střídavé nejčastěji žluto zelené. Květenstvím je

licholata vidlanů nebo lichoklasů, která jsou plná květních klubíček. Květy jsou oboupohlavné. Plodem je žlutohnědá nebo červenohnědá, lesklá nažka, v obrysu okrouhlá velká přibližně 1 mm. Tento plevel se vyskytuje na všech zemědělských pozemcích i březích vod (Hrouda a Skalický, 2003). Rostliny merlíku mnohosemenného produkují semena podle toho, v jaké době semena vyrostla. Krátkodenní mateřské rostliny produkují semena s vysokou klíčivostí, která mají tenký semenný obal. Oproti tomu semena z dlouhodobých mateřských rostlin mají tlustší semenný obal a nižší klíčivost (Pourrat and Jacques, 1975).

Levandule lékařská (*Lavandula angustifolia* Mill.) je polokeř, který je plstnatý a silně aromatický. Řadí se do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Stonek má přímý dřevnatý. Listy jsou přisedlé čárkovité, kožovité s rubu běloplstnaté. Květy jsou bledě modré barvy v 2 – 8 cm dlouhých lichohroznech. Plodem je lesklá tvrdka. Původem rostlina ze Středomoří, kdysi se hojně vyskytovala na zahradách (Dostál, 1989a). Rostliny levandule lékařské mají inhibiční vliv na klíčení ostatních plevelů (Uremis et al., 2009).

Srdečník obecný (*Leonurus cardiaca* L.) je víceletá, bohatě větvená rostlina, která dorůstá do výšky 30 - 200 cm. Řadí se do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Listy jsou dlanitě laločnaté. Květenství je přisedlé. Květy mají bílou až bledě růžovou barvu. Plodem jsou tříhranné tvrdky, lesklé nahoře chlupaté. Nachází se na suchých loukách, pastvinách a mezích (Dostál, 1989a).

Karabinec evropský (*Lycopus europaeus* L.) je víceletá statná rostlina s plazivým oddenkem. Řadí se do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Lodyha je přímá 20 – 120 cm vysoká. Listy jsou vejčité kopinaté až eliptické. Nad bází jsou listy peřeno - laločnaté. Květy mají bílou až nachově skvrnitou barvu. Nachází se na březích vodních toků, v lužních lesích, příkopech a na obnažených dnech rybníků (Dostál, 1989a).

Jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata* L.) je víceletá rostlina s krátkým oddenkem, která je 10 - 30 cm vysoká. Patří do čeledi jitrocelovitých (*Plantaginaceae*). Listy jsou kopinaté 2 x 3,5 cm velké. Listy jsou celokrajné a žilnaté. Plodem je tobolka 3 - 4 cm velká, obsahující dvě semena, které jsou 2 mm velká a jsou miskovitá. Nachází se v tvárnících, na loukách i pastvinách (Dostál, 1989b). Semena jitrocele kopinatého v průměru váží 1,9 mg. Vyžralá semena mohou zůstat na rostlině a odpadnout z ní později, nebo se rozšířit okamžitě. Semena mohou být přenášena v trávicím traktu živočichů, kde neztrácejí svou životaschopnost. Semena mají za vlhka na svém povrchu slizovou vrstvu, kterým se mohou přilepit k povrchu

těl živočichů a lépe se transportovat na nová stanoviště (Grime et al., 1990). Semena tohoto plevelu se nacházejí hojně v půdní zásobě semen (Kohout, 1997).

Jitrocel větší (*Plantago major* L.) je víceletá rostlina s jednou nebo více růžicemi. Patří do čeledi jitrocelovitých (*Plantaginaceae*). Listy jsou při zemi přisedlé okrouhle vejčité až eliptické. Plodem jsou tobolky velké 2 - 4 mm, které ukrývají 6 - 11 semen. Nachází se na pastvinách, loukách, cestách a mezích (Dostál, 1989b). Semena této rostliny váží 0,24 mg. Na jedné rostlině může vyrůst přes 14 000 semen. Za normálních podmínek rostlina zvládne vyprodukovat životaschopná semena za 6 týdnů. Rostlina se také může rozmnožovat pomocí postranních pupenů a tvořit vedle sebe další rozety. Semena mají na povrchu za vlhkých podmínek slizovou vrstvu. Semena přes zimu zůstávají na mateřské rostlině, odkud se rozšiřují nejčastěji antropogenně (Grime et al., 1990).

Jitrocel prostřední (*Plantago media* L.) je víceletá rostlina s jednou nebo více růžicemi patřící do čeledi jitrocelovitých (*Plantaginaceae*). Listy jsou široce eliptické až vejčité. Mají 5 - 9 žilek. Plodem jsou tobolky 3 - 4 mm velké, v kterých ukrývají 2 - 4 semena. Semena jsou 2 mm dlouhá a mají miskovitý tvar. Nachází se na loukách, pastvinách nebo cestách (Dostál, 1989b).

Rdesno blešník (*Polygonum lapathifolia* (L.) Delarbre) je jednoletá bylina vysoká 20 - 80 cm většinou větvená, málokdy jednoduchá. Patří do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*). Jsou na ni nápadné uzliny, které jsou povětšinou tmavě chlupaté až načervenalé. Listy jsou vejčité až kopinaté. Květenství je přímý lichoklas až 8 cm velký. Okvěti je bílé až růžové barvy. Plodem jsou čočkovité nažky, oboustranně zmáčkuté. V Čechách se často vyskytuje jako plevel v okopaninách na vlhčích pozemcích (Hrouda a Skalický, 2003). Klíčivost karbince evropského je závislá na teplotě a světlu. Klíčení začíná při překročení teploty 7 °C. Pro klíčení je jedno, zda jsou krátké světlé přestávky v opakovaných intervalech nebo osvětlení po delší dobu (Thompson, 1969). Semena karbince evropského bývají přenášena vodními toky, ponoření ve vodě a vyvržení na břeh nemá vliv na jejich klíčivost (Vogt et al., 2006).

Šrucha zelná (*Portulaca oleracea* L.) je jednoletá bylina s obvykle 10 - 40 cm dlouhými lodyhami. Řadící se do čeledi šruchovitých (*Portulacaceae*). Listy této rostliny jsou obvejčité na bázi klínovité. Květy jsou termální nebo úžlabní. Plodem je tobolka. Semena jsou bradavičnatá 0,9 mm dlouhá. Vyskytuje se na suchých a slunných stanovištích. Na lehčích a výživnějších půdách. Můžeme ji nalézt v nížinách i v pahorkatinách (Hrouda a Skalický,

2003). Jedna rostlina šruchy zelné je schopná vyprodukovat až 10 000 semen. Semena jsou široká 0,5 mm a díky tomu jsou transportována na velkou vzdálenost. Tato rostlina nejlépe klíčí při vyšších teplotách, proto se na polích vyskytuje od začátku dubna, její nejvyšší populační hustota je v srpnu. Život této rostliny končí s příchodem prvních mrazů (Feng et al., 2015). Šrucha zelná je tolerantní k zasolení a její semena jsou schopná vyklíčit i v zasolených půdách (Alam et al., 2014). Klíčení šruchy zelné je silně ovlivňováno extrakty rostlin v jejím okolí (Dadkhah, 2013). V pokusech bylo zjištěno, že časnost klíčení šruchy zelné není ovlivnitelná vnějšími podmínkami, ale pouze genotypem dané rostliny (Fernandez et al., 2008).

Silenka noční (*Silene noctiflora* L.) může být jednoletá nebo dvouletá bylina dorůstající 10 – 30 cm. Patří do čeledi hvozdíkovitých (*Caryophyllaceae*). Lodyha této rostliny je pýřitá až srstnatá a na horní části lepkavá. Přízemní i lodyžní listy jsou obkopynaté. Květenstvím silenek je vidlan s oboupohlavními květy. Korunní lístky jsou bílé až narůžovělé. Plodem jsou šestizubé tobolky. V nichž se ukrývají ledvinovitá semena. Osemení je hrbolkovité až bradavičnaté. V ČR ji nejčastěji najdeme v nížinách. Nejčastěji se vyskytuje jako plevel v ozimých plodinách, ale i na zahradách či úhorech (Hrouda a Skalický, 2003).

Silenka nadmutá (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke) je bylina 30 – 60 cm vysoká s přímou nebo poléhavou lodyhou. Patří do čeledi hvozdíkovitých (*Caryophyllaceae*). Dolní lodyžní listy jsou obkopynaté, horní listy jsou podlouhlé, eliptické nebo kopinaté. Květenstvím jsou většinou vícekvěte vidlany. Barva květu je bílá nebo nařevovělá. Plodem jsou vejcovitě kulaté tobolky. Semena jsou ledvinovitá 1 – 1,3 mm velká s šedohnědým osemením. Nachází se na kamenitých místech, okrajích cest a železnic, na hrázích rybníků (Hrouda a Skalický, 2003). Semena silenky nadmuté se liší svou dlouhověkostí podle prostředí. Semena z vyšších nadmořských výšek mají větší dlouhověkost (Mondoni et al., 2014). Silenka nadmutá může klíčit i v prostředí, které je velmi narušené a je v něm vysoká koncentrace těžkých kovů (Bringezu et al., 1999).

Penízek rolní (*Thlaspi arvense* L.) je jednoletá až dvouletá lysá rostlina. Řadí se do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Lodyhy této rostliny jsou listnaté. Listy mají modrozelenou barvu, lodyžní listy jsou objímavé. Květenstvím jsou hrozny. Plodem jsou šešulky kolmo přisedlé k přehradce. Šešulky jsou smáčknuté, velké 10 - 18 mm. Šešulky jsou křídlaté. Pouzdra jsou 4 – 6semenná. Semena jsou obloukovitě svrasklá. Nachází se na polích,

úhorech, rumištích a cestách (Dostál, 1989b). Semena penízku rolního nejsou schopná přežít kompostování spojené s vyšší teplotou cca 60 °C (Tompkins et al., 1998).

Heřmánkovec nevonný (*Tripleurospermum inodorum* (L.) Schultz-Bip.) je jednoletá rostlina 30 - 80 cm vysoká. Řadí se do čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*). Listy jsou nepravidelně dvou až tří peřenosečné. Květenství je chocholík s 10 až 50 úbory. Květenství je velké 30 – 45 mm. Plodem jsou nažky, které jsou 2 mm velké. Na vnitřní straně jsou třížebré a na vnější straně svrasklé s nízkou korunkou. Nachází se na obdělávaných i neobdělávaných půdách (Dostál, 1989b). Semena jsou těžká 0,29 mg. Nejčastěji se přenášejí pomocí člověka (pomocí osiva trav) a jinými přenašeči (ptáky) v trávicím traktu se nerozkládají. Semena prokazují lehkou vrozenou dormanci. Z půdní zásoby semen nejčastěji klíčí na jaře a na podzim. Semena dozrávají postupně a to v období od července do září (Grime et al., 1990). Semena heřmánkovce nevonného nejsou schopná přežít kompostování (Tompkins et al., 1998).

Kopřiva žahavka (*Urtica urens* L.) je jednoletá rostlina 30 až 60 cm vysoká. Tato bylina je jednodomá. Řadí se do čeledi kopřivovitých (*Urticaceae*). Listy jsou dlouze řapíkaté, vejčitého tvaru a hrubě pilovaté. Květenství jsou 15 – 20 mm velká a vzpřímená. Tento druh je druhotně kosmopolitní rostlinou. Je plevelem na zahradách nebo rumištích (Dostál, 1989b). Kopřiva žahavka se na rozdíl od kopřivy dvoudomé rozmnožuje hlavně semeny. Semena váží 0,5 mg. Semena klíčí na jaře. Semena pravděpodobně přežijí průchod trávicím traktem živočichů a jsou jimi roznášena (Grime et al., 1990).

Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica* L.) je víceletá bylina, která je vysoká 30 – 150 cm. Rozmnožuje se nejčastěji pomocí oddenků. Řadí do čeledi kopřivovitých (*Urticaceae*). Listy jsou dlouze řapíkaté, kopinaté a vejčité. Květenství je jednopohlavné, delší než řapík podpůrného listu. Samičí plodenství jsou visutá šedozelené barvy. Plodem jsou přibližně 1 mm velké nažky, které mají matnou barvu (Dostál, 1989b). Semena váží 0,19 mg a jsou roznášena zvířaty. Jsou schopná přežít průchod trávicím ústrojím zvířat. Avšak tato rostlina se častěji rozmnožuje vegetativně, než generativně (Grime et al., 1990). Semena se vyskytují poměrně málo a to z důvodu poměrně složitého opylení, převládá zde vegetativní rozmnožování (Kohout, 1997) Semena se vyskytují častěji v semenné bance víceletých kultur (nejčastěji lesů) a v hloubce větší než 20 cm (Eycott et al., 2006; Kurova, 2016).

4.2. Materiál semen

Pro zjištění délky životaschopnosti byla použita sada semen různého věku pocházející z kolekce týmu Funkce biodiverzity bezobratlých a rostlin v agroekosystémech, VÚRV, v.v.i. Jednotlivé druhy semen byly posbírány z mateřských rostlin v letech 2005 a 2006. Semena byla zakopána v 100% polyamidových pytlíkách do půdy (ve hloubce 20 cm) v areálu VÚRV 50.0865511 N, 14.3027339 E. Semena byla promíchána s jemně prosetou zeminou, protože bylo zjištěno, že se jinak životaschopnost semen výrazně snižuje kvůli rychlejší kontaminaci mikroorganismy mezi semeny (Van Mourik et al., 2005). Po dobu 6 nebo 8 let se jeden balíček od každého roku z půdy odebral. Po usušení byla semena očištěna a poté zmrazena až do doby provedení testů životnosti. Nomenklatura cévnatých rostlin byla sjednocena dle Klíče ke květeně České republiky (Kubát et al., 2002).

4.3. Testování životnosti

Vzniklé sady jednotlivých druhů semen byly použity pro testování životaschopnosti semen. Byly použity tři testy: test klíčivosti semen, tzv. crush test a tetrazoliový test.

Test klíčivosti semen probíhal v klimatizovaném boxu při teplotě 25/18 °C a při světelných podmínkách 16/8 hodin. Semena každé varianty byla dána na navlhčený filtrační papír v Petriho misce po 10 kusech v 5 opakováních. Po fázi bobtnání semen došlo ke klíčení a k vyhodnocování klíčivosti jednotlivých druhů semen. Klíčení semen se kontrolovalo dvakrát v týdnu. Po vyklíčení posledního semene se čekalo 3 týdny na to, zda nevyklíčí zbylá semena.

Semena byla otestována i tetrazoliovým testem (Potyšová, 2014), který se však pro zamýšlené účely neosvědčil, zřejmě z důvodu malé velikosti semen. Živá kontrolní semena nečervenala nebo naopak zčervenala všechna, i když se jednalo o teplem usmrcenou kontrolní variantu (vystavena 100 °C po dobu 10 minut), která by měla vyjít bez zabarvení. Proto tato metoda byla nahrazena tzv. crush testem.

Semena byla nakonec podrobena tzv. crush – testu (Borza et al., 2007), který zjišťuje životnost semen. Jedná se o metodu, kdy se semena rozmáčkou mezi dvěma podložními sklíčky a následně se zkoumají jejich struktury a změny v semenu. Ne všechna semena jdou rozmáčknout mezi sklíčky kvůli své tvrdosti. Některá semena byla rozmáčknutá pomocí třecí misky a tloučku (laskavec ohnutý, kuklík městský, blín černý, rdesno blešník). Semena, která

jsou plochá, byla zkontrolována pomocí nabobtnání na filtračním papíru a následně rozmáčknutá pomocí pinzety (semena zvonku kopřivolistého, kopřivy žahavky a jitrocelů kopinatého, prostředního a většího). U toho testu se vždy testovalo 20 semen od každého druhu a varianty.

Tyto testy byly uskutečněny, aby vyvrátily nebo potvrdily hypotézy o odlišné životaschopnosti druhů semen, o závislosti dlouhověkosti na délce setrvání v půdě a o podobné dlouhověkosti semen v rámci čeledí. Navíc test klíčivosti semen byl proveden kvůli potvrzení hypotézy o různých dormancích semen.

4.4. Statistické vyhodnocení dat

Data pro jednotlivé testy životaschopnosti (test klíčení a crush test) byla testována samostatně různými statistickými metodami v programu R (Crawley, 2007).

Změny klíčivosti v závislosti na době setrvání v půdě byly testovány pomocí zobecněných lineárních modelů (GLM) s binomickým rozdělením chyb logit-link funkcí (Pekár a Brabec, 2009), protože klíčivost může být vyjádřena pouze na škále 0 (nic nevyklíčilo) až 1 (vše vyklíčilo). Informace o klíčení, tj. počtu semen vyklíčených a nevyklíčených pro každou Petriho misku, byly soustředěny do tzv. binární proměnné, která sloužila jako vysvětlovaná proměnná. Prvotní model zahrnoval testování vlivu druhu semen, dobu setrvání v půdě (spojitá proměnná) a jejich vzájemnou interakci. Významnost jednotlivých členů modelu byla testována na hladině 5% na základě χ^2 statistiky. Vzhledem k tzv. overdispersion (reziduální deviance je výrazně větší než stupně volnosti), bylo třeba analýzu přepočítat pomocí tzv. quasibinomického rozložení (Pekár a Brabec, 2009). Významnost jednotlivých členů tohoto modelu pak byla testována na hladině 5% na základě F statistiky. Jelikož byla interakce mezi druhem semen a dobou setrvání v půdě významná, životnost jednotlivých druhů byla testována pro každý druh zvlášť pomocí logistické regrese s binomickým rozdělením a logit-link funkcí: $y = \frac{1}{1+e^{-(a+b \cdot x)}}$, kde a je průsečík s osou y , b je sklon křivky a x jsou roky po zakopání semen.

, kde

Životnost semen zjištěná pomocí crush testu byla analyzována analogickým způsobem, tj. pomocí logistické regrese s binomickým rozdělením a logit-link funkcí, vzhledem ke struktuře dat byl však použit tzv. Bernoulliho (binární) model. V tomto modelu byl jako

vysvětlovaná proměnná použit vektor obsahující hodnoty 1 pro semena, vyhodnocena jako živá a 0 pro semena vyhodnocena jako mrtvá. Vysvětlující část modelu pak byla identická, jako vysvětleno výše. Vzhledem k průkaznosti interakce mezi druhem semen a dobou strávenou v půdě byla opět změna v životnosti se zakopáním v půdě analyzována zvlášť pomocí logistické regrese.

Z průběhu změn životnosti semen popsanych logistickou křivkou lze odhadnout čas setrvání půdě, kdy je určitá část populace semen ještě živá. V tomto případě byla odhadnuta doba životnosti 50 a 5 % původní populace semen od zakopání (Crawley, 2007). Ke stanovení byly využity křivky jak pro klíčení, tak pro crush test, a výsledné hodnoty byly vzájemně porovnány.

4.5. Obrazová analýza morfologických a barevných změn semen

Vzorek semen od každé kombinace druhu a doby strávené v půdě byly dále očištěny pomocí ultrazvukové čističky Bandelin SONOREX RK 31 po dobu 3 minut. Následně byla semena vysušena při 75 °C po dobu 24 hodin, pozorována pod 3D mikroskopem HIROX RH – 2000 na tři různá zvětšení a vyfotografována. 3D mikroskopie je schopná přiblížit jednotlivé struktury, analyzovat je i jejich změny. Objektivy tohoto mikroskopu jsou schopné zvětšení 35x až 2500x. Tímto mikroskopem je možné identifikovat materiály, barevné vrstvy, identifikovat poškození a znečištění.

Obrazová analýza byla provedena v programu SigmaScan Pro 5.0 (SPSS, 2000), ve kterém byly změřeny hodnoty pro intenzitu modrého, zeleného a červeného spektra. Každý snímek byl otevřen v programu SigmaScan Pro 5.0, následně na něj byla vložena mřížka, která umožňovala odebrání jednotlivých bodů. Z každého semene bylo odebráno 40 bodů a vždy od jedné varianty byla vybrána 3 semena. Ve výsledku bylo pro jeden rok od každého druhu odebráno celkem 120 bodů, kde se měřila intenzita modrého, zeleného a červeného spektra.

Změny v RGB spektru semen byly porovnávány pomocí orthogonálních kontrastů modelu se smíšenými efekty pro každou složku spektra a druh semen zvlášť v programu R (Crawley 2007). Vysvětlovanou proměnnou prvotního modelu tvořily hodnoty pro patřičné spektrum, vysvětlující proměnnou pak roky zakopání v půdě jako diskrétní proměnná. Náhodná složka modelu obsahovala identifikaci jednotlivého semena, na kterém bylo prováděno měření (tzv. random intercept model). Následně byl na původním modelu testován *a priori* kontrast,

porovnávající semena kontrolní vůči všem zakopaným v půdě. Tímto způsobem byla testována hypotéza, že semena mění při setrvávání v půdě svoje zbarvení.

4.6. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu

Snímky z elektronového scanovacího mikroskopu byly pořízeny v laboratoři elektronové mikroskopie (LEM), která spadá pod Přírodovědeckou fakultu University Karlovy v Praze. Rastrovací elektronový mikroskop (angl. Scanning electron microscope) zfokusuje svazek elektronů, do co nejmenší stopy a ta se v pravém úhlu vrací zpět. Tím se generují signály. Příprava vzorků je jednodušší nežli u transmisního elektronového mikroskopu a není tolik limitována velikostí (pouze velikostí komory a drážky). Důležité je zde, aby byl vzorek vodivý. U kovových materiálů stačí pouze očištění. Pokud zkoumaný vzorek není vodivý je potřeba na něj nanést tenkou vrstvičku (10 – 20 nm) vodivého materiálů. Poté se může již vzorek pozorovat (Williams and Carter, 2008). Pro snímky byly použity sady semen, které poskytl VÚRV. Tato semena byla očištěna a následně vysušena. Pokovování vzorků bylo provedeno na naprašovacím zařízení Bal - Tec SCD 050. Jako vodivý kov bylo použito zlato. Fotografie byly pořízeny na skanovacím elektronovém mikroskopu JEOL 6380 LV. Bohužel nebyly vyfoceny všechny druhy semen z důvodu rekonstrukce laboratoře.

5. Výsledky

5.1. Výsledky testů životnosti

Analýza vlivu doby setrvání v půdní zásobě na životnost semen kompletní sady všech druhů na základě klíčení ukázala, že průměrná klíčivost se liší mezi druhy, celkově se mění s dobou setrvání v půdě, a že trend změny v klíčivosti je druhově specifický (GLM-qb; Tabulka 1).

Tabulka 1 Vliv druhu semen a délky setrvání v půdě na klíčivost semen (GLM, quasibinomické rozložení díky overdispersion).

| | df - efekt | Deviance | df - reziduální | Deviance reziduální | F | P |
|----------|------------|----------|-----------------|---------------------|--------|---------|
| Druhy | 25 | 1716,3 | 904 | 6254,6 | 2,3738 | 0,0002 |
| YAB | 1 | 1425,7 | 903 | 4828,9 | 49,297 | < 0,001 |
| Druh:YAB | 25 | 2020 | 878 | 2808,9 | 2,7938 | < 0,001 |

Analýza vlivu doby setrvání v půdní zásobě na životnost semen kompletní sady všech druhů na základě crush testu ukázala zcela analogické výsledky - průměrná klíčivost se liší mezi druhy, celkově se mění s dobou setrvání v půdě, a že trend změny v klíčivosti je druhově specifický (GLM-b; Tabulka 2).

Tabulka 2 Vliv druhu semen a délky setrvání v půdě na klíčivost semen (GLM, binomické rozložení).

| | df – efekt | Deviance | df - reziduální | Deviance reziduální | P |
|----------|------------|----------|-----------------|---------------------|---------|
| Druhy | 25 | 823,33 | 3734 | 4270,5 | < 0,001 |
| YAB | 1 | 1269,07 | 3733 | 2974,5 | < 0,001 |
| Druh:YAB | 25 | 378 | 3708 | 2595,7 | < 0,001 |

Tabulka 3 Parametry logistické křivky $y = \frac{1}{1+e^{-(a+b \cdot x)}}$ popisující trend ve změně životnosti semen jako funkce doby zakopání semen v půdě na základě testu klíčení semen. Průsečík s osou y a sklon představují parametry a a b této křivky, x představuje dobu setrvání v půdě, SE je střední chyba odhadu jednotlivých parametrů, P je průkaznost modelu na hladině $\alpha < 0,05$.

| Test klíčení semen | | | |
|--------------------------------|-----------------|--------------|--------|
| Druh | Průsečík (a)±SE | Sklon (b)±SE | P |
| <i>Amaranthus powellii</i> | 7,1±0,93 | -2,7±0,36 | <0,001 |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | 6,4±0,83 | -2,6±0,33 | <0,001 |
| <i>Atriplex sagittata</i> | 0,5±0,26 | -1,5±0,22 | <0,001 |
| <i>Campanula trachelium</i> | 3,9±0,57 | -2,9±0,40 | <0,001 |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> | 0,4±0,18 | -0,03±0,04 | 0,367 |
| <i>Crepis biennis</i> | 1,5±0,27 | -0,9±0,12 | <0,001 |
| <i>Geum urbanum</i> | 1±0,19 | -0,1±0,04 | 0,305 |
| <i>Hyoscyamus niger</i> | -3,9±0,52 | -0,4±0,11 | <0,001 |
| <i>Hypericum perforatum</i> | 0,5±0,22 | -0,7±0,09 | <0,001 |
| <i>Chenopodium album</i> | 0,9±0,24 | -1,1±0,13 | <0,001 |
| <i>Chenopodium glaucum</i> | 2,4±0,36 | -1,8±0,21 | <0,001 |
| <i>Chenop. polyspermum</i> | 1,2±0,21 | -0,3±0,06 | <0,001 |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 1,9±0,26 | -0,9±0,10 | <0,001 |
| <i>Lycopus europaeus</i> | 1,5±0,24 | -0,9±0,09 | <0,001 |
| <i>Leonurus cardiaca</i> | 1,2±0,22 | 0,01±0,05 | 0,896 |
| <i>Plantago lanceolata</i> | -0,06±0,26 | 1,5±0,26 | <0,001 |
| <i>Plantago major</i> | 2,3±0,26 | -0,8±0,08 | <0,001 |
| <i>Plantago media</i> | 2,1±0,34 | -1,0±0,16 | <0,001 |
| <i>Polygonum lapathifolia</i> | -1,2±0,22 | 0,34±0,06 | <0,001 |
| <i>Portulaca oleracea</i> | 0,001±0,20 | -0,2±0,06 | <0,001 |
| <i>Silene noctiflora</i> | 4,3±0,47 | -1,5±0,15 | <0,001 |
| <i>Silene vulgaris</i> | 6,5±0,85 | -2,7±0,34 | <0,001 |
| <i>Thlaspi arvense</i> | 2,6±0,33 | -0,3±0,08 | <0,001 |
| <i>Tripleur. inodorum</i> | 3,6±0,47 | -2,0±0,23 | <0,001 |
| <i>Urtica urens</i> | 1,1±0,22 | -0,4±0,08 | <0,001 |
| <i>Urtica dioica</i> | 1,0±0,19 | -0,4±0,05 | <0,001 |

Tabulka 4 Parametry logistické křivky $y = \frac{1}{1+e^{-(a+b \cdot x)}}$ popisující trend ve změně životnosti semen v závislosti na délce setrvání v půdě na základě crush testu. Průsečík s osou y a sklon představují parametry a a b této křivky, x představuje dobu setrvání v půdě, SE je střední chyba odhadu jednotlivých parametrů, P je průkaznost modelu na hladině $\alpha < 0,05$.

| Crush test | | | |
|--------------------------------|-----------------|--------------------|--------|
| Druh | Průsečík (a)±SE | Sklon (b)±SE | P |
| <i>Amaranthus powellii</i> | 6,5±1,19 | -2,0±0,35 | <0,001 |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | 9,9±2,30 | -3,8±0,85 | <0,001 |
| <i>Atriplex sagittata</i> | 1,8±0,48 | -1,5±0,28 | <0,001 |
| <i>Campanula trachelium</i> | 5,1±1,13 | -2,7±0,57 | <0,001 |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> | 4,1±0,59 | -0,8±0,11 | <0,001 |
| <i>Crepis biennis</i> | 2,8±0,59 | -1,4±0,26 | <0,001 |
| <i>Geum urbanum</i> | 2,4±0,43 | -0,2±0,08 | 0,0026 |
| <i>Hyoscyamus niger</i> | 4,8±1,14 | -0,5±0,24 | 0,0303 |
| <i>Hypericum perforatum</i> | 2,8±0,51 | -0,5±0,12 | <0,001 |
| <i>Chenopodium album</i> | 4,9±0,83 | -1,1±0,19 | <0,001 |
| <i>Chenopodium glaucum</i> | 41,9±6656,5 | 21±3328 | 0,995 |
| <i>Chenop. polyspermum</i> | 4,5±0,83 | -0,8±0,17 | <0,001 |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 1,6±0,41 | -1,0±0,17 | <0,001 |
| <i>Lycopus europaeus</i> | 2,2±0,42 | -0,9±0,14 | <0,001 |
| <i>Leonurus cardiaca</i> | 2,4±0,40 | -0,4±0,07 | <0,001 |
| <i>Plantago lanceolata</i> | 2,6±49000 | (-1.0e-09)±(10000) | 1 |
| <i>Plantago major</i> | 2,4±0,42 | -0,9±0,12 | <0,001 |
| <i>Plantago media</i> | 5,1±1,14 | -2,2±0,50 | <0,001 |
| <i>Polygonum lapathifolia</i> | 1,0±0,33 | -0,2±0,09 | 0,07 |
| <i>Portulaca oleracea</i> | 2,4±0,45 | -0,9±0,15 | <0,001 |
| <i>Silene noctiflora</i> | 5,5±0,95 | -1,7±0,27 | <0,001 |
| <i>Silene vulgaris</i> | 3,1±0,55 | -1,2±0,19 | <0,001 |
| <i>Thlaspi arvense</i> | 3,5±0,71 | -0,4±0,16 | 0,008 |
| <i>Tripleur. inodorum</i> | 3,1±0,68 | -2,0±0,38 | <0,001 |
| <i>Urtica urens</i> | 2,3±0,46 | -0,8±0,15 | <0,001 |
| <i>Urtica dioica</i> | 2,8±0,48 | -0,3±0,09 | 0,002 |

Tabulka 5 Stanovení doby (roky od zakopání) dosažení 50 % a 5% životnosti z původní populace semen, předpovězeno na základě testu klíčení semen.

| Předpokládané přežití - Test klíčení | | |
|---|--------------------------------|-------------------------------|
| Druh | Přežití 50 %± SE (roky) | Přežití 5 %± SE (roky) |
| <i>Amaranthus powellii</i> | 2.7±0.09 | 3.8±0.16 |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | 2.6±0.09 | 3.6±0.17 |
| <i>Atriplex sagittata</i> | 0.3±0.15 | 2.4±0.27 |
| <i>Campanula trachelium</i> | 1.3±0.08 | 2.3±0.16 |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> | -10,4±16,19 | -97.0±112.01 |
| <i>Crepis biennis</i> | 1.7±0.17 | 5.1±0.47 |
| <i>Geum urbanum</i> | 23.9±19.40 | 96.3±89.81 |
| <i>Hyoscyamus niger</i> | 9.4±1.52 | 2.2±0.73 |
| <i>Hypericum perforatum</i> | 0.7±0.26 | 4.9±0.46 |
| <i>Chenopodium album</i> | 0.8±0.17 | 3.6±0.31 |
| <i>Chenopodium glaucum</i> | 1.4±0.11 | 3.0±0.21 |
| <i>Chenop. polyspermum</i> | 3.6±0.35 | 12.5±1.70 |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 2.1±0.16 | 5.3±0.34 |
| <i>Lycopus europaeus</i> | 1.7±0.17 | 5.1±0.33 |
| <i>Leonurus cardiaca</i> | -178.3±1386.13 | -606.2±4648.10 |
| <i>Plantago lanceolata</i> | 2.2±0.18 | 5.2±0.60 |
| <i>Plantago major</i> | 3.6±0.34 | -5.0±1.44 |
| <i>Plantago media</i> | 0.1±0.99 | 15.2±3.68 |
| <i>Polygonum lapathifolia</i> | 2.9±0.12 | 4.9±0.24 |
| <i>Portulaca oleracea</i> | 2.4±0.09 | 3.5±0.16 |
| <i>Silene noctiflora</i> | 9.4±1.73 | 20.2±4.76 |
| <i>Silene vulgaris</i> | 1.8±0.10 | 3.3±0.20 |
| <i>Thlaspi arvense</i> | 0.04±0.1 | -1.8±0.44 |
| <i>Tripleur. inodorum</i> | 2.7±0.16 | 6.3±0.34 |
| <i>Urtica urens</i> | 2.5±0.28 | 9.3±1.22 |
| <i>Urtica dioica</i> | 2.7±0.30 | 10.6±0.88 |

Tabulka 6 Stanovení doby (roky od zakopání) dosažení 50 % a 5% životnosti z původní populace semen, předpovězeno na základě crush testu.

| Předpokládané přežívání - Crush test | | |
|---|--------------------------------|-------------------------------|
| Druh | Přežití 50 % ± SE(roky) | Přežití 5 % ± SE(roky) |
| <i>Amaranthus powellii</i> | 3.4±0.16 | 4.9±0.31 |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | 2.6±0.12 | 3.3±0.20 |
| <i>Atriplex sagittata</i> | 1.2±0.19 | 3.2±0.38 |
| <i>Campanula trachelium</i> | 1.9±0.13 | 2.9±0.26 |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> | 5.0±0.26 | 8.6±0.60 |
| <i>Crepis biennis</i> | 2.0±0.19 | 4.0±0.43 |
| <i>Geum urbanum</i> | 10.3±1.96 | 22.7±5.96 |
| <i>Hyoscyamus niger</i> | 9.3±2.32 | 15.1±4.91 |
| <i>Hypericum perforatum</i> | 5.7±0.61 | 11.6±1.93 |
| <i>Chenopodium album</i> | 4.4±0.22 | 7.0±0.53 |
| <i>Chenopodium glaucum</i> | 1.9±9.83 | 2.1±11.05 |
| <i>Chenop. polyspermum</i> | 5.7±0.41 | 9.6±1.13 |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | 1.6±0.24 | 4.5±0.50 |
| <i>Lycopus europaeus</i> | 2.4±0.25 | 5.6±0.50 |
| <i>Leonurus cardiaca</i> | 6.8±0.64 | 15.1±2.23 |
| <i>Plantago lanceolata</i> | 2.3±0.16 | 3.7±0.36 |
| <i>Plantago major</i> | 6.0±1.91 | 24.3±11.74 |
| <i>Plantago media</i> | 2.6±0.25 | 5.9±0.56 |
| <i>Polygonum lapathifolia</i> | 3.3±0.17 | 5.1±0.35 |
| <i>Portulaca oleracea</i> | 2.6±0.2 | 5.1±0.43 |
| <i>Silene noctiflora</i> | 8.5±1.79 | 15.6±4.41 |
| <i>Silene vulgaris</i> | 1.5±0.16 | 3.0±0.31 |
| <i>Thlaspi arvense</i> | Inf. | Inf. |
| <i>Tripleur. inodorum</i> | 2.7±0.25 | 6.2±0.52 |
| <i>Urtica urens</i> | 2.9±0.28 | 6.7±0.81 |
| <i>Urtica dioica</i> | 10.5±1.91 | 21.6±5.40 |

Po dosazení průsečíku a sklonu viz tabulka 3 a 4 do rovnice křivky $y = \frac{1}{1+e^{-(a+b \cdot x)}}$ můžeme získat předpokládanou životnost semen. Výsledky obou testů se od sebe liší. Problém testu klíčení semen je, že nebere zřetel na dormantní semena, která nevyklíčí. Díky tomu se často objevují ve výsledcích záporná čísla (viz tabulka 5). Předpokládaná 50 % a 5 % životnost semen se liší od crush testu. Nejvyšší životnost zde má kuklík městský stejně jako v crush testu. Nízkou životaschopnost zde má i penízek rolní a však to je z důvodu primární dormance. V crush testu jsou naopak započítaná i dormantní semena. V tabulce 6 je vidět

předpokládaná životnost semen pomocí crush testu. Důležité je si všimnout penízku rolního, který v testování věku měl velmi nízkou variabilitu, a po většinu testování byla živá 100 % semen. Díky tomu je jeho předpokládaná životnost podle statistiky takto vysoká, byť je zřejmé, že jeho životnost bude jistě reálně mnohem nižší. Dalším druhem, který má vysokou předpokládanou životnost je kopřiva dvoudomá, která má 50 % živých semen ještě po 10,5 letech. Těsně za kopřivou dvoudomou je kuklík městský, který má ještě po 10,3 letech předpokládaných živých 50 % semen. Naopak nejnižší předpokládanou životnost má lebeda lesklá, která má 50 % předpokládanou životnost po 1,2 roku. Silenka nadmutá má také nízkou předpokládanou životnost, z 50 % jsou živá semena jen po dobu 1,5 roku. Další rostlinou s nízkou předpokládanou životaschopností semen má levandule lékařská, kdy přežilo 50 % semen jen 1,6 roku.

Výsledky obou testů jednotlivých druhů semen jsou popsány v kapitole 5.2. U každého druhu dochází k jiné klíčivosti a dlouhověkosti semen. I v rámci čeledí dochází k rozdílům během klíčení a dlouhověkosti. Porovnání v rámci čeledí je v kapitole 5.3. Nulovým rokem je myšlen rok, kdy byla semena sebrána z rostliny a následně zamražena (kontrola). Prvním rokem je myšlen rok, kdy semena strávila jeden rok v půdě atd.

5.2. Výsledky klíčivosti a dlouhověkosti jednotlivých druhů semen

Čerstvá semena *Amaranthus powellii* i semena po jednom roce setrvání v půdní zásobě vykazovala téměř 100 % klíčivost i životnost (na základě crush testu) (graf 1a). Poté jak klíčivost, tak životnost semen postupně klesala a pět let po zakopání již žádná semena neklíčila, ani se nejevila živá. Crush test v porovnání s klíčením udával v průměru vyšší hodnoty životnosti (graf 1) i delší doby přežití 50 % i 5 % populace semen (Tabulky 5 a 6), což může souviset s dormancí semen indukovanou setrváním v půdě po více let.

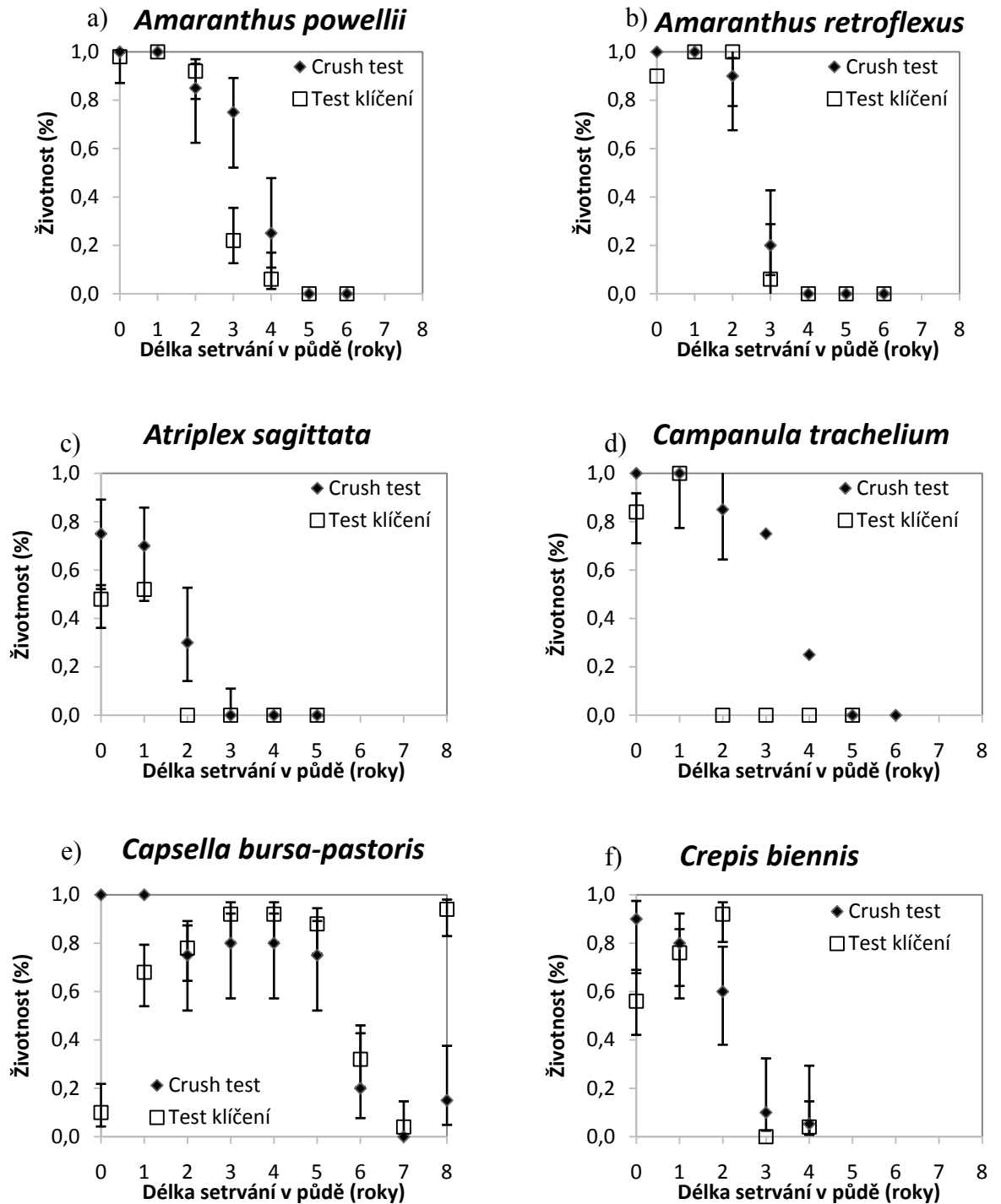
Semena *Amaranthus retroflexus* klíčila po dobu tří let strávených v půdě (graf 1b). Semena prvních dvou let klíčí téměř ze 100 %, poté se klíčivost rapidně snižuje. Ve 4. roce již semena neklíčila a ani se neprojevila jako živá. Předpokládané přežití 5 % semen bylo stanoveno na 3,3 let crush testem a 3,6 let klíčením (tabulka 5 a 6).

U semen *Atriplex sagittata* byla testována černá semena, která mají lehkou dormanci. Testem klíčivosti byla semena stanovena jako živá jen v kontrolní variantě a 1. roce (graf 1c) a jejich předpokládaná životaschopnost (5 %) byla stanovena testem klíčení na 2,4 roku (tabulka 5). Oproti tomu v crush testu vyšla životnost semen ještě ve 3. roce i v předpokládané životnosti (5 %) stanovené crush testem (tabulka 6) vyšla životnost vyšší - 3,2 let.

Semena *Campanula trachelium* vyklíčila pouze v 0. a 1. roce (graf 1d). V roce, kdy semena opustila mateřskou rostlinu, měla malou dormanci (vyklíčila z 84 %). Struktury semene se začaly měnit již v 1. roce, protože v crush testu vyšlo jako živých pouze 85 % semen. V následujícím (2. roce) nevyklíčilo již ani jedno semeno a to přesto, že předpokládaná 5 % životaschopnost stanovena touto metodou byla stanovena na 2,3 roku. Metodou crush testu byla stanovena na 2,9 roku (tabulka 6).

Semena *Capsella bursa-pastoris* jsou dlouhověká (graf 1e). Semena kokošky pastuší tobolky mají poměrně velkou dormanci, které se semena zbaví až ve 3. roce, kdy klíčí nejvíce semen. Zajímavostí je, že v 8. roce vyklíčilo 94 % semen a však v crush testu vyšlo životaschopných pouze 15 % semen. Předpokládaná 5 a 50 % procentní životnost semen byla stanovena crush testem na 5 a 8,6 let (tabulka 6).

Graf 1 Vliv setrvání v půdě na životnost semen. Životnost byla stanovena pomocí testu klíčení a crush testu. Chybové úsečky ukazují 95 % konfidenční intervaly (GLM, binomické rozložení).



Semena *Crepis biennis* mají primární dormanci. Klíčivost semen se postupně s dobou strávenou v půdě zvyšuje (graf 1f). Nejvyšší klíčivost byla ve 2. roce a to 92 %. V třetí roce již nevyklíčilo ani jedno semeno, přestože v crush testu vyšlo jako živých 10 %. Ve 4. roce vyklíčila 4 % semen. Bohužel pro testování dalších let již nebyla semena. Předpokládané přežívání 5 % semen bylo stanoveno crush testem na 4,0 let (tabulka 6).

Semena *Geum urbanum* procházela cyklem několika dormancí (graf 2a). Životnost semen po dobu testování neklesla pod 60 % oproti testu klíčení. Předpokládané přežívání 5 % semen crush testem (tabulka 6) na 22,7 let. Díky dormanci semen nevyšlo předpokládané přežívání semen reálně pro test klíčení (tabulka 5).

Druh *Hyoscyamus niger* má velmi tvrdé semenné obaly, díky nim prochází dlouhou dormancí semen (graf 2b). Jeho klíčivost byla nejvyšší v 6. roce. Životnost semen se snižuje již od 2. roku stráveného v půdě. Jeho předpokládaná životnost (tabulka 6) byla stanovena na 15,1 let crush testem. Test klíčení se zde pro předpokládanou životnost z důvodu dormancí nemohl použít (tabulka 5).

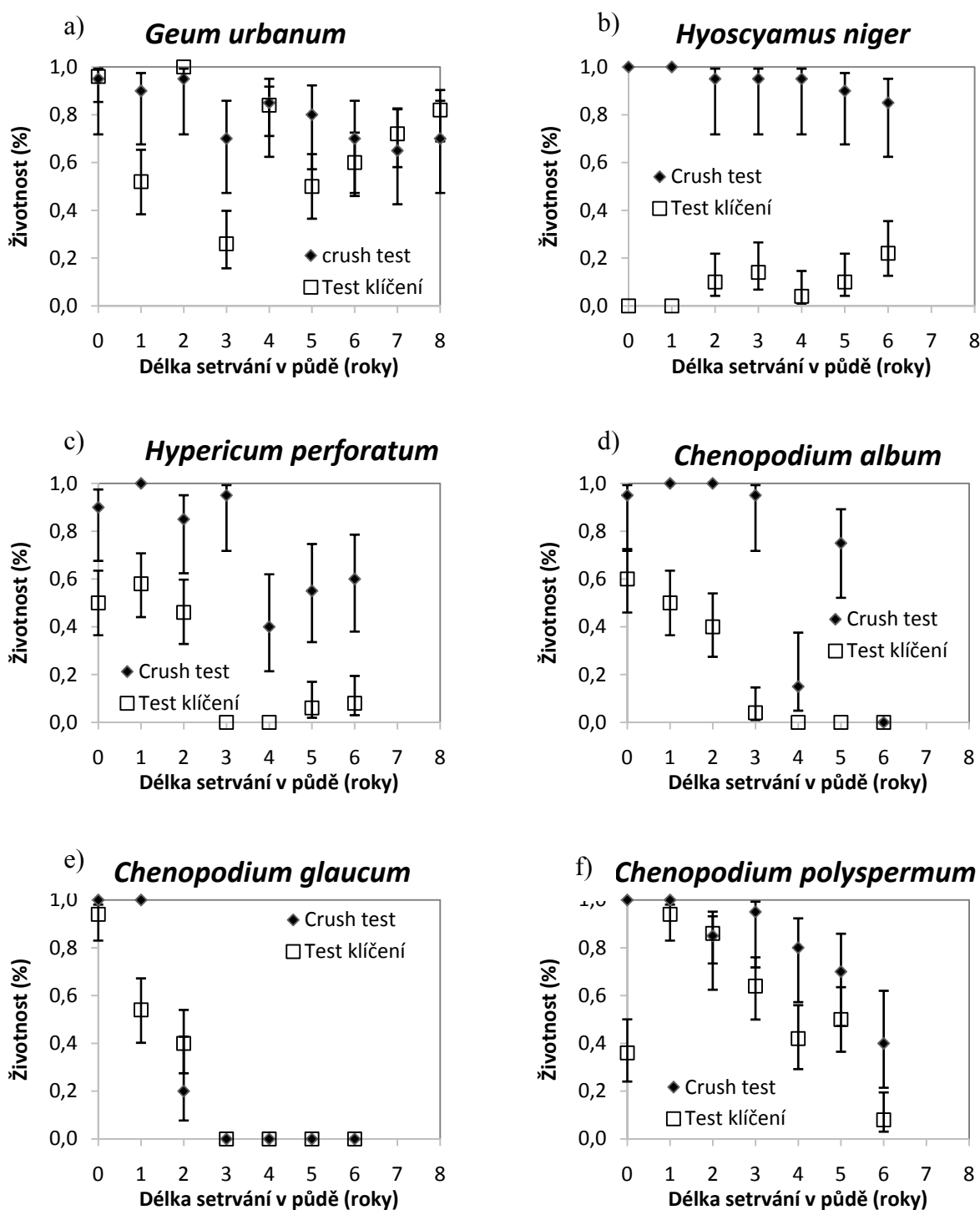
Semena *Hypericum perforatum* měla lehkou primární dormanci. Nejvíce semena vyklíčila po přezimování v půdě (graf 2c). Semena vůbec nevyklíčila v 3. a 4. roce. Ale přesto vyklíčila ještě v 5. a 6. roce. Předpokládaná životnost (tabulky 5 a 6) se výrazně liší mezi testy – test klíčení 4,9 let a crush test 11,6 let.

Chenopodium album stejně jako ostatní druhy z čeledi *Amaranthaceae* má snižující se tendenci klíčení semen (graf 2d). Semena naposledy vyklíčila v 3. roce. Crush test prokázal životnost semen po 5 let. Předpokládaná 50 % životnost semen stanovena klíčením (tabulka 5) je výrazně nižší než stanovena crush test (tabulka 6).

Semena *Chenopodium glaucum* si udržela svou klíčivost (graf 2e) a životnost jen po 2. roky, kdy se výrazně snižovala každým rokem od kontroly. Předpokládaná 5 % životnost pro tento druh byla stanovena crush testem (tabulka 6) na 2,1 roky a testem klíčení (tabulka 5) na 3. roky.

Semena *Chenopodium polyspermum* mají primární dormanci (graf 2f), po přezimování semen se zvyšuje jejich klíčivost. Avšak již od 1. roku, stráveném v půdě, se klíčivost snižuje. Přesto po celou dobu testování byla semena živá, alespoň z části. Předpokládaná 5 % životnost semen (tabulka 5 a 6) odpovídá grafickému rozložení.

Graf 2 Vliv setrvání v půdě na životnost semen. Životnost byla stanovena pomocí testu klíčení a crush testu. Chybové úsečky ukazují 95 % konfidenční intervaly (GLM, binomické rozložení).



Semena *Lavandula angustifolia* si udržela svojí klíčivost i životnost po 3 roky (graf 3a). Ve druhém roce došlo k poklesu životnosti semen (zřejmě nešpatné uskladnění). Předpokládaná životnost (tabulka 5 a 6) vyšla pro crush test nižší nežli pro klíčení. Z důvodu nižší detekce živých semen v crush testu.

Druh *Leonurus cardiaca* si uchoval vysokou dlouhověkost semen. Živá semena byla detekována i po sedmi letech. Ta byla zjištěna v obou metodách (graf 3b). Předpověď životnosti semen byla stanovena na 5, 1 roku, pomocí crush testu (tabulka 6).

Semena *Lycopus europaeus* vyšla v testu klíčení velmi variabilně (graf 3c). Díky crush testu byla zjištěna snižující se tendence v průběhu let. Předpokládaná 5 % životnost tohoto druhu byla v crush testu (tabulka 6) stanovena na 5,6 let a testu klíčení (tabulka 5) na 5,1 let.

Semena *Plantago lanceolata* mají primární dormanci semen (graf 3d). Životnost semen se v závislosti na setrvání v půdě snižuje. Předpokládaná 5 % životnost semen byla stanovena na 3,7 let (tabulka 6). Pro tento druh je nevhodná předpověď životnosti klíčením z důvodu dormance semen.

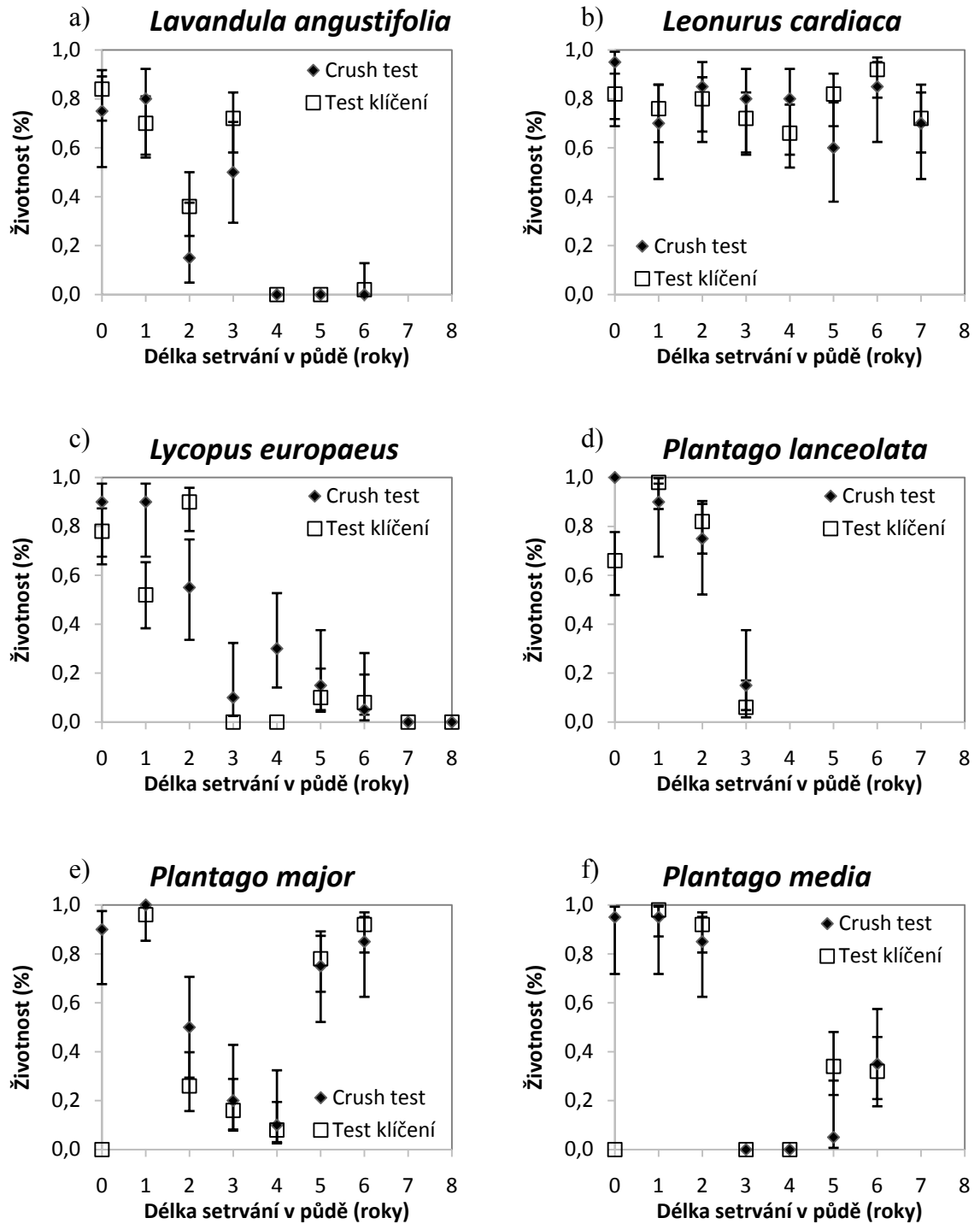
Semena *Plantago major* mají 100 % dormanci semen v kontrolní variantě (graf 3e). Z tohoto důvodu nejsou výsledky z testu klíčení vhodné pro předpokládanou životnost semen (tabulka 5). Po přezimování se klíčivost semen zvýšila. Přesto od tohoto roku klesá životnost semen. Předpokládaná 5 % životnost semen byla stanovena crush testem na 24 let (tabulka 6).

Plantago media má podobný cyklus jako *Plantago major*. I tento druh má primární dormanci v kontrolní variantě (graf 3f). Semena tohoto druhu nebyla živá v 3. a 4. roce. Přesto v 5. a 6. roce semena opět vyklíčila. Předpokládaná 5 % životnost semen byla stanovena na 5,9 let (tabulka 6).

Klíčivost a životnost semen *Polygonum lapathifolia* prokázaná oběma těsty se shoduje (graf 4a). Semena poprvé ztratila svou životnost ve 4. roce, přesto další dva roky vyklíčila. Předpokládaná 5 % životnost semen byla stanovena 5,1 let (crush test) a 4,9 let (klíčení).

Druh *Portulaca oleracea* má snižující se životnost v závislosti na délce setrvání v půdě (graf 4b) do 4 roku, kdy jsou všechna semena mrtvá. Přesto v 5. a 6. roce vyšla část semen v crush testu živá. Předpokládaná 5 % byla stanovena klíčením na 3,5 roku (tabulka 5) a crush testem na 5 let (tabulka 6).

Graf 3 Vliv setrvání v půdě na životnost semen. Životnost byla stanovena pomocí testu klíčení a crush testu. Chybové úsečky ukazují 95 % konfidenční intervaly (GLM, binomické rozložení).



Silene noctiflora nemá primární dormanci (graf 4c). Životnost semen se pozvolně snižuje až do 4. roku. V 5. a 6. roce byla semena více životná než v předchozích letech. Předpokládaná 5 % životnost byla stanovena na 15 a 20 let (tabulka 5 a 6).

Semena *Silene vulgaris* mají na rozdíl od *Silene noctiflora* nízkou dlouhověkost semen (graf 4d). Semena plně ztratila svojí životnost ve 3. roce. I předpokládaná 5 % životnost semen vyšla velmi blízce: pro crush test 3 roky a pro test klíčení 3,3 roku (tabulka 5 a 6)

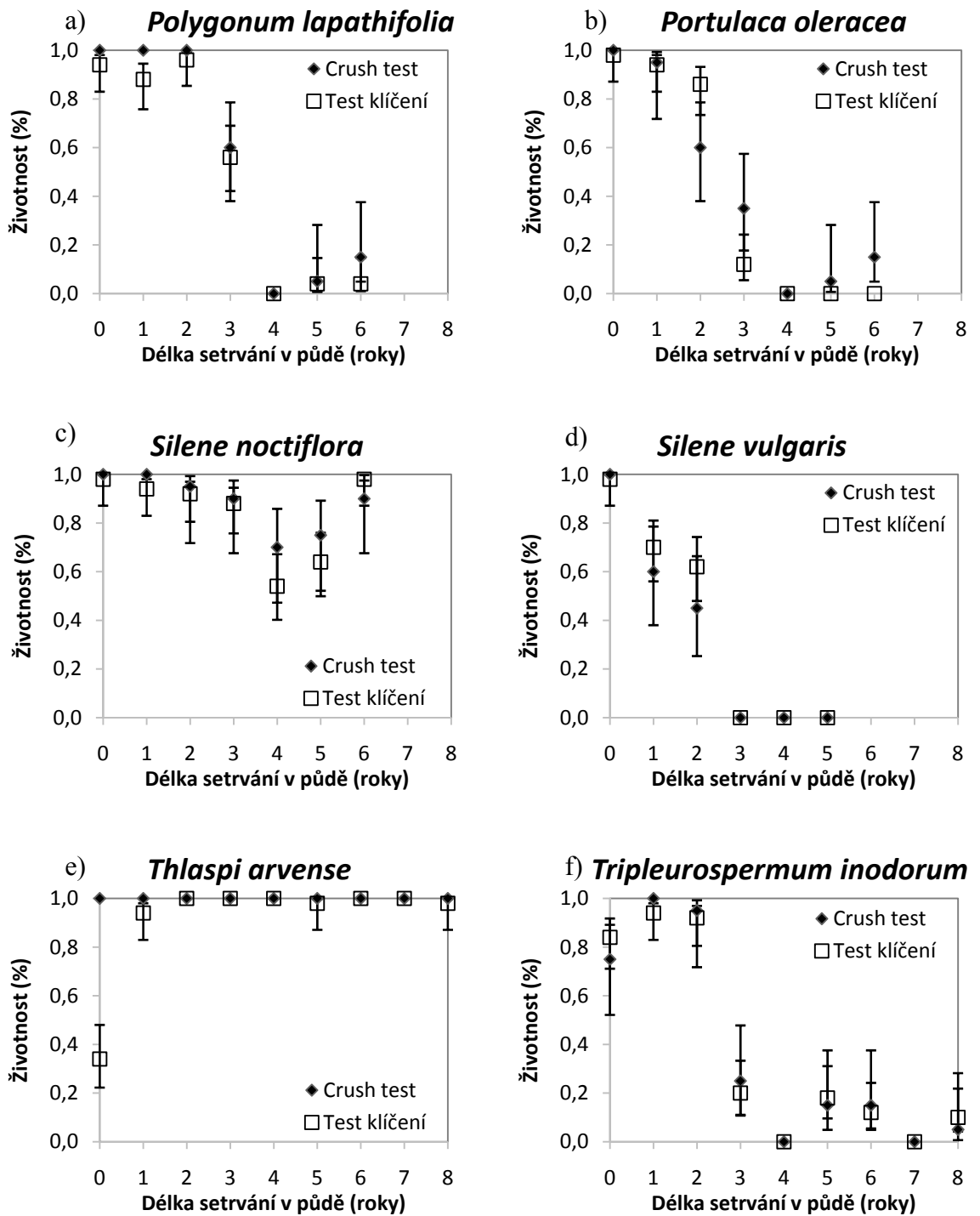
Semena *Thlaspi arvense* mají primární dormanci semen (graf 4e). Ta po přezimování semen v půdě končí a semena následující roky klíčí z 98 % nebo 100 % po 8 let. Z důvodu nízké variability dat zde nebylo možné předpovědět životnost těchto semen.

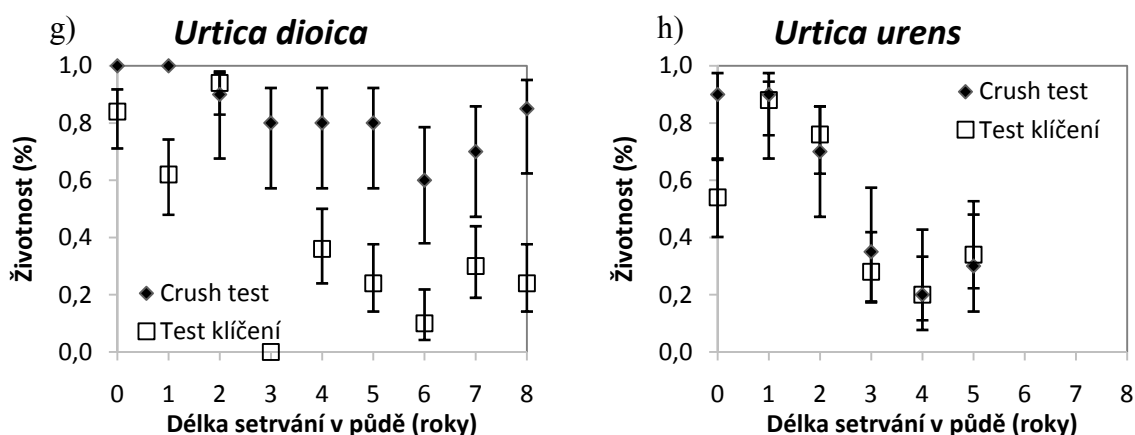
Tripleurospermum inodorum má lehkou primární dormanci (graf 4f). Klíčivost semen se zvyšuje po přezimování a vysoká ještě zůstává ve 2. roce, poté se klíčivost i životnost semen výrazně snižuje. Předpokládaná 50 % životnost semen byla vypočítána pomocí crush testu na 2,7 roku a 5 % přežití semen na 6,2 roku (tabulka 6).

Životnost semen *Urtica dioica* se velmi liší mezi použitými metodami (graf 4g). V crush testu vyšla životnost mnohem vyšší. Naopak semena klíčila velmi málo. Předpokládaná 5 % životnost semen je vysoká a to 10,6 roku pro klíčení a 21,6 let pro crush test (tabulka 6).

Semena *Urtica urens* mají primární dormanci. Od 1. roku, kdy semena ztratila dormanci, jejich klíčivost klesá až do 4. roku (graf 4h). Předpokládaná 50 % životnost tohoto druhu je 2,9 let pro crush test a 2,5 let pro klíčení semen. Velký rozdíl v předpokládané životnosti semen se objevil u 5 % živých semen, kdy v crush testu vyšlo 6,7 let proti 9,3 rokům v klíčení (tabulka 5 a 6).

Graf 4 Vliv setrvání v půdě na životnost semen. Životnost byla stanovena pomocí testu klíčení a crush testu. Chybové úsečky ukazují 95 % konfidenční intervaly (GLM, binomické rozložení).





5.3. Porovnání klíčivosti a dlouhověkosti semen stejných čeledí

Rozdílná životnost semen je vidět u čeledi laskavcovitých (*Amaranthaceae*) (graf 5a), kdy je rozdíl již u kontrolních semen. U části populace se objevuje dormance, v tomto případě u druhu *Chenopodium polyspermum*, kdy vyklíčilo pouze 36 % semen a však v dalším roce klíčila z 94 %. Semena tohoto druhu také vykazovala větší dlouhověkost semen než ostatní druhy, i v 6. roce vyklíčilo 8 % semen. Druhým druhem s nejvyšší dlouhověkostí semen z čeledi *Amaranthaceae*, která byla testována, má *Amaranthus powellii*, který vyklíčil ještě po 4. roce stráveném v půdě. Naopak nejnižší dlouhověkost má druh *Atriplex sagittata*, který přestal klíčit již v 2. roce. I klíčivost tohoto druhu je nižší než ostatních. Nejvyšší počet vyklíčených semen byl u druhů *Amaranthus powellii* a *Amaranthus retroflexus*, kdy vyklíčilo 100 % semen po 1. roce v půdě. U obou druhů byla v druhém roce ještě klíčivost vyšší než 90 %. V 3. roce klesala již klíčivost pod 30 %. Ani předpokládaná životnost semen není stejná, liší se mezi jednotlivými druhy několika roky (tabulka 5 a 6). Na této čeledi je vidět, že i když má čeleď podobnou stavbu semene, nemusí to nutně znamenat i stejnou dlouhověkost a klíčivost semen.

Ani u čeledi jitrocelovitých (*Plantaginaceae*) se nepodařilo prokázat stejné znaky pro klíčení a dlouhověkost semen. I zde byl rozdíl v dormanci. Primární dormance byla prokázána u *Plantago major* a *Plantago media*, kdy ani jedno semeno nevyklíčilo v roce, kdy opustilo rostlinu (graf 5b). Oproti tomu semena *Plantago lanceolata* vyklíčila v prvním roce z 94 %. Po prvním roce stráveném v půdě vyklíčila semena všech druhů více než v 90 %. A však od 2. roku se klíčivost výrazně mění. Semena *Plantago major* výrazně ztratila svou klíčivost. Vyklíčila jen z 26 %. Následující (3. rok) měl výrazný propad v klíčivosti semen, kdy ani

jeden druh nepřekročil 20 % vyklíčených semen. Je možné, že zde semena přešla do sekundární dormance, protože v 5. roce semena *Plantago major* a *Plantago media* vyklíčila ve větším počtu (*Plantago major* (z 78 %) a *Plantago media* (z 34 %)). Nižší klíčivost *Plantago lanceolata* by mohla být způsobena velikostí semen. Oproti ostatním dvěma druhům jitrocelů rostlina *Plantago lanceolata* vyprodukuje více semen menší velikosti. Ani předpokládaná životnost semen této čeledi není stejná, liší se mezi jednotlivými druhy několika roky (tabulka 5 a 6).

Semena čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) mají společný znak, kterým je absence primární dormance (graf 5c). Již v nulovém roce rostliny klíčí a to přibližně z 80 %. Dalším společným znakem je společná maximální klíčivost, která se pohybuje mezi 80 – 90 %. Nejvyšší klíčivost má *Lycopus europaeus* v 2. roce, kdy vyklíčil z 90 % a *Leonurus cardiaca*, který vyklíčil z 92 % v 6. roce. Klíčivost druhu *Lycopus europaeus* se po 3. roce v půdě snížila na 0 % a na stejném procentu zůstala i ve 4. roce. Ve 4. roce také už ztratila životnost semena druhu *Lavandula angustifolia*. Semena *Lycopus europaeus* vyklíčila ještě v 5. a 6. roce, ale jejich klíčivost nepřekročila 10 % vyklíčených semen. Oproti těmto dvěma druhům, které ztratili svou životnost, druh *Leonurus cardiaca* neztratil svou klíčivost ani po 6. letech strávených v půdě. Dokonce tento druh měl nejvyšší klíčivost právě v 6. roce, kdy vyklíčil z 92 %. Ani u čeledi *Lamiaceae* nebyla potvrzena hypotéza, že by semena stejné čeledi mohla mít stejnou klíčivost a dlouhověkost semen.

U rostlin čeledi brukvovité (*Brassicaceae*) dochází k podobnému cyklu klíčení a dlouhověkosti semen (graf 5d). Obě dvě rostliny *Capsella bursa-pastoris* i *Thlaspi arvense* mají primární dormanci. Ta se projevuje u *Capsella bursa-pastoris* vyklíčením pouze 10 % semen a u *Thlaspi arvense* vyklíčením jen 34 % semen. Po prvním roce stráveném v půdě se klíčivost *Thlaspi arvense* zvedla na 90 % a následující rok byla již 100 %. Tato rostlina si uchovává svou klíčivost po dobu 6 let přes 90 %. Druhý, třetí, čtvrtý a šestý rok vyklíčila semena ze 100 %. Oproti tomu semena *Capsella bursa-pastoris* za celou dobu nevyklíčila ani jednou ze 100 %. Nejvyšší klíčivost tohoto druhu byla ve 3. a 4. roce, kdy vyklíčilo 92 % semen. Nejnižší klíčivost byla v 6. roce a to 32 % vyklíčených semen. Do 3. roku klíčivost semen narůstá a to v prvním roce 68 % a v druhém roce vyklíčilo 78 % semen. Nižší klíčivost tohoto druhu by mohla být zapříčiněna tím, že semena tohoto druhu jsou menší než *Thlaspi arvense* a zároveň nemají tak tvrdé semenné obaly. Je zřejmé, že rostliny nemají totožnou dlouhověkost a klíčivost a však mají podobný cyklus klíčení.

Shodný cyklus semen nebyl prokázán ani u semen z čeledi hvozdíkovité (*Caryophyllaceae*) (graf 5e). Oba dva druhy silenek nemají primární dormanci. To dokazuje vyklíčení 98 % semen v nulovém roce. Pro oba druhy je 98 % vyklíčení všech semen nejvyšší klíčivost, díky tomu můžeme semena těchto rostlin řadit mezi semena s vysokou klíčivostí. Klíčivost *Silene vulgaris* se od prvního roku snižuje. V 1. roce vyklíčilo jen 70 % semen, v následujícím roce jen 62 % semen od 3. roku již semena neklíčila. Tímto se *Silene vulgaris* řadí mezi rostliny s nízkou dlouhověkostí semen. Oproti tomu *Silene noctiflora* je rostlinou, jejíž semena mají poměrně vysokou dlouhověkost semen. Semena si udržela dlouhověkost i v 6. roce stráveném v půdě, kdy vyklíčila z 98 %. Nejnižší klíčivost měla tato silenka ve 4. roce, kdy vyklíčila jen z 54 % semen. A však následující dva roky se klíčivost opět zvedla, je možné, že *Silene noctiflora* prochází sekundární dormancí semen. Jak je zde patrné ani tato čeleď nemá shodnou klíčivost a dlouhověkost a to i přes to, že semena obou silenek vypadají vizuálně velmi podobně.

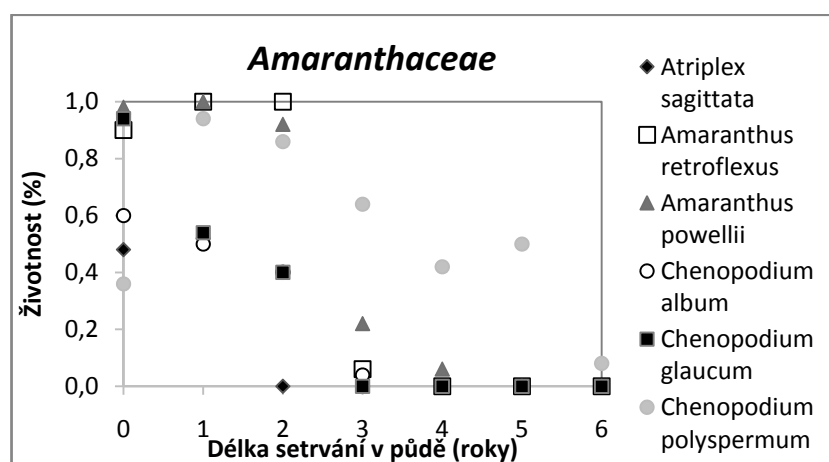
Ani u semen z čeledi *Urticaceae* nebyla prokázána shoda v klíčivosti a dlouhověkosti semen (graf 5f). Nejvyšší klíčivost u druhu *Urtica dioica* byla 94 % vyklíčených semen v 2. roce. U druhu *Urtica urens* byla nejvyšší klíčivost zaznamenána v 1. roce, kdy vyklíčilo 88 % semen. U semen *Urtica urens* byla zaznamenána lehká primární dormance, kdy vyklíčilo jen 54 % semen, na rozdíl od druhu *Urtica dioica*, který v nulovém roce klíčil z 84 %. Druh *Urtica urens* již od prvního roku stráveného v půdě ztrácí svou klíčivost a již se mu nevrací. Není zde prokázána sekundární dormance. Druh *Urtica dioica* ztratí svou klíčivost ve 3. roce stráveném v půdě. A však ve 4. roce opět semena klíčí. Již ne s tak velkým procentuálním zastoupením jako před tím. Oba druhy si v 5. roce ještě zachovávají svou klíčivost druh *Urtica dioica* v 5. roce vyklíčil z 24 % a druh *Urtica urens* vyklíčil z 34 %.

Ani u semen z čeledi *Asteraceae* není klíčivost a dlouhověkost stejná, a však její průběh si je podobný (graf 5g). *Tripleurospermum inodorum* i *Crepis biennis* jsou schopny vyklíčit již v roce, kdy opustí mateřskou rostlinu. Celkově má *Tripleurospermum inodorum* vyšší klíčivost než *Crepis biennis*. To se projevuje již v nulovém roce, kdy druh *Crepis biennis* vyklíčil jen z 56 % oproti druhu *Tripleurospermum inodorum*, který vyklíčil z 84 %. Následující rok, se klíčivost u obou druhů zvyšuje a to u druhu *Crepis biennis* na 76 % a *Tripleurospermum inodorum* na 94 %, což je nejvyšší klíčivost tohoto druhu. Po druhém roce stráveném v půdě se klíčivost *Crepis biennis* zvyšuje na 92 %, což je nejvyšší klíčivost tohoto druhu. Oproti *Tripleurospermum inodorum*, jehož klíčivost se snížila na 92 %.

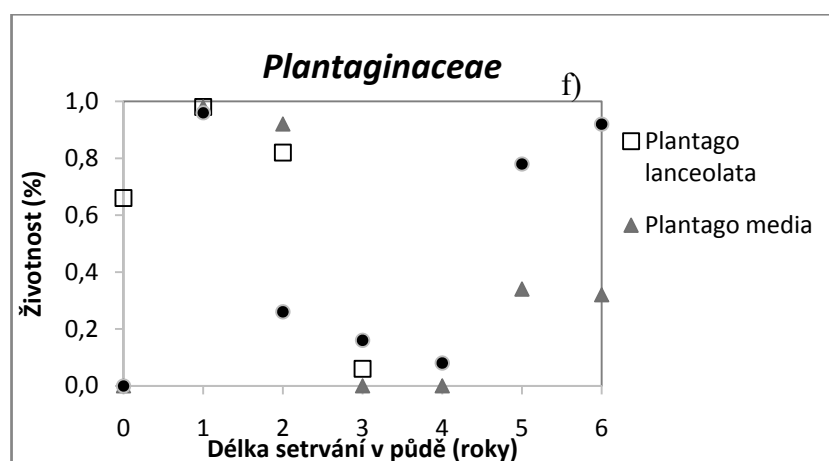
Následující roky, již klíčivost ani jednoho druhu nepřesáhne hranici 20 %. Semena mají poměrně nízkou klíčivost po zbytek let strávených v půdě. Ta by mohla být zapříčiněna měkkými semennými obaly, kterými mohou pronikat do semen mikroorganismy způsobující jejich degradaci.

Graf 5 Vliv setrvání v půdě na životnost semen stejné čeledi. Životnost byla stanovena pomocí testu klíčení a crush testu. Chybové úsečky ukazují 95 % konfidenční intervaly (GLM, binomické rozložení).

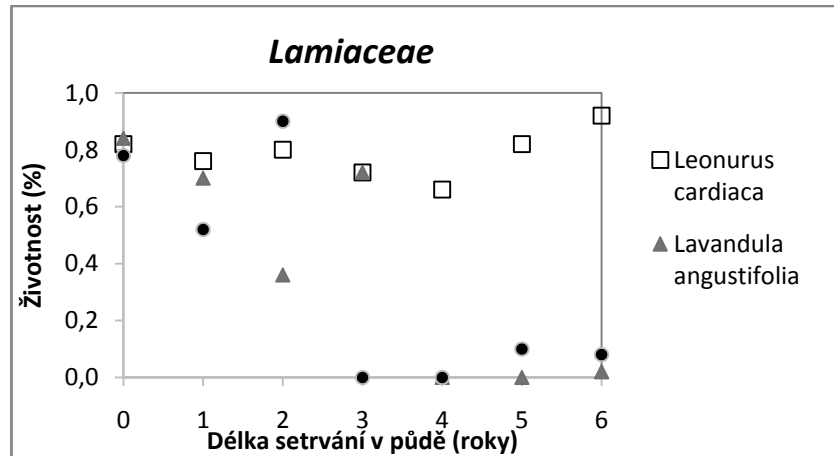
a)



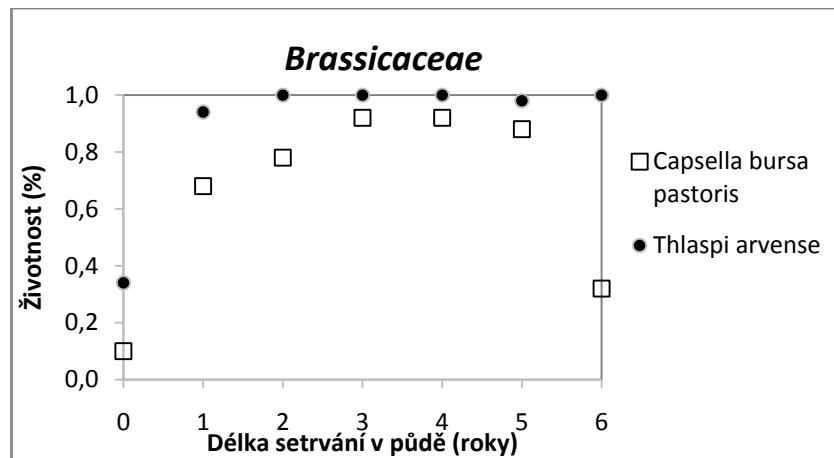
b)



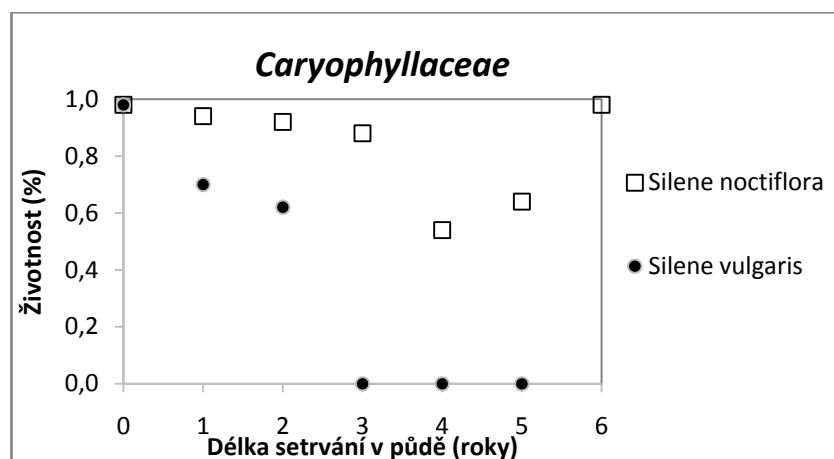
c)



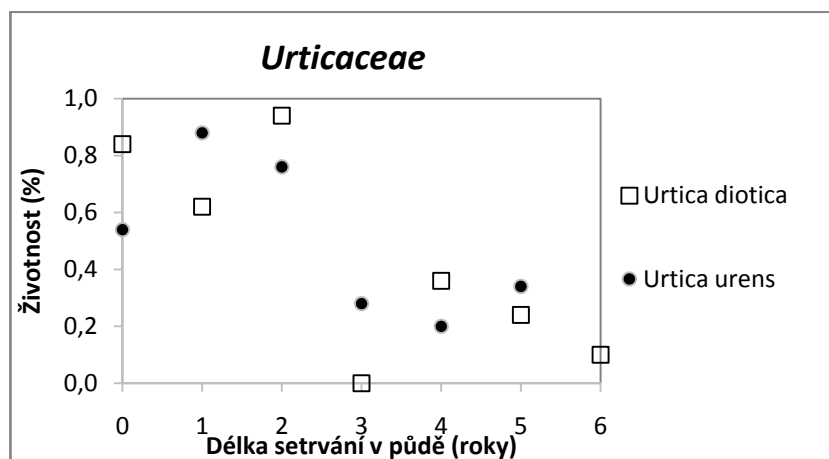
d)



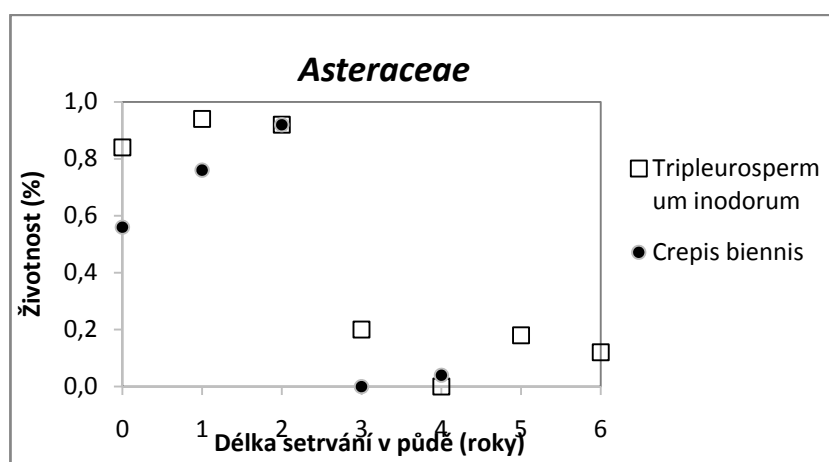
e)



f)



g)



5.4. Výsledky obrazové analýzy

Semena se v čase stráveném v půdě se mění buněk většinou tmavnou.. Na některých semenech jsou změny vidět pouhým okem. Pro změny na jednotlivých druzích byl zvolen slovní popis a zobrazení barevných změn v zeleném, modrém a červeném spektru.

Tabulka 7 Barevné změny na jednotlivých druzích oproti kontrole (R = červené spektrum, G = zelené spektrum, B = modré spektrum, p = průkaznost, t = hodnota testovacího kritéria).

| Druh | R | | G | | B | |
|--------------------------------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|
| | t | P | t | P | t | P |
| <i>Amaranthus powellii</i> | 0,015 | 0,988 | 0,58 | 0,955 | 1,187 | 0,854 |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> | 2,289 | 0,038 | 2,149 | 0,049 | 2,065 | 0,058 |
| <i>Atriplex sagittata</i> | -6,22 | <0,001 | -5,849 | <0,001 | -3,148 | 0,007 |
| <i>Campanula trachelium</i> | -6,983 | <0,001 | -5,531 | <0,001 | -4,851 | <0,001 |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> | -14,75 | <0,001 | -11,521 | <0,001 | -6,969 | <0,001 |
| <i>Crepis biennis</i> | -9,601 | <0,001 | -7,969 | <0,001 | -4,415 | <0,001 |
| <i>Geum urbanum</i> | -1,348 | 0,194 | -1,158 | 0,262 | -0,242 | 0,811 |
| <i>Hyoscyamus niger</i> | -2,941 | 0,011 | -3,319 | 0,005 | -3,867 | 0,002 |
| <i>Hypericum perforatum</i> | -1,36 | 0,12 | -1,02 | 0,291 | -0,822 | 0,425 |
| <i>Chenopodium album</i> | -3,586 | 0,003 | -3,08 | 0,009 | -1,817 | 0,091 |
| <i>Chenopodium glaucum</i> | -7,502 | <0,001 | -6,985 | <0,001 | -4,943 | <0,001 |
| <i>Chenop. polyspermum</i> | -2,392 | 0,031 | -1,389 | 0,187 | -0,243 | 0,812 |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | -0,641 | 0,532 | -0,312 | 0,759 | -0,319 | 0,754 |
| <i>Lycopus europaeus</i> | -1,866 | 0,078 | -0,984 | 0,338 | -0,162 | 0,873 |
| <i>Leonurus cardiaca</i> | -3,734 | 0,001 | -3,657 | 0,002 | -3,097 | 0,006 |
| <i>Plantago lanceolata</i> | 5,619 | <0,001 | -2,553 | 0,025 | -1,523 | 0,153 |
| <i>Plantago major</i> | 0,178 | 0,861 | 0,701 | 0,495 | 0,609 | 0,552 |
| <i>Plantago media</i> | -2,215 | 0,047 | -2,599 | 0,023 | -2,599 | 0,023 |
| <i>Polygonum lapathifolia</i> | 1,159 | 0,266 | 1,432 | 0,174 | 1,022 | 0,324 |
| <i>Portulaca oleracea</i> | 2,123 | 0,052 | 2,206 | 0,045 | 2,264 | 0,04 |
| <i>Silene noctiflora</i> | -1,274 | 0,223 | -0,972 | 0,348 | -0,882 | 0,393 |
| <i>Silene vulgaris</i> | 0,808 | 0,432 | 0,983 | 0,342 | 1,023 | 0,324 |
| <i>Thlaspi arvense</i> | -5,726 | <0,001 | -5,132 | <0,001 | -4,844 | <0,001 |
| <i>Tripleur. inodorum</i> | 1,719 | 0,103 | 2,234 | 0,038 | 3,917 | 0,001 |
| <i>Urtica urens</i> | -5,054 | <0,001 | -5,389 | <0,001 | -6,655 | <0,001 |
| <i>Urtica dioica</i> | -3,799 | 0,001 | -2,873 | 0,01 | -0,523 | 0,607 |

Z tabulky 7 vyplývá, že u většiny semen dochází k barevné změně mezi kontrolou a semeny, která byla v půdě. Tato změna není vidět pouhým okem u většiny semen. Není pravidlem, že semena tmavnou, některá semena naopak světlají. Nedochozí k barevným změnám lineárně v průběhu let, ale skokovitě. Dále je vidět, že změny přicházejí pro každou barvu zvláště a barvy na sobě nejsou závislé.

U semen *Amaranthus powellii* nedochází k žádné viditelné změně v průběhu let kromě praskání semen od 5. roku. Jak můžeme vidět na grafu 6, nedochází k nějak výrazné změně v intenzitě barevného spektra. Malá změna byla prokázána statistickou analýzou (tabulka 7).

U semen *Amaranthus retroflexus* nedochází k žádné viditelné změně v průběhu let. Přesto došlo ke změnám mezi zakopanými semeny a kontrolou (tabulka 7). U semen dochází ke změnám barevného spektra, kdy semena v nulovém roce mají mnohem nižší intenzitu barev než v následujících letech (graf 7).

Semena *Atriplex sagittata* mají při opadu z rostliny na sobě semenný obal, který se již při prvním roce stráveném v půdě ztrácí. Tento obal je shluk buněk světle zelené barvy. Na semenech v průběhu let nejsou viditelné změny. Intenzita barev je v nulovém roce jiná (graf 8), než v ostatních. To je zapříčiněno přítomností semenného obalu. Tím, že semena mají v nulovém roce jinou barvu, dochází k barevné změně oproti kontrole (tabulka 7).

Semena *Campanula trachelinum* jsou v kontrole a v prvním roce stráveném v půdě světlá a mají na povrchu vrstvu buněk, která se v průběhu druhého roku začíná trhat a ve třetím roce se již nevyskytuje. Od třetího roku stráveného v půdě jsou semena tmavá díky ztrátě obalu. Na semenech zvonku kopřivolistého můžeme vidět dvě různé struktury buněk, jedny jsou úzce podlouhlé a druhé jsou kopinaté a souběžné. V obrazové analýze semena zvonku kopřivolistého vyšla nejvyšší intenzita všech barev v nulovém roce. V průběhu dalších let se již barevnost semen nemění (graf 9). K nejvyšším změnám došlo u modrého spektra barev (tabulka 7).

Semena *Capsella bursa-pastoris* jsou z počátku světle hnědá, a však již po prvním roce stráveném v půdě tmavnou. Tmavnutí začíná od semenné stopky. Na semenech je zřetelná pětiúhelníková struktura, která je z počátku lesklá. V průběhu let se tato struktura mění. Není již tak zřetelná a zároveň ztrácí svůj lesk. V horní části semene je semenná stopka, která držela semeno u rostliny, tato vrstva buněk je také obrušována a postupně mizí. Semena po šestém roce stráveném v půdě ztrácejí svůj tvar a jsou značně zdeformovaná. Povrch semen se propadá dovnitř. Semena se scvrkávají. Semena kokošky pastuší tobolek mají nejvyšší intenzitu barev v prvním roce (graf 10). V druhém roce barevná intenzita výrazně propadá. Na tomto druhu je vidět, že není závislost mezi změnou všech třech barev (tabulka 7).

Semena *Crepis biennis* jsou při opadu z rostliny světlé, ale již po prvním roce stráveném v půdě tmavnou. Na svém povrchu mají drobné háčky, které se také při prvním roce stráveném v půdě obušují. Semenné obaly se začínají od špinky odlupovat a odpadají po částech v třetím roce, ale nejedná se o úplný opad semenného obalu. V těchto částech je možné vidět již semeno. Obaly jsou znatelně potrhané. K největšímu ztmavnutí semen dochází v šestém roce, kdy semena jsou již celá černá. V osmém roce v půdě dochází k úplnému rozpadu semen, kdy již nejsou schopné nadále držet při sobě. U semen škardy dvouleté dochází k zvyšování barevné intenzity (graf 11). Sada těchto semen byla vyfotografována na scanovacím mikroskopu, kde jsou vidět změny struktur semen (obraz. příloha).

Semena *Geum urbanum* se v průběhu let strávených v půdě výrazně mění. Semena, která opustí mateřskou rostlinu, mají na svém povrchu trichomy světlé barvy, které jsou v průměru dlouhé 0,8 mm. Semena mají na svém konci zatočený háček pro lepší zachycení na přenašeče semena. Tento háček se stejně jako trichomy během let strávených v půdě mění a v již po druhém roce v půdě jej semena nemají. Semenný obal se začíná výrazně měnit po třetím roce stráveném v půdě, začíná být rozpraskaný a odlupává se. K dalším změnám na semenech dochází v průběhu 8. roku, kdy semena mění svůj tvar a část z nich odpadá. Mění se i jejich tvar. Jejich spodní část již není oblá. Dochází k mírné změně barev, kdy v prvních 3 letech je intenzita nepatrně vyšší (graf 12). Tato nepatrná změna byla prokázána i výpočtem testovacího kritéria (tabulka 7). Ta je zapříčiněna semennými obaly. Sada těchto semen byla vyfotografována na scanovacím mikroskopu, kde jsou vidět změny struktur semen (obraz. příloha).

Semena *Hyoscyamus niger*, která opouštějí rostlinu, jsou mírně světlejší než ta, která setrvala v půdě. Tato hypotéza byla potvrzena i porovnáním oproti kontrole (tabulka 7). Na povrchu semen jsou vlnité struktury, které se v průběhu let výrazně neliší. Na semenech, která byla v půdě, se vyskytují černé kupky, připomínající saze - zřejmě mycelium. Nejvyšší barevnou intenzitu projevují semena v nulovém roce (graf 13), další rok je již intenzita nižší a však postupně narůstá až do 4. roku, kdy zase začíná postupně klesat.

Semena *Hypericum perforatum* se v průběhu let viditelně nemění. Jejich struktura na povrchu semene zůstává stále stejná – plástvovitá. Ve změně RGB nebyly zjištěny žádné významné změny (tabulka 7). V druhém roce je barevná intenzita nižší, ta by mohla být zapříčiněna

nevhodně očištěnými semeny. Dále bylo zjištěno, že intenzita jednotlivých barev se postupně snižuje (graf 14).

Semena *Chenopodium album* mají z počátku na svém povrchu semenný obal, ten se začíná trhat již po opadu z mateřské rostliny. Právě tento obal zapříčiňuje výraznou změnou v RGB (graf 15) a i změnu oproti kontrole (tabulka 7). Po druhém roce stráveném v půdě jsou semena povětšinou bez obalu, ale v jedné variantě se semenný obal objevuje ještě po šestém roce stráveném v půdě.

Semena *Chenopodium glaucum* jsou stejně jako ostatní semena čeledi *Amaranthaceae* z počátku v semenném obalu. Ten se začíná trhat již při odpojení od mateřské rostliny (kontrolní varianta). Po prvním roce semena již obal nemají. Po třetím roce stráveném v půdě, se semena začínají deformovat, ztrácejí svůj kulatý vzhled a struktury se propadají dovnitř semena. Po šestém roce jsou semena již rozpraskaná a otevřená. Semena merlíku sivého mění svou barevnost (tabulka 7). V nulovém roce je intenzita nejvyšší a to díky přítomnosti semenných obalů (graf 16). Od 4. roku intenzita opět narůstá. To je zapříčiněno rozkladem semen, který je zapříčiněn houbovými patogeny, které osídlují jednotlivé semena.

Semena *Chenopodium polyspermum* si udrží svůj semenný obal i přes 6 let strávených v půdě. Barevná intenzita se v jednotlivých spektrech liší (graf 17, tabulka 7). Nejvyšší intenzity dosazuje červené spektrum. Zároveň jsou intenzity v letech velmi různé a to z důvodu různého obsahového zastoupení semenných obalů. Nejnižší intenzitu má poslední, tedy 6. rok. Takto nízká intenzita by mohla být zapříčiněna napadením semene patogenem.

Semena *Lavandula angustifolia* v průběhu let strávených v půdě nejeví viditelné změny. Barevná intenzita je nejvyšší po prvním roce v půdě (graf 18). I v porovnání s kontrolou nemění semena výrazně své barvy (tabulka 7).

Semena *Leonurus cardiaca* jsou z počátku světle hnědá díky semennému obalu, tak se v prvním roce začíná trhat. Na svém horním okraji mají semena trichomy. Trichomy jsou viditelné ještě po prvním roce v půdě. Potom zcela odpadnou. Ve třetím roce dochází k deformacím, otevírání semena a ke ztrátě dalšího semenného obalu. V sedmém roce, dochází k další ztrátě obalu, kdy již můžeme vidět černé semeno s plástvovitou strukturou. V osmém roce jsou již semena velmi deformovaná a mnohdy jim chybí špička. Nejvyšší barevná intenzita byla prokázána v nulovém roce (graf 19). Sada těchto semen byla

vyfotografována na scanovacím mikroskopu, kde jsou vidět změny struktur semen (obraz. příloha).

Semena *Lycopus europaeus* v průběhu let strávených v půdě viditelně tmavnou. Semena mají v místě připojení s rostlinou shluk buněk tzv. čepičku, která postupně odpadá. V osmém roce dochází k deformaci semen, začínají se trhat a části semene začínají odpadat. Nevyšší změna v RGB proběhla ve 2. roce, kdy došla k nejvyššímu poklesu intenzity (graf 20). Sada těchto semen byla vyfotografována na scanovacím mikroskopu, kde jsou vidět změny struktur semen (obraz. příloha).

Semena *Plantago lanceolata* v průběhu let strávených v půdě nemění viditelně barvu. Přesto u červeného spektra došlo k výrazným změnám intenzity barvy oproti kontrole (tabulka 7). V průběhu let se začínají scvrkávat a jsou více vrásčité. Barevná intenzita je nevyšší u semen, které nebyla v půdě (graf 21).

Semena *Plantago major* mají velkou variabilitu ve tvaru. V průběhu let strávených v půdě tmavnou. Ve čtvrtém roce dochází k deformacím, kdy část semen praskla. Barevná intenzita se po prvním roce stráveném v půdě nepatrně zvedla, ale ve 3. roce došlo k jejímu poklesu (graf 22). K barevné změně oproti kontrole došlo u modrého a zeleného spektra stejně (tabulka 7).

Semena *Plantago media* v průběhu let strávených v půdě tmavnou. Ve třetím roce se mění jejich tvar – scvrkávají se a začínají být vrásčité. Na povrchu semen se začínají tvořit v prvním roce černé skvrny, které se zvětšují. V pátém roce se v semenech začínají objevovat díry. Barevná intenzita semen *Plantago media* je nejvyšší v nulovém a posledním roce testování (graf 23).

Semena *Polygonum lapathifolia* po opuštění rostliny mají čepičku se semennou stopkou a přívěsky ve spodní části. Na semenech probíhají barevné změny, kdy se na nich začnou objevovat světlé povlaky, nejdříve malé shluky, které se v průběhu let do sebe vpíjejí až je celé semeno světle hnědé. V šestém roce je již pryč svrchní semenný obal a je vidět další část semene. Barevná intenzita se zvyšuje do 4. roku (graf 24), poté již klesá. Právě ve 4. roce se začínají na semeni objevovat skvrny, které jsou způsobené patogeny.

Na semenech *Portulaca oleracea* v průběhu času se začíná objevovat světle hnědá barva, která se z ostrůvků postupně rozlévá po celém semeni. Pozůstatky po semenné stopce se od

semena oddělují až v šestém roce. Nejvyšší barevnou intenzitu měla semena *Portulaca oleracea* v nulovém roce (graf 25). Od té doby dochází k poklesu barevné intenzity.

Na semenech *Silene vulgaris* se v průběhu času začíná objevovat mléčný povlak, který zesvětluje jinak černé semeno. Na semenu, které opustilo právě mateřskou rostlinu je vidět mnohoúhlá (hvězdicová) struktura, která je později již hůře vidět. Trny, které se nachází na semenu, se výrazně neobrušují. K nejvyššímu propadu intenzity barevného spektra došlo ve 4. roce (graf 26), kdy bylo zřejmé, že semena osídlila nějaká semenokazná houba.

Stejně jako na *Silene noctiflora*, tak i na semenech *Silene vulgaris* se začínají objevovat mléčné skvrny, které se postupně rozpíjejí. Ani u této silenky se trny neobrušují a ani její tvar se v průběhu času nemění. K nejvyšší ztrátě barevné intenzity dochází ve 4. roce (graf 27).

Semena *Thlaspi arvense* v zásadě nemění vzhled svých semen v průběhu let, kdy setrvala v půdě. Hlavním rozdílem mezi semeny, která opustila rostlinu a semeny z půdy je, že ta z půdy jsou mírně pootevřená. Nejvyšší barevná intenzita byla zjištěna u prvního a nulového roku (graf 28). Sada těchto semen byla vyfotografována na scanovacím mikroskopu, kde jsou vidět změny struktur semen (obraz. příloha).

Semena *Tripleurospermum inodorum* jsou v průběhu let velmi deformovaná. Deformace začíná již po druhém roce stráveném v půdě, kdy se část semen odloupává a odpadá. Semena mají na svém povrchu mnoho odštěpených částí. Semeno, které opustí rostlinu, je světlé s černou prohlubní. V průběhu let se tato černá skvrna rozrůstá i na okraje semen. Barevná intenzita se u semen velmi mění a není v ní vidět jakákoliv pravidelnost (graf 29).

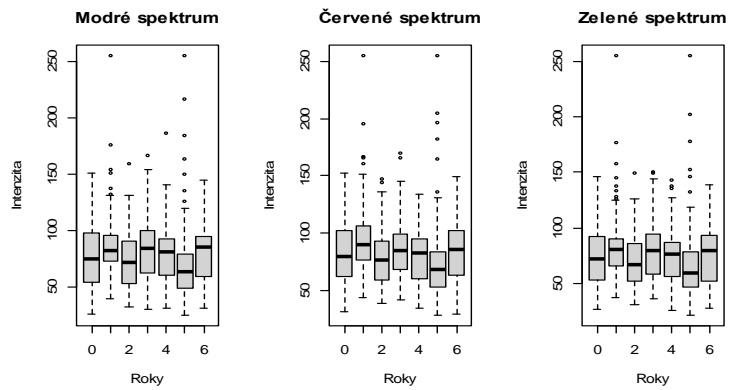
Semena *Urtica dioica* mají na svém povrchu semenný obal, který má plástvovitou strukturu. Semeno, které opustí rostlinu, má semenný obal po celém povrchu a zároveň semennou stopku, kterou již po prvním roce v půdě ztrácí. V průběhu let semeno ztrácí tento semenný obal. Barevná intenzita se v průběhu let strávených v půdě mění (graf 30). Červené a zelené spektrum má stejný průběh, tedy nejvyšší intenzitu v nulovém roce, a další vrchol v 6. roce. V modrém spektru byla nejvyšší intenzita v 6. roce.

Semena *Urtica urens* jsou světlá a mají na svém povrchu tmavé výrůstky. V průběhu let semena tmavnou a na jejich povrchu se začíná objevovat tmavě zbarvená žilnatina a difuzní skvrny. Na povrchu semen, která byla rok a více v půdě, je nepatrně vidět plástvová struktura buněk semenného obalu. Barevná intenzita kopřivy žahavky se mění v průběhu let strávených

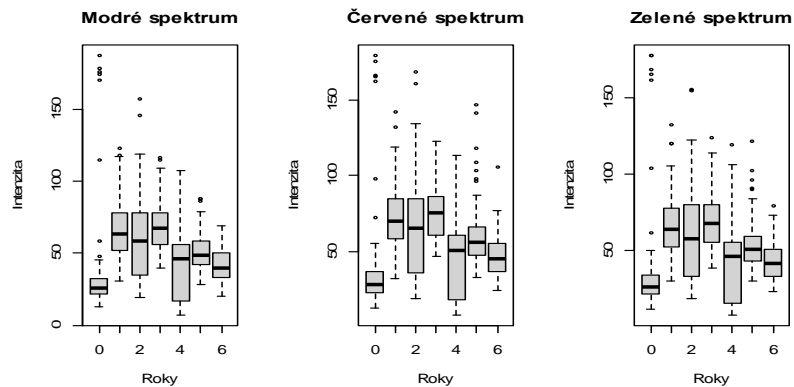
v půdě. Nejvyšší intenzita vyšla u nulového a 5. roku (graf 31). Na semenech, která strávila 5 let v půdě, je silné zbarvení do černa.

Rozdělení barev RGB u jednotlivých druhů

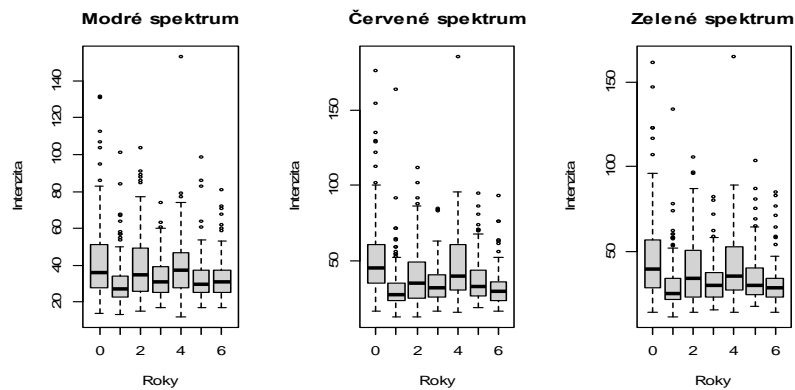
Graf 6 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Amaranthus powellii*



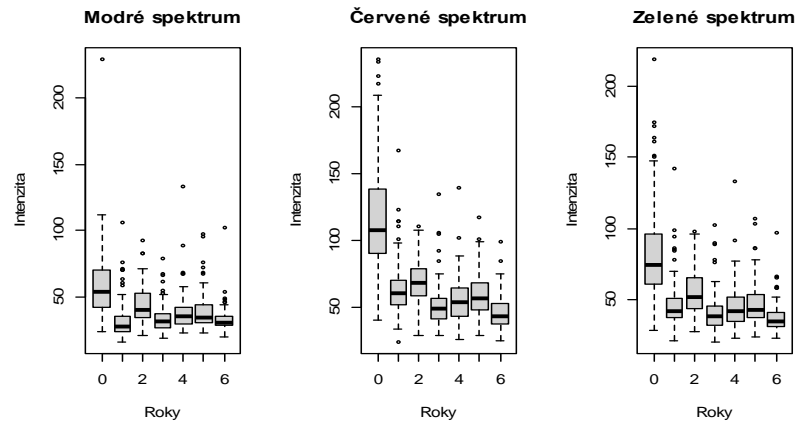
Graf 7 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Amaranthus retroflexus*



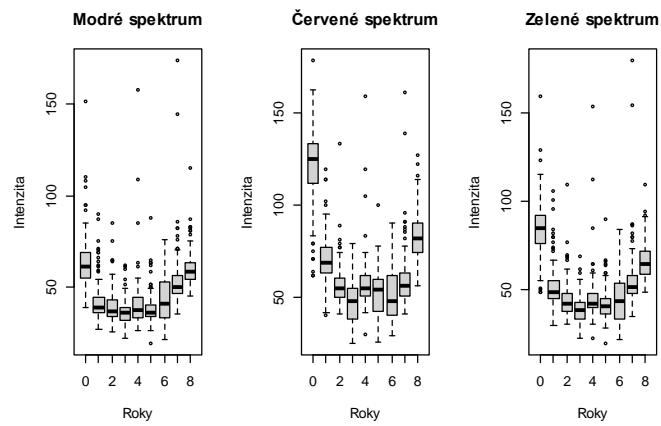
Graf 8 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Atriplex sagittata*



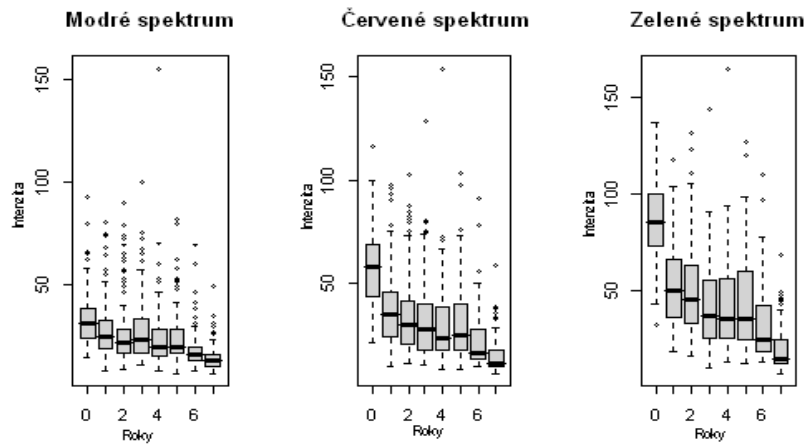
Graf 9 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Campanula trachelinum*



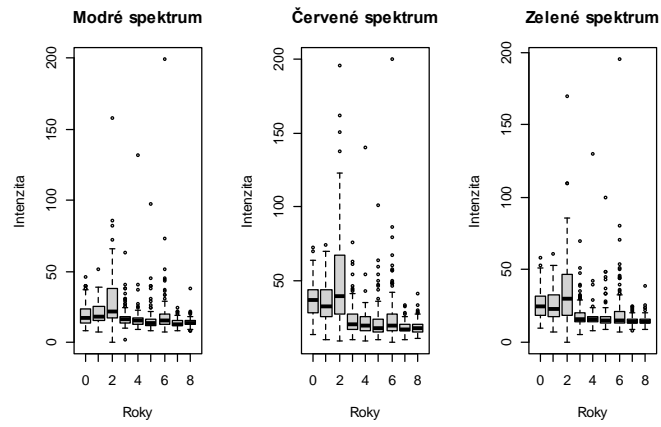
Graf 10 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Capsella bursa-pastoris*



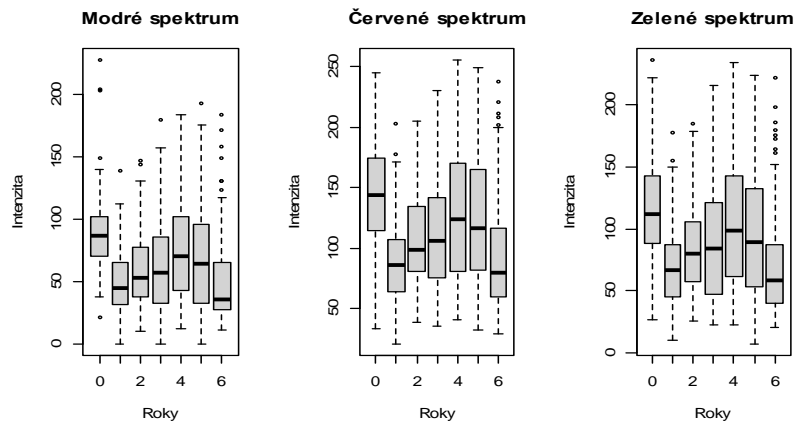
Graf 11 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Crepis biennis*



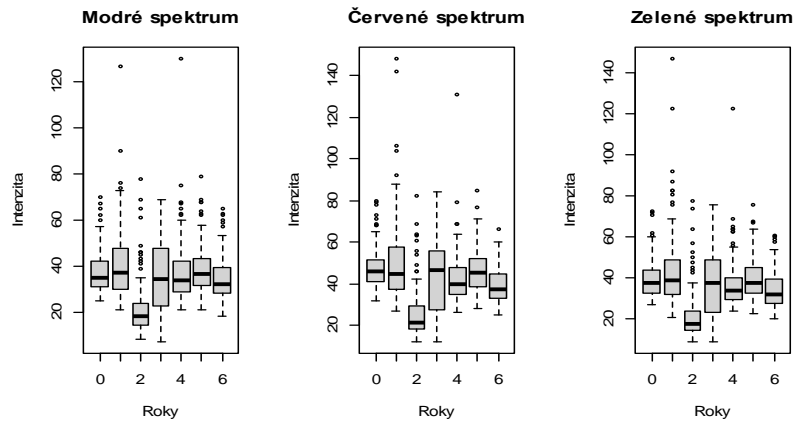
Graf 12 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Geum urbanum*



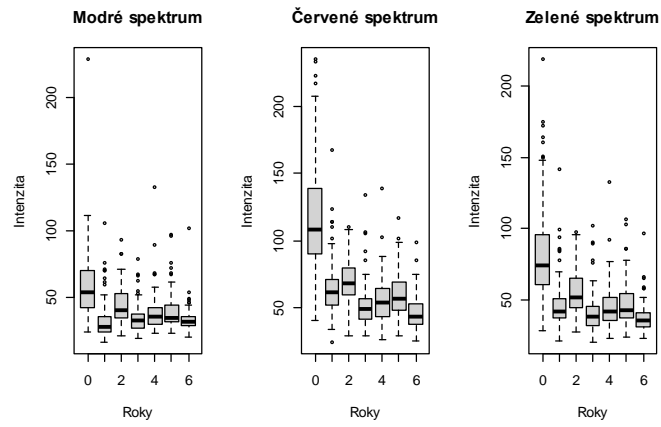
Graf 13 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Hyoscyamus niger*



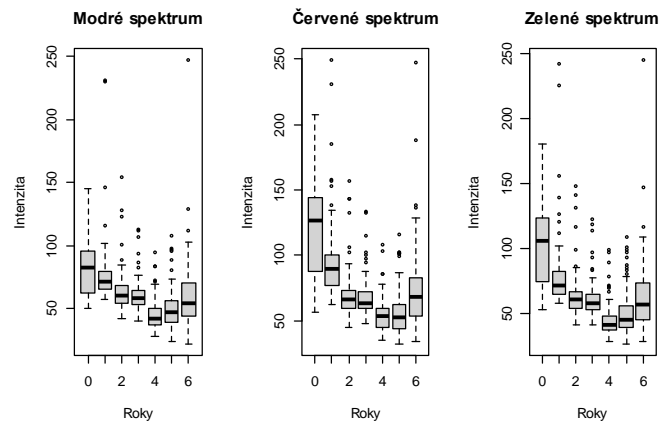
Graf 14 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Hypericum perforatum*



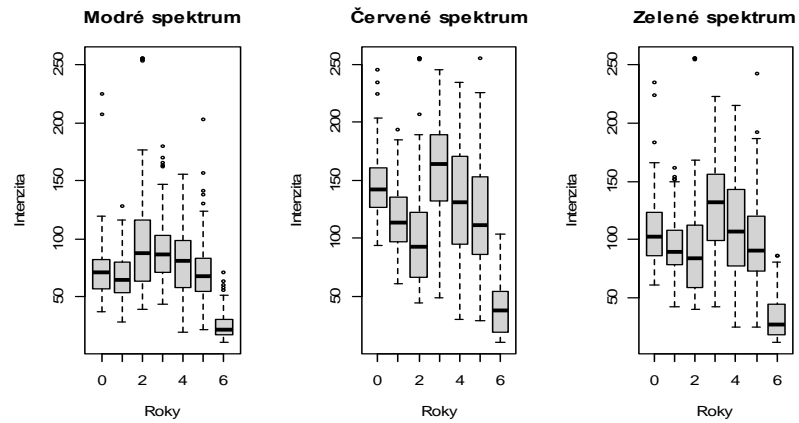
Graf 15 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Chenopodium album*



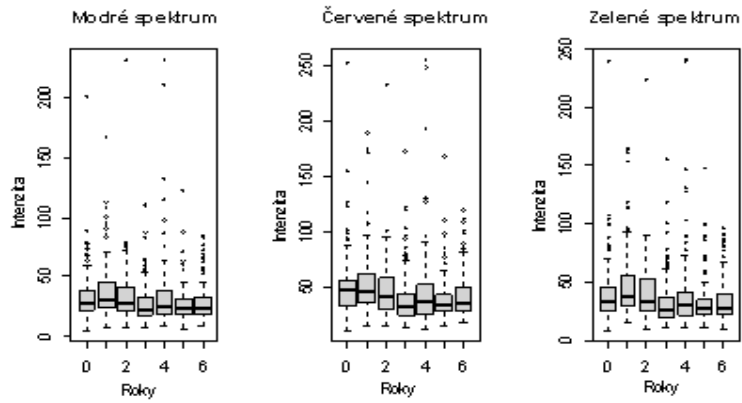
Graf 16 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Chenopodium glaucum*



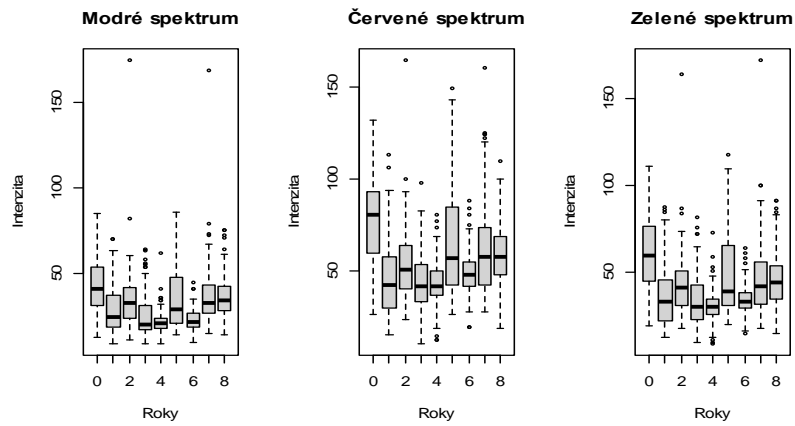
Graf 17 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Chenopodium polyspermum*



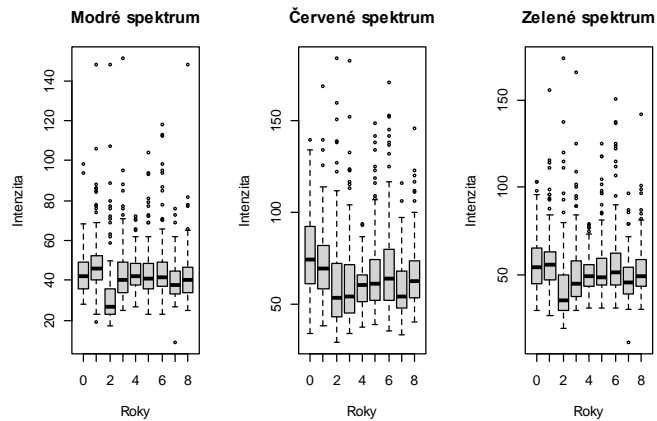
Graf 18 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Lavandula angustifolia*



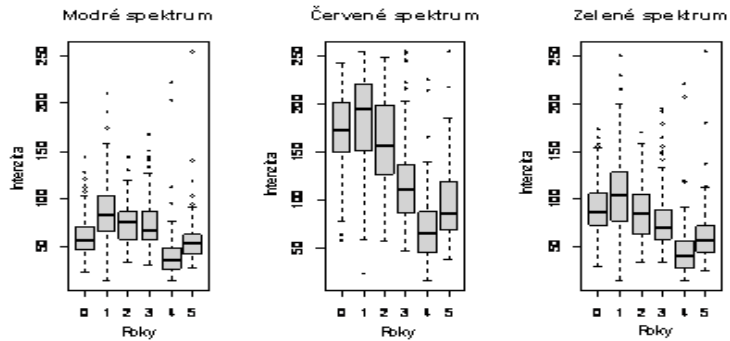
Graf 19 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Leonurus cardiaca*



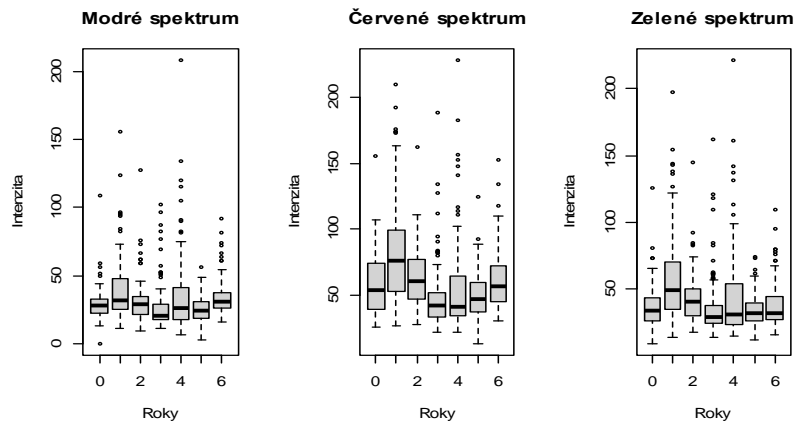
Graf 20 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Lycopus europaeus*



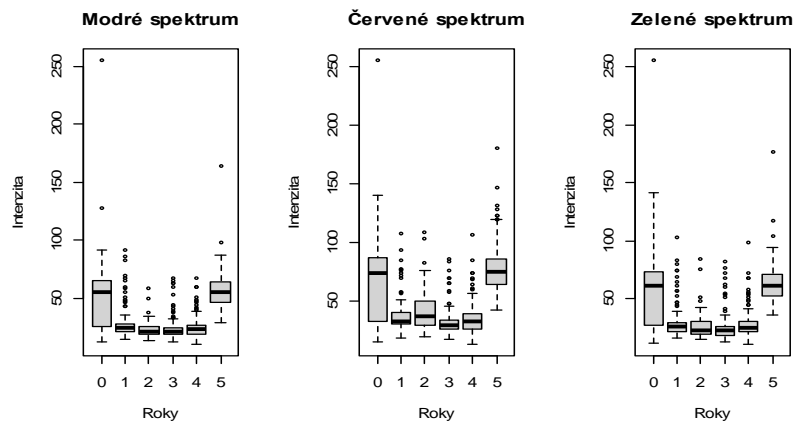
Graf 21 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Plantago lanceolata*



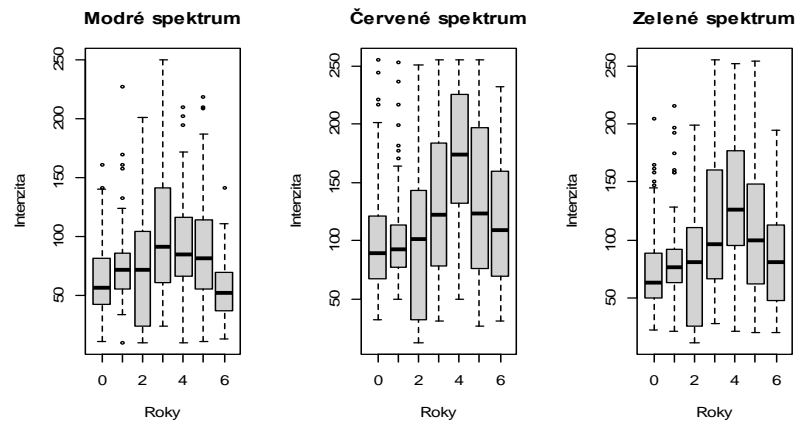
Graf 22 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Plantago major*



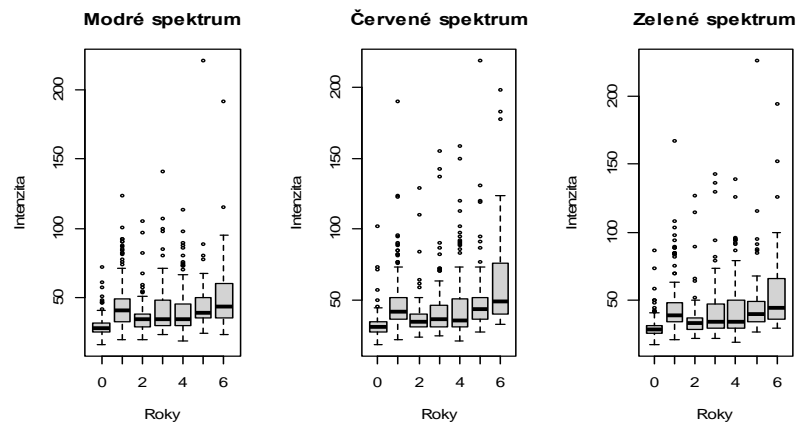
Graf 23 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Plantago media*



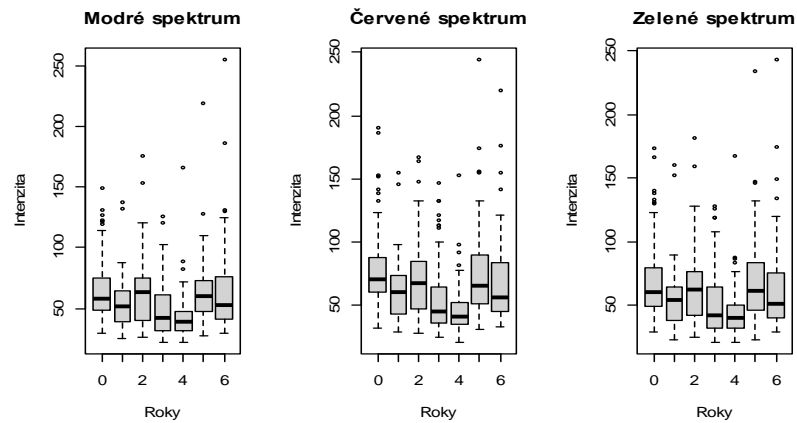
Graf 24 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Polygonum lapathifolia*



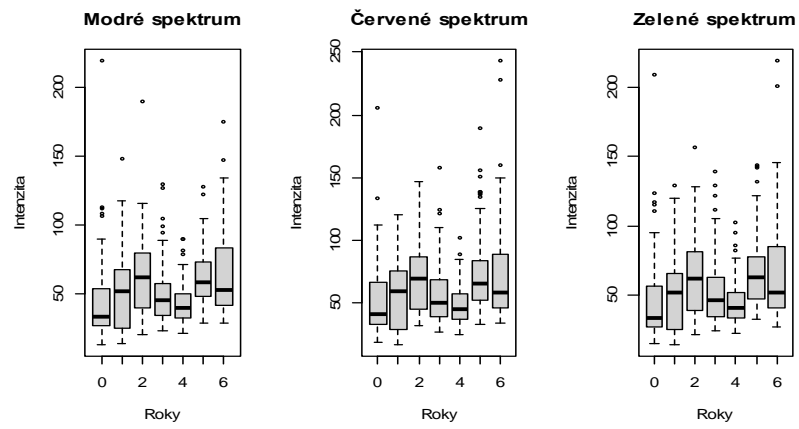
Graf 25 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Portulaca oleracea*



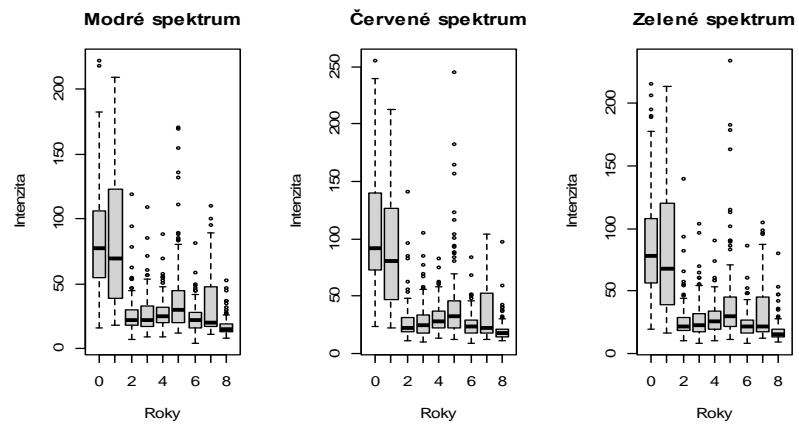
Graf 26 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Silene noctiflora*



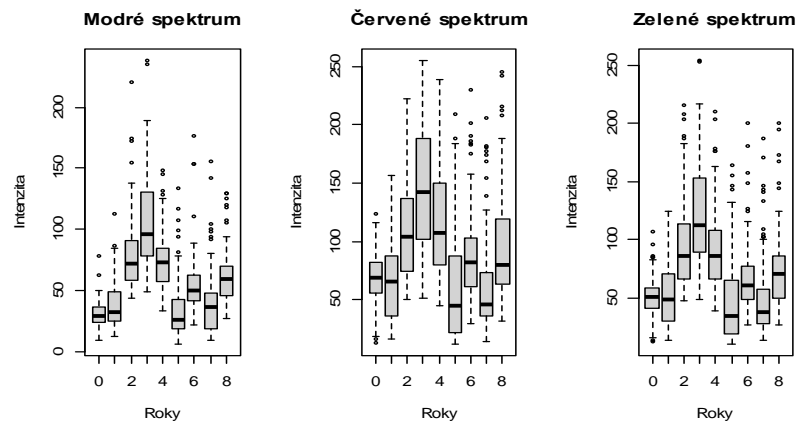
Graf 27 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Silene vulgaris*



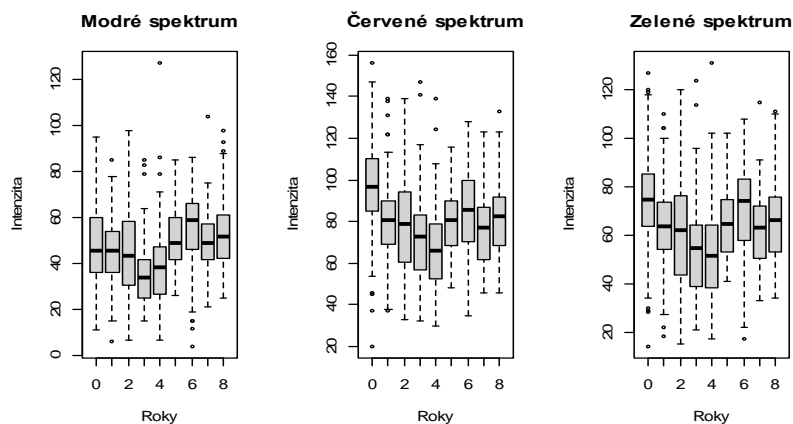
Graf 28 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Thlaspi arvense*



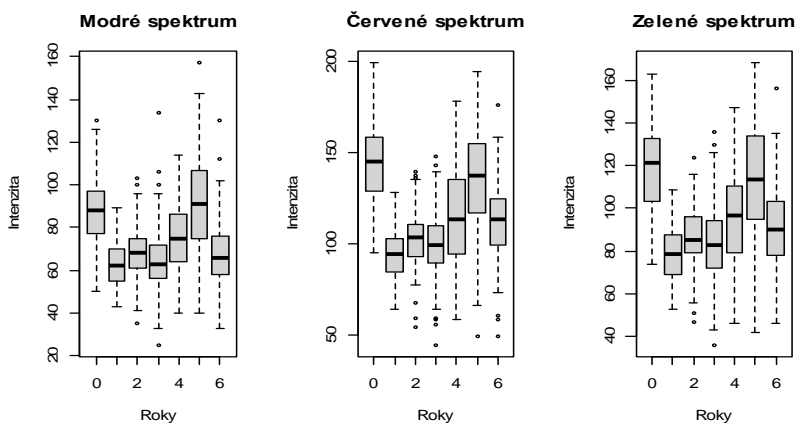
Graf 29 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Tripleurospermum inodorum*



Graf 30 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Urtica dioica*



Graf 31 Změny v jednotlivých částech RGB spektra *Urtica urens*



5.5. Výsledky elektronové mikroskopie

Jednotlivé fotografie semen z elektronového scanovacího mikroskopu jsou v obrazové příloze. Bohužel nebylo možné vyfotografovat všechna semena, neboť laboratoř elektronové mikroskopie procházela celkovou rekonstrukcí. Jednotlivé fotografie jsou tedy spíše demonstračního charakteru, aby bylo vidět, co se semeny děje v průběhu let. Na některých snímcích je vidět hyfa, která proniká do semene. Dále jsou vidět změny ve strukturách jednotlivých semen.

6. Diskuze

Změny životnosti semen v čase se výrazně liší mezi druhy. Nebyla podpořena hypotéza, že by příbuzné druhy vykazovaly podobný trend ve změně životnosti, důvody ke zjištěné variabilitě je tedy třeba hledat jinde. Může se zde jednat o jinou morfologii semen v rámci čeled, semena mohou být menší nebo mají jinou stavbu semenného obalu. Ten může mít také různou tvrdost nebo propustnost pro vodu a plyny. Dále se semena mohou lišit obsahem živin a látek uvnitř semene. Semena jsou dále ovlivněna genetickou výbavou – kdy dědí určité vlastnosti po mateřské rostlině. Jinou možností je různost vyzrállosti pletiv semene.

Výsledky mohou být ovlivněny i faktory pramenícími z vlastního experimentu. U řady druhů byl pozorován nárůst životnosti po několika letech strávených v půdě, i když předcházející roky životnost setrvale klesala. To může být způsobeno odlišnou rychlostí odumírání semen mezi jednotlivými balíčky semen díky např. prostorové variabilitě, ve vlastnostech půdy či složení mikrobiálních společenstev. Potenciálně nevhodné skladování semen při jejich zpracovávání pravděpodobně nemohlo mít na výsledky vliv, jelikož vzorky semen jednoho druhu byly vždy zpracovávány najednou.

Při výpočtech předpokládané životnosti semen byla použita data jak z testu klíčení, tak i crush testu, a výsledky obou testů byly porovnány. Obecně crush test vykazoval v průměru delší přežívání semen, což pramení hlavně z toho, že část živých semen nevyklíčila a tak byla při testu klíčivosti vyhodnocena jako neživá, a mortalita semen tak byla uměle nadhodnocena. V případě dormance kontrolních semen, např. u *Capsella bursa-pastoris*, *Plantago major* či *Plantago media*, hodnoty předpokládané doby životnosti vycházejí nesmyslně a nelze je použít. Z tohoto důvodu je lepší pro odhad životnosti semen používat crush test, nikoliv klíčení.

Dále je potřeba si uvědomit, že výsledky, které vyšly v těchto pokusech, se mohou výrazně měnit od jiných výsledků, neboť semena ovlivňuje velká řada faktorů a jedním z nich je i mateřská rostlina. Tímto není možné opakovat tyto pokusy se všemi stejnými podmínkami. Tyto výsledky nemusí korespondovat s výsledky ostatních autorů (Thompson, 1997; Peti et al, 2016).

6.1. Diskuze o jednotlivých druzích semen

Semena blínu černého (*Hyoscyamus niger* L.) jsou po dozrání málo klíčivá, klíčí až příštím rokem (Mikulka et al., 2005). Semena jsou poměrně dlouho dormantní. Hromadně začínají klíčit až druhým rokem. V půdě zůstávají životná i přes 5 let (Kohout, 1997). Dormance semen byla potvrzena i našimi pokusy, kdy semena neklíčila první dva roky, kdy byla v půdě. Semenné obaly blínu černého jsou tvrdé a málo propustné pro vodu a plyny. Semena ztrácejí inhibitory klíčení během let, lépe klíčí po stratifikaci semene (Círak et al., 2004). V našem pokusu nejvíce klíčila v 6 roce, kdy došlo ke stratifikaci. Dlouhověkost blínu černého by bylo vhodné zkoumat po delší dobu.

Semena heřmánkovce nevonného (*Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch.Bip.) prokazují lehkou vrozenou dormanci (Grime et al., 1990). Semena heřmánkovce nevonného mají lehkou dormanci, která se rychleji ztrácí při chladnějších podmínkách (Bochenek et al., 2010). I v našich pokusech měla semena heřmánkovce lehkou dormanci, kdy vyklíčilo je 84 % semen. Životnost semen je 5 i více let (Kohout, 1997; Mikulka et al., 2005). Semena jsou schopná klíčit po 4 i 6 letech (Woo et al., 1991). I v našich pokusech byla část semen živá i v 8. roce.

Semena jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) po přezimování v půdě semena mají semena vyšší klíčivost (Mikulka et al., 2005) Primární dormance byla potvrzena i v našich pokusech. Semena jitrocele kopinatého dobře klíčí. V úrodné půdě však ztrácejí velmi brzy svou životnost. Přesto si v utužené půdě uchovávají svou klíčivost i několik let (Kohout, 1997). Dlouhověkost semen nebyla prokázána v našich pokusech. Po třetím roce stráveném v půdě vyklíčila jen 3 % semen.

Semena jitrocele prostředního (*Plantago media* L.) nejlépe klíčí na lehké půdě, naopak v ulehých půdách si uchovávají semena jitrocele prostředního svou klíčivost (Kohout, 1997).

Semena jitrocele většího (*Plantago major* L.) jsou dlouhodobě perzistentní v půdní zásobě semen (Grime et al., 1990b). Semena této rostliny vydrží být životná až 39 let (Priestley, 1986). Semena jsou po dozrání dobře klíčivá a mají dlouhodobou klíčivost (Mikulka et al., 2005). V našich pokusech byla prokázána primární dormance semen jitrocele většího. Semena byla zařazena mezi semena s vyšší dlouhověkostí, neboť byla schopná vyklíčit i po 6 letech v půdě.

Semena kokošky pastuší tobolky (*Capsella bursa-pastoris* Medik.) nejsou po vyzrání schopna okamžitě klíčit (Grime et al., 1990). Semena, která projdou nízkými teplotami (okolo 4 °C), se zbaví strigolových analogů, ale ne giberelinů, thiomocoviny a askorbátu, které mají na klíčení kokošky pastuší tobolky velký význam a lépe klíčí (Bradow, 1986). Semena kokošky pastuší tobolky klíčí nepravidelně a mají nepravidelně dlouhou dormanci (Kohout, 1997). I v našich testech byla prokázána primární dormance semen kokošky. Semena nejméně klíčí při teplotě 5 °C, nejvíce naopak klíčí při 25 °C, a při teplotě nad 30 °C se jejich klíčivost zase snižuje (Aksoy et al., 1998). Při našich pokusech byla použita teplota 25/18 °C, která by měla podporovat klíčení a díky tomu měla semena optimální teplotní podmínky. V půdě je jejich životnost až 6 let (Mikulka et al., 2005). Životnost semen v půdě je mnohem vyšší. V našich pokusech vyšla i osmiletá semena jako živá. Semena kokošky pastuší tobolky vydrží být životná až 35 let (Priestley, 1986). V jiném pokusu bylo zjištěno, že po sedmi letech strávených v půdě, bylo životaschopných pouze 5 % semen (Conn et al., 2006). V našich pokusech byl tento výsledek potvrzen, v našich pokusech vyklíčila jen 4 % semen po 7 letech strávených v půdě. V jiném pokusu došlo k 50 % mortalitě již u 5 let starých semen (Aksoy et al., 1998). Tento výsledek nebyl potvrzen našimi pokusy. U 5 let starých semen byla klíčivost 88 %.

Semena kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica* L.) se často dostávají do půdní zásoby semen, kde mají dlouhou životaschopnost. Klíčivost je stimulována světlem a střídajícími se teplotními podmínkami (Grime et al., 1990). Semena tohoto plevelu se dožívají až 5 let a mají poměrně nepravidelnou dormanci (Kohout, 1997). Nažky se v půdě dožívají dva roky (Mikulka et al., 2005). V našich pokusech byl zjištěn cyklus dormancí, kdy ve 3. roce semena vůbec neklíčila, ale přesto byla živá. Semena kopřivy dvoudomé klíčí i po 8 letech a však jejich klíčivost je poměrně nízká 10 – 36 % od 3. roku stráveného v půdě.

Klíčení semen kopřivy žahavky (*Urtica urens* L.) je inhibováno silným ozářením. V našich pokusech byla semena osvětlována po dobu 16 hodin. I tento faktor mohl ovlivnit klíčivost semen. Semena kopřivy žahavky jsou schopná dlouhověkosti, pokud jsou uložena ve větší hloubce půdy, s kterou se již nehýbá (Grime et al., 1990b). V našich pokusech semena vydržela v půdě životaschopná po 5 let, a však jejich klíčivost byla nízká (20 – 34 %). Semena po dozrání klíčí poměrně málo. Nažky vydrží v půdě živé i několik let (Kohout, 1997). I v našich pokusech byla prokázána lehká primární dormance, kdy vyklíčilo jen 54 % semen. V pokusech vyšlo, že semena kopřivy žahavky klíčí nejlépe na podzim. Semena, která

jsou na povrchu půdy a mají světelný prožitek, klíčí lépe než ta, která jsou v půdě (Milberg and Andersson, 1997). Semena kopřivy žahavky klíčí při teplotě více než 3 °C, nejvíce pak klíčí v rozmezí mezi 4 – 22 °C (Lati et al., 2016).

Semena laskavce ohnutého (*Amaranthus retroflexus* L.) jsou jedena z nejčastěji se vyskytujících semen v půdní zásobě semen. Semena jsou po dozrání poměrně málo klíčivá. Hromadně klíčí v následujícím roce (Kohout, 1997). Klíčí až další rok při teplotách 22 – 27 °C (Mikulka et al., 2005). Primární dormance semen nebyla prokázána v našich pokusech, semena klíčila již v nulovém roce. Klíčení tohoto plevelu je zřejmě ovlivňováno i měsícem, kdy bylo semeno z půdy vyňato. Po tříletém zakopání v půdě vyklíčilo na filtračním papíře v Petriho misce celkem 8 % semen v červnu, 19 % semen v srpnu a 30 % semen v říjnu. Klíčení laskavce ohnutého má závislost na přítomnosti ethylenu. Pokud je ethylen přítomný, tak laskavec ohnutý lépe klíčí v laboratorních i skleníkových pokusech, nikoliv však v přirozených podmínkách (Egley, 1990).

V půdě semena laskavce ohnutého vydrží od 1 do 10 let, avšak většina semen ztratí životnost v prvních třech letech (Kohout, 1997). Semena laskavce ohnutého si udrží životnost 3 - 10 let (Mikulka et al., 2005). Semena laskavce ohnutého vydrží v životná až 40 let (Priestley, 1986). Semena laskavce ohnutého po zakopání v zemi a pozdějším vyjmutí klíčí velmi snadno. Klíčivost je přímo úměrná hloubce zakopání. Klíčivost semen laskavce ohnutého je ovlivněna i teplotami. Nejčastěji vyklíčila semena, která byla nechána vyklíčit po době nejnižších teplot. Ztráta klíčivosti semen je exponenciální v čase. Semena nacházející se na povrchu půdy ztrácí životaschopnost mnohem rychleji, než ta která jsou zakopána ve větší hloubce (Omami et al., 1999). V našich pokusech byla dlouhověkost semen laskavce ohnutého stanovena na 3 roky, poté již semena neklíčila a ani v crush testu nevyšla jako živá.

Semena laskavce zelenoklasého (*Amaranthus powellii* S. Watson) mají velmi rozdílnou klíčivost, ta závisí na podmínkách, které měla mateřská rostlina. Semena po 20 týdnech klíčila s variabilitou 9 až 95 %. Semena lépe klíčí za přítomnosti světla nežli za úplné tmy (Frost and Cavers, 1975). Tato klíčivost semen je podobná té, která nám vyšla v testech klíčení. Kdy klíčivost mezi nulovým a prvním rokem byla 98 % a 100 %. Optimální teplota pro klíčení laskavce zelenoklasého je 27 °C, a však elongace kořene začíná již při 14,4 °C (Oryokot et al., 1997). V našich byl použit teplotní režim 25/18 °C. Díky nižší teplotě by mohlo dojít ke snížení klíčivosti semen. Semena laskavce zelenoklasého mají poměrně silnou primární

dormanci. (Costea et al., 2004). Primární dormance laskavce zelenovlasého nebyla prokázána, již v prvním roce vyklíčila semena z 98 %.

Klíčivost lebedy lesklé (*Atriplex sagittata* L.) vydrží po mnoho let (Mandak, 2003). Dlouhověkost jednotlivých typů semen lebedy lesklé je různá. Nedormantní semena klíčí druhým rokem ze 100 % a pak jejich klíčivost rapidně klesá. V našich pokusech semena vyklíčila maximálně z 52 %. Naproti tomu dormantní semena klíčí i po 7 roce. A ani dlouhověkost semen se neprokázala, semena přestala klíčit již po 1. roce. Osmiletá semena mají nejmenší klíčivost ze všech, zřejmě zde došlo k ukončení životaschopnosti.

Semena levandule lékařské (*Lavandula angustifolia* Mill.) jsou schopná vyklíčit i po 10 letech v teplotách 4 °C (Novak et al., 2010). V našich pokusech k tak vysoké dlouhověkosti nedošlo, v 4. roce byla semena již mrtvá. Semena levandule lékařské obsahují antimikrobiální látky (Santos et al., 2015), díky nim by mohla semena přežít v půdě po delší dobu než ostatní semena.

Semena merlíku bílého (*Chenopodium album* L.) mají nesterjné dlouhou dormanci, z tohoto důvodu klíčí velmi nepravidelně. Semena zůstávají životaschopná i přes 5 let (Kohout, 1997). Klíčivost semen merlíku bílého se po přezimování zvyšuje. Životnost semen merlíku bílého je i přes 10 let, někteří autoři uvádějí i přes 40 let (Mikulka et al., 2005). Přes očekávání vysoké dlouhověkosti se v našich pokusech povedlo prokázat dlouhověkost merlíku bílého jen po 3 roky. V pokusech vyšlo, že úmrtnost semen merlíku bílého zakopaných v zemi po 2 měsíce nebyla vyšší než 10 %. Poškození semen v půdě různými činiteli nebyla příliš častá (Davis et al., 2008). V dalším pokusu byla semena tohoto plevelu vložena do síťky a zakopány do hloubky 15 cm. Po sedmi letech bylo života schopných 5 % semen (Conn et al., 2006). V našich pokusech však byla semena mrtvá již po 3. roce. A u vzorků byla prokázána semena mrtvá i crush testem. V pokusech v Pensylvánii byla zakopána semena po dobu 2 let. Rozklad semen byl zkoumán na dvou stanovištích na ekologickém pozemku a na pozemku s konvenčním zemědělstvím. Semena, která byla zakopána v ekologickém pozemku, tedy na pozemku s větší půdní organickou hmotou, se rozkládala rychleji. Z toho vyplývá, že semena laskavců, ztrácejí svoji životaschopnosti mnohem rychleji na pozemcích, kde je vyšší obsah půdní organické hmoty (Ullrich et al., 2011).

Semena merlíku mnohosemenného (*Chenopodium polyspermum* L.) si v půdě dlouho uchovávají svou klíčivost (Mikulka et al., 2005). V našich pokusech byla dlouhověkost merlíku mnohosemenného stanovena na 5 let.

Semena penízku rolního (*Thlaspi arvense* L.) jsou perzistentní součástí půdní zásoby semen (Gesch et al., 2016). Čerstvě dozralá semena klíčí velmi nepravidelně. V půdě může být jejich životnost i několik roků, v závislosti na biologické aktivitě půdy (Kohout, 1997). Životnost semen je v půdě i vyšší než 10 let (Mikulka et al., 2005). V našich pokusech životnost semen po 8 letech zůstává stále stejná. Vyklíčilo 98 % semen. Úmrtnost semen zakopaných v zemi po dobu pokusu (2 měsíce) nebyla vyšší než 10 %. Poškození semen v půdě různými činiteli nebyla příliš častá (Davis et al., 2008). V našich pokusech nevyšlo poškození semen ani v jedné variantě, semena byla živá po dobu delší nežli 2 roky. Semena penízku rolního klíčí na jaře a na podzim, semena prochází dormantními a nedormantními cykly v několika letech. V některých letech má 1 – 6 % semen dormantní stav, kdy nejsou schopna vyklíčit (Baskin and Baskin, 1989). Tato hypotéza se projevila i v našem pokusu s klíčením, kdy některé roky vyklíčilo jen 98 % semen a však následující rok vyklíčilo 100 %. Dále jsou semena dormantní v pozdní zimě a v časném jaře. I u semen penízku rolního dochází k ovlivnění klíčení teplotou. Semena, která byla nedormantní při teplotách 35/20 °C vyklíčila pouze z 15 %, oproti teplotě 25/15 °C, kdy vyklíčilo 100 % semen (Baskin and Baskin, 1989). Stoprocentní klíčivost penízku rolního při teplotách 25°C byla potvrzena i při našem klíčení, které probíhalo při teplotním režimu 25/18 °C. Dále je dormance semen ovlivňována přítomností dusíku. Dusík se schopný odbourat primární dormanci u semen penízku rolního (Milberg, 1997), a však tuto možnost jsme bohužel v našich testech nezkoušeli, ale primární dormance je u těchto semen vysoká, neboť v našich pokusech způsobila primární dormance vyklíčení pouze 34 % semen.

Semena rdesna blešníku (*Polygonum lapathifolia* (L.) Delarbre) si uchovávají dlouhodobou klíčivost (Mikulka et al., 2005). Semena jsou po uzrání málo klíčivá. Hromadně vyklíčí až druhým rokem. V půdě jejich životnost vydrží 5 i více let (Kohout, 1997). V našich pokusech však semena přestala klíčit již po 3. roce stráveném v půdě. Po 13 měsících, které semena strávila v půdě, vyklíčilo 62 % semen (Araki and Washitani, 2000). V našich pokusech byla klíčivost semen starých jeden rok 88 %. Semena rdesna blešníku klíčí stejně za přítomnosti světla i za úplné tmy. Pro zlepšení klíčivosti semen rdesna blešníku je vhodná chladová

stratifikace při 12 °C (Araki and Washitani, 2000), která v našich pokusech proběhla a právě díky ní možná klíčila s tak vysokým procentuálním zastoupením.

Silenka noční (*Silene noctiflora* L.) má pozitivní reakci klíčení na světlo. Při přístupu světla semena klíčí ze 100 %, oproti semenům, která neměla přístup ke světlu. Zde je klíčivost velmi variabilní od 20 % do 100 % vyklíčených semen (Andersson and Milberg, 1998). V našich pokusech měla silenka noční osvětlení po dobu 16 hodin. Díky tomuto osvětlení byla klíčivost 98 % a to v roce, kdy opustila mateřskou rostlinu.

Semena srdečníku obecného (*Leonurus cardiaca* L.) stejně jako celá rostlina obsahují látky, které inhibují růst mikroorganismů (Micota et al., 2016), které by je mohly chránit před napadením mikroorganismy. Z našich pokusů vyplývá, že semena srdečníku mají vysokou dlouhověkost. Jsou schopná vyklíčit ihned po dozrání, ale i po 7 letech strávených v půdě.

Semena škardy dvouleté (*Crepis biennis* L.) mají po dozrání vysokou klíčivost, léty ji postupně ztrácejí (Mikulka et al., 2005). V našich pokusech byla potvrzená klíčivost již po opuštění mateřské rostliny. A však nejvyšší klíčivost byla prokázána po 2. roku stráveném v půdě, kdy vyklíčilo 92 % semen. A však tímto rokem škarda přestává klíčit.

Semena šruchy zelné (*Portulaca oleracea* L.) mají dlouhou životaschopnost, vydrží být až 19 let živé ve skladištních podmínkách a až 40 let v půdě (Feng et al., 2015). Oproti tomu v našich pokusech vyšla semena šruchy zelné již v 3. roce jako mrtvá. Semena po vypadnutí z tobolky zůstávají dormantní, klíčí až druhý rok (Kohout, 1997), a však v našich pokusech toto tvrzení není potvrzeno, neboť šrucha zelná klíčila ihned po opuštění mateřské rostliny. Semena této rostliny jsou životná i 40 let (Priestley, 1986).

Semena třezalky tečkované (*Hypericum perforatum* L.) nejčastěji začínají klíčit na jaře po promytí inhibičních látek z jejich obalů. Semena zůstávají v půdní zásobě semen (Grime et al., 1990b), i v našich pokusech vyšlo, že má třezalka tečkovaná primární dormanci semen. Semena třezalky tečkované mají silnou dormanci a nízkou klíčivost. A však v pokusech byla semena ponořena do chlornanu vápenatého a jejich klíčivost se zvedla na 100 %. Dále byly pro porušení dormance použity kyselina sírová 1,5%, která způsobila vyklíčení 98 % semen a kyselina giberelinová, která způsobila 86 % klíčivost. Dále bylo zjištěno, že semena při zalití vodou, která má 40 a 50 °C se zvýší jejich klíčivost a však při teplotě 60 °C je jejich klíčivost nižší (Mendoza-Urbina et al., 2012). Semena většiny druhů třezalek, mají tvrdé semenné

obaly, třezalka tečkovaná není výjimkou (Camas and Caliskan, 2011). Teplota výrazně nemění počet vyklíčených rostlin, a však přítomnost světla výrazně zvyšuje počet vyklíčených rostlin (Perez-Garcia et al., 2006). V našich pokusech bylo zjištěno, že třezalka tečkovaná je schopná vyklíčit i po 6 letech a však s poměrně malou klíčivostí. Její nejvyšší klíčivost byla 58 % a již od 2. roku je její klíčivost menší než 50 %.

V našich pokusech byla zjištěna 100 % klíčivost zvonku kopřivolistého (*Campanula trachelium* L.) v prvním roce a však někteří autoři uvádějí, že zvonek kopřivolistý má poměrně nízkou klíčivost. V testech v *in vitro* podmínkách bez pomoci fytohormonů vyklíčilo pouze 19 % semen (Seglie et al., 2012). Semena zvonku kopřivolistého se povětšinou nacházejí v půdní zásobě semen lesů a však pro naše pokusy byly zakopány na zemědělské půdě.

6.2. Obrazová analýza

U semen dochází k barevným změnám, největší změny jsou v červeném spektru, naopak nejmenší se zobrazují v modrém spektru. Nejvyšším změnám dochází u *Crepis biennis* a *Capsella bursa-pastoris*, *Urtica urens* a *Campanula trachelium*. Tyto druhy mají světlá semena v kontrole, zřejmě u nich dochází k oxidativním procesům, které vedou k tmavnutí semen.

U semen dochází ke změnám barevnosti nejen procesy, které jsou způsobeny vnitřními podmínkami semen, kdy semena mění poměr látek a prodávají energii. Dále mohou být struktury napadeny patogenními organismy, které je mění, ať už se na jejich povrchu objevují vlákna hub, nebo nějaké povlaky. Při osídlování semene tyto organismy produkují látky, které mají pomoci průniku do semene. Díky tomu je semeno porušeno a mění se.

7. Závěr

Životnost a klíčivost studovaných druhů semen je velmi rozmanitá. Na základě testu klíčení a crush testu byly předvedeny 50 % a 5 % přežívání semen v půdě. Nejděší 50 % životnost měly druhy: *Thlaspi arvense* (Inf.), *Geum urbanum* (10,3 roku) a *Urtica dioica* (10,5 let), nejkratší pak *Atriplex sagittata* (1,2 roku). Semena s nejděší 5 % životností pak měly druhy *Thlaspi arvense* (Inf.), *Plantago major* (24,3 let), *Geum urbanum* (22,7 let). Semena s nejnižší 5 % životností měl druh *Chenopodium glaucum* (2,1 roku). Crush test se ukázal jako vhodnějším testem pro stanovování životnosti semen vzhledem k tomu, že klíčivost je ovlivněna dormancí semen.

Většina semen prošla během doby strávené v půdě barevnými změnami oproti kontrolní variantě. Jednotlivé sloj RGB spektra popisují změny ve zbarvení odlišně. Obrazová analýza se ukázala být vhodným postupem při stanovení barevných změn semen během setrvání v půdě.

8. Seznam literatury

- Aksoy A., Dixon J.M., Hale W.H.G. 1998. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medikus (*Thlaspi bursapastoris* L., *Bursa bursa-pastoris* (L.) Shull, *Bursa pastoris* (L.) Weber). *Journal of Ecology*. 86. 171-186.
- Alam M.A., Juraimi A.S., Rafii M.Y., Hamid A.A., Aslani F. 2014. Screening of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions for High Salt Tolerance. *Scientific World Journal*. 12.
- Andersson L., Milberg P. 1998. Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. *Seed Science Research*. 8. 29-38.
- Araki S., Washitani I. 2000. Seed dormancy/germination traits of seven *Persicaria* species and their implication in soil seed-bank strategy. *Ecological Research*. 15. 33-46.
- Baeten L., Vanhellefont M., De Frenne P., Hermy M., Verheyen K. 2010. The phosphorus legacy of former agricultural land use can affect the production of germinable seeds in forest herbs. *Ecoscience*. 17. 365-371.
- Baskin J.M., Baskin C.C. 1989. Role of temperature in regulating timing of germination in soil seed reserves of *Thlaspi arvense*. *Weed Research*. 29. 317-326.
- Begon M., Harper J.L., Townsend C.R. 1997. *Ekologie - jedinci, populace a společenstva*. Vydavatelství Univerzity Palackého. Olomouc. s. 949. ISBN: 8070676957.
- Bláha L., Hnilička F. 2006. Význam vlastností kořenů a semen pro odolnost rostlin vůči biotickým stresorům. *Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU. Praha*. s. 536. ISBN: 8086555852.
- Bochenek A., Golaszewski J., Gielwanowska I. 2010. Hydrotime model analysis of *Matricaria maritima* ssp *inodora* seed dormancy. *Plant Species Biology*. 25. 136-148.
- Borza J.K., Westerman P.R., Liebman M. 2007. Comparing estimates of seed viability in three foxtail (*Setaria*) species using the imbibed seed crush test with and without additional tetrazolium testing. *Weed Technology*. 21. 518-522.
- Bradlow J.M. 1986. Germination promotion in dormant Shepherdspurse (*Capsella bursa-pastoris*) seeds by strigolanalogs and other stimulants. *Weed Science*. 34. 1-7.

- Bringezu K., Lichtenberger O., Leopold I., Neumann D. 1999. Heavy metal tolerance of *Silene vulgaris*. *Journal of Plant Physiology*. 154. 536-546.
- Camas N., Caliskan O. 2011. Breaking of seed dormancy in *Hypericum leptophyllum* Hochst., an endemic Turkish species. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5. 6968-6971.
- Cardina J., Regnier E., Harrison K. 1991. Long- term tillage effects on seed banks in 3 Ohio soils. *Weed Science*. 39. 186-194.
- Cirak C., Kevseroglu K., Saglam B. 2004. Physical and physiological dormancy in black henbane (*Hyoscyamus niger* L.) seeds. *Journal of Plant Biology*. 47. 391-395.
- Conn J.S., Beattie K.L., Blanchard A. 2006. Seed viability and dormancy of 17 weed species after 19.7 years of burial in Alaska. *Weed Science*. 54. 464-470.
- Copeland L.O., Mc Donald M.B. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Springer. New York. p. 488. ISBN: 0792373227.
- Costea M., Weaver S.E., Tardif F.J. 2004. The biology of Canadian weeds. 130. *Amaranthus retroflexus* L., *A-powellii* S. Watson and *A-hybridus* L. *Canadian Journal of Plant Science*. 84. 631-668.
- Crawley M.J. 2007. *The R Book*. John Wiley & Sons. England. p. 1076. ISBN: 0470973927.
- Dadkhah A. 2013. Phytotoxic potential of sugar beet (*Beta vulgaris*) and eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) to control purslane (*Portulaca oleracea*) weed. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*. 63. 46-51.
- Davis A.S., Schutte B.J., Iannuzzi J., Renner K.A. 2008. Chemical and physical defense of weed seeds in relation to soil seedbank persistence. *Weed Science*. 56. 676-684.
- Dostál J. 1989a. *Nová květena ČSSR 2*. Academia. Praha.s.1552. ISBN: 802000095.
- Dostál J. 1989b. *Nová květena ČSSR 1*. Academia.Praha. s. 1548. ISBN:8020009.
- Egley G.H. 1990. Ethephon reduction of redroot pigweed (*Amaranthus-retroflexus*) seed populations. *Weed Technology*. 4. 808-813.

- Eycott A.E., Watkinson A.R., Dolman P.M. 2006. The soil seedbank of a lowland conifer forest: The impacts of clear-fell management and implications for heathland restoration. *Forest Ecology and Management*. 237. 280-289.
- Feng L., Chen G.Q., Tian X.S., Yang H.M., Yue M.F., Yang, C.H. 2015. The hotter the weather, the greater the infestation of *Portulaca oleracea*: opportunistic life-history traits in a serious weed. *Weed Research*. 55. 396-405.
- Fernandez J.A., Navarro A., Vicente M.J., Penapareja D., Plana V. 2008. Effect of seed germination methods on seedling emergence and earliness of purslane (*Portulaca oleracea* L.) cultivars in a hydroponic floating system. *Proceedings of the Ivth International Symposium on Seed, Transplant and Stand Establishment of Horticultural Crops: Translating Seed and Seedling Physiology into Technology*. 207-212.
- Frost R.A., Cavers P.B. 1975. Ecology of pigweeds (*Amaranthus*) in Ontario. 1. Interspecific and intraspecific variation in seed-germination among local collections of *Amaranthus powellii* and *Amaranthus retroflexus*. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*. 53. 1276-1284.
- Gesch R.W., Royo-Esnal A., Edo-Tena E., Recasens J., Isbell T.A., Forcella F. 2016. Growth environment but not seed position on the parent plant affect seed germination of two *Thlaspi arvense* L. populations. *Industrial Crops and Products*. 84. 241-247.
- Grime J.P., Hodgson J.G., Hunt, R. 1990. The abridged comparative plant ecology. Chapman&Hall.London.p. 403. ISBN:0412532506
- Harper, J.L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press. London. p. 892. ISBN: 0123258502.
- Honek A., Martinkova Z., Jarosik V. 1999. Annual cycles of germinability and differences between primary and secondary dormancy in buried seeds of *Echinochloa crus-galli*. *Weed Research* .39. 69-79.
- Houba M., Hosnedl V., Prokinová E., Pazdera J. 2002. *Osivo a sadba*. Profi Press. Praha.s. 204. ISBN: 8090241360.
- Hrouda L., Skalický V. 2003. *Květěna České republiky 2*. Academia. Praha. s. 504. ISBN: 8020010890.

- Jursík M., Holec J., Hamouz P. 2011. Plevelé: biologie a regulace. Kurent. České Budějovice. s. 232. ISBN: 9788087111277.
- Jyoti, Malik C.P. 2013. Seed deterioration: A review International Journal of Life Sciences biotechnology and Pharma Research.1. 15 – 17.
- Kohout V. 1997. Plevelé polí a zahrad. Agrospoj. Praha. s. 233. ISBN: 9788086726342.
- Kremer R. J. 1993. Managements of weed seed banks with microorganisms. Ecological Applications. 3. 42-52.
- Kubát K., Hrouda L., Chrtek J., Kaplan Z., Kirschner, Štěpánek J. 2002. Klíč ke květeně České republiky. Academia. Praha. s. 928. ISBN: 8020008365.
- Kurova J. 2016. The impact of soil properties and forest stand age on the soil seed bank. Folia Geobotanica. 51. 27-37.
- Lacko-Bartosova M., Minar M., Vranovska Z., Strasser D. 2000. Weed seed bank in ecological and integrated farming system. Rostlinna Vyroba. 46. 319-324.
- Lati R.N., Shem-Tov S., Fennimore S.A. 2016. Burning Nettle (*Urtica urens*) Germination and Seedbank Characteristics in Coastal California. Weed Science. 64. 664-672.
- Li X., Jiang D., Zhou Q., Oshida, T. 2014. Soil seed bank characteristics beneath an age sequence of caragana microphylla shrubs in the Horqin sandy land region of Northeastern China. Land Degradation & Development. 25. 236-243.
- Lukáš J., Novotný D., Lipavský J., Kůdela V., Pánková I., Kumar J., and Stejskal V. 2008. Využití obrazové analýzy v rostlinolékařské praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. s. 82. ISBN: 9788087011690.
- Lutman P.J.W., Cussans G.W., Wright K.J., Wilson B.J., Wright G.M., Lawson H.M. 2002. The persistence of seeds of 16 weed species over six years in two arable fields. Weed Research. 42. 231-241.
- Mandak B. 2003. Germination requirements of invasive and non-invasive *Atriplex* species: a comparative study. Flora. 198. 45-54.

- Mandak B., Holmanova S. 2004. The effect of fruit age on seed germinability of a heterocarpic species, *Atriplex sagittata*. *Plant Biology*. 6. 715-720.
- Mandak B., Pysek P. 1999. How does density and nutrient stress affect allometry and fruit production in the heterocarpic species *Atriplex sagittata* (Chenopodiaceae)? *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*. 77. 1106-1119.
- Martinkova Z., Saska P., Honek A. 2006. Consumption of fresh and buried seed by ground beetles (Coleoptera : Carabidae). *European Journal of Entomology*. 103. 361-364.
- Mendoza-Urbina F.A., Gutierrez-Miceli F.A., Ayora-Talavera T.R., Rincon-Rosales R. 2012. Scarification of seeds of *Hypericum silenoides* Juss. and its effect on germination. *Gayana Botanica*. 69. 1-6.
- Micota B., Sadowska B., Podsedek A., Paszkiewicz M., Sosnowska D., Rozalska B. 2016. Is it true that plant-derived polyphenols are always beneficial for the human? In vitro study on *Leonurus cardiaca* extract properties in the context of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. *Journal of Medical Microbiology*. 65. 1171-1181.
- Mikulka J., Kneifelová M., Martinková Z., Soukup J., Uhlík, J. 2005. *Plevelné rostliny*. Profi Press. Praha. s. 148. ISBN: 8086726029.
- Milberg P. 1997. Weed seed germination after short-term light exposure: Germination rate, photon fluence response and interaction with nitrate. *Weed Research*. 37. 157-164.
- Milberg P., Andersson L. 1997. Seasonal variation in dormancy and light sensitivity in buried seeds of eight annual weed species. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*. 75. 1998-2004.
- Mondoni A., Orsenigo S., Dona M., Balestrazzi A., Probert R.J., Hay F.R., Petraglia A., Abeli T. 2014. Environmentally induced transgenerational changes in seed longevity: maternal and genetic influence. *Annals of Botany*. 113. 1257-1263.
- Novak I., Riba Z., Kalisko A., Ferenczy A., Sarosi S. 2010. Investigation of the germination capacity of some medicinal plant species after ten years of cold-storage. *Zeitschrift Fur Arznei- & Gewurzpflanzen*. 15. 76-80.

Omami E.N., Haigh A.M., Medd R.W., Nicol, H.I. 1999. Changes in germinability, dormancy and viability of *Amaranthus retroflexus* as affected by depth and duration of burial. *Weed Research*. 39, 345-354.

Oryokot J.O.E., Murphy S.D., Thomas A.G., Swanton C.J. 1997. Temperature- and moisture-dependent models of seed germination and shoot elongation in green and redroot pigweed (*Amaranthus powellii*, A-*retroflexus*). *Weed Science*. 45. 488-496.

Pekár S., Brabec M. 2009. *Moderní analýza biologických dat 1*. Scientia. Praha. s.224.ISBN: 9788086960449.

Perez-Garcia F., Huertas M., Mora E., Pena B., Varela F., Gonzalez-Benito M.E. 2006. *Hypericum perforatum* L. Seed germination: interpopulation variation and effect of light, temperature, presowing treatments and seed desiccation. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53. 1187-1198.

Peti E., Schellengerger J., Nemeth G., M8ln8si Csiymadia, Oláh I., Torok K., Czobel Sz., Baktay B. 2016. Presentation of the Husseed – a seed weight and germination diabase of the pannonian flora – through analysing forms and social behaviour types. *Applied ecology and environmental research*. 15. 225 – 244.

Plue J., De Frenne P., Acharya K., Brunet J., Chabrierie O., Decocq G., Diekmann M., Graae B.J., Heinken T., Hermy M. 2013. Climatic control of forest herb seed banks along a latitudinal gradient. *Global Ecology and Biogeography*. 22. 1106-1117.

Potyšová H. 2014. *Metodika zkoušení osiva a sadby*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Praha. s. 303.

Pourrat Y., Jacques R. 1975. Influence of photoperiodic conditions received by mother plant on morphological and physiological characteristics of *Chenopodium polyspermum* seed. *Plant Science Letters*. 4. 273-279.

Priestley D.A. 1986. *Seed Aging: Implications for Seed Storage and Persistence in the Soil*. Comstock Pub Assoc. New York.p. 304. ISBN: 0801418658.

Procházka S. 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia. Praha. s. 484. ISBN: 8020005862.

Procházka S., Šebánek J. 1997. *Regulátory rostlinného růstu*. Akademie věd České

republiky. Praha. s. 395. ISBN: ISBN: 8020005978.

Rezvani M., Zaefarian F., Amini V. 2014. Effects of chemical treatments and environmental factors on seed dormancy and germination of shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic.). *Acta Botanica Brasilica*. 28. 495-501.

Santos A., Gaivao I., Leal F. 2015. Micropropagation of *Calendula officinalis* and *Lavandula angustifolia* for Genotoxicity and Antigenotoxicity Studies. VIII International Symposium on in Vitro Culture and Horticultural Breeding. 1083. 67-73.

Seglie L., Scariot V., Larcher F., Devecchi M., Chiavazza P.M. 2012. In vitro seed germination and seedling propagation in *Campanula* spp. *Plant Biosystems*. 146. 15-23.

Shelar V.R. 2008. Role of mechanical damage in deterioration of soybean seed quality during storage- a review. *Agric. Rev.* 1. 177 - 184.

SPSS I. 2000. *SigmaScan Pro 5.0 for Windows User's Manual*. SPSS. Chicago. p. 422. ISBN: 9781568272610.

Thompson K., Bakker J., Bekker R. 1997. *The soil seed banks of North West Europe: methodology, destiny and longevity*. Cambridge University Press. London. p. 276. ISBN: 0521495199.

Thompson K., Band S.R., Hodgson J.G. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology*. 7. 236-241.

Thompson P.A. 1969. Germination of *Lycopus europaeus* L. In response to fluctuating temperatures and light. *Journal of Experimental Botany*. 20. 1-7.

Tompkins D.K., Chaw D., Abiola A.T. 1998. Effect of windrow composting on weed seed germination and viability. *Compost Science & Utilization*. 6. 30-34.

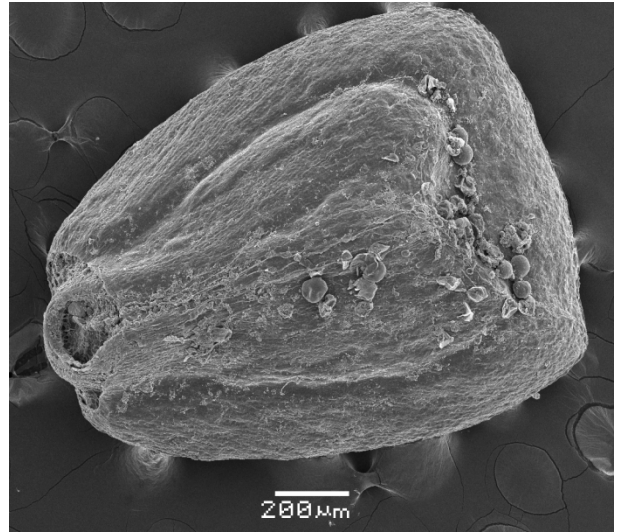
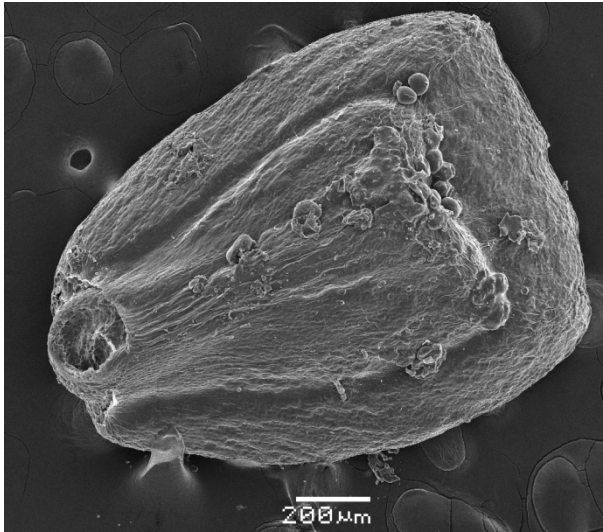
Ullrich S.D., Buyer J.S., Cavigelli M.A., Seidel R., Teasdale J.R. 2011. Weed Seed Persistence and Microbial Abundance in Long-Term Organic and Conventional Cropping Systems. *Weed Science*. 59. 202-209.

Uremis I., Arslan M., Sangun M.K. 2009. Herbicidal Activity of Essential Oils on the Germination of Some Problem Weeds. *Asian Journal of Chemistry*. 21. 3199-3210.

- Van Mourik T.A., Stomph T.J., Murdoch A.J. 2005. Why high seed densities within buried mesh bags may overestimate depletion rates of soil seed banks. *Journal of Applied Ecology*. 42. 299-305.
- Verma S.S., Verma P.K., Verma U. 2014. Standardization of seed germination technique in Khurasani-ajavayan (*Hyoscyamus niger*) seeds. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 84. 1382-1385.
- Vogt K., Rasran L., Jensen K. 2006. Seed deposition in drift lines during an extreme flooding event - Evidence for hydrochorous dispersal? *Basic and Applied Ecology*. 7. 422-432.
- Wang H.L., Wang L., Tian C.Y., Huang Z.Y. 2012. Germination dimorphism in *Suaeda acuminata*: A new combination of dormancy types for heteromorphic seeds. *South African Journal of Botany*. 78. 270-275.
- Williams D.B., Carter C. *Transmission electron microscopy: a textbook for materials science*. Springer. New York. p. 760. ISBN: 9780387765006.
- Wisskirchen R. 2006. An experimental study on the growth and flowering of riparian pioneer plants under long- and short-day conditions. *Flora*. 201. 3-23.
- Woo S.L., Thomas A.G., Peschken D.P., Bowes G.G., Douglas D.W., Harms V.L., McClay A.S. 1991. The biology of Canadian weeds.99. *Matricaria perforata* (Asteraceae). *Canadian Journal of Plant Science*. 71. 1101-1119.
- Yang F., Baskin J.M., Baskin C.C., Yang X.J., Cao D.C., Huang Z.Y. 2015. Effects of germination time on seed morph ratio in a seed-dimorphic species and possible ecological significance. *Annals of Botany*. 115. 137-145.

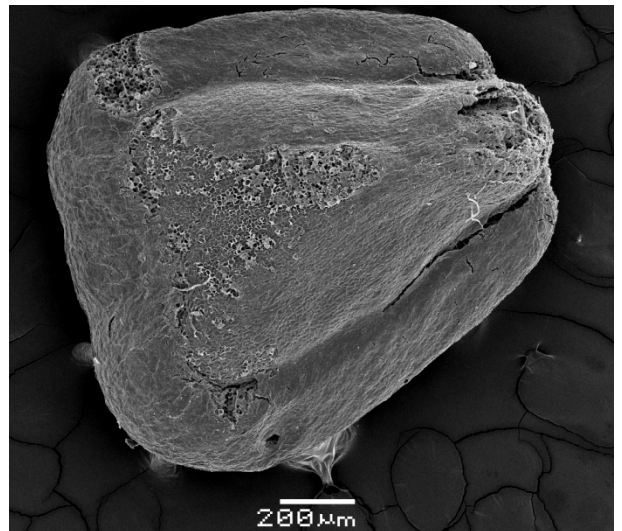
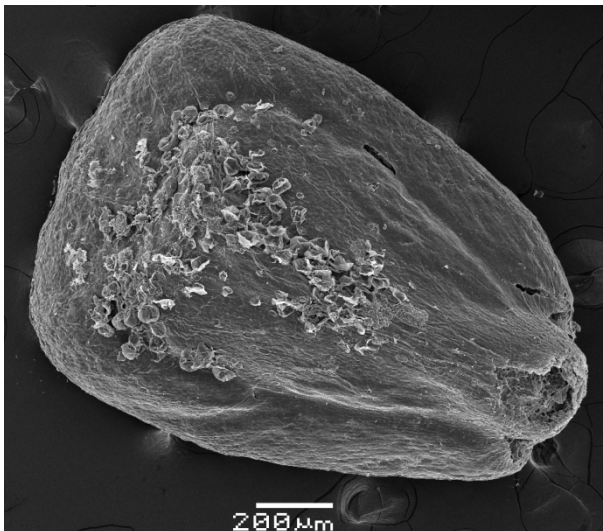
9. Fotografie ze scanovacího mikroskopu

Semena karbince evropského (*Lycopus europaeus* L.) a jejich změny v průběhu let



Kontrolní varianta

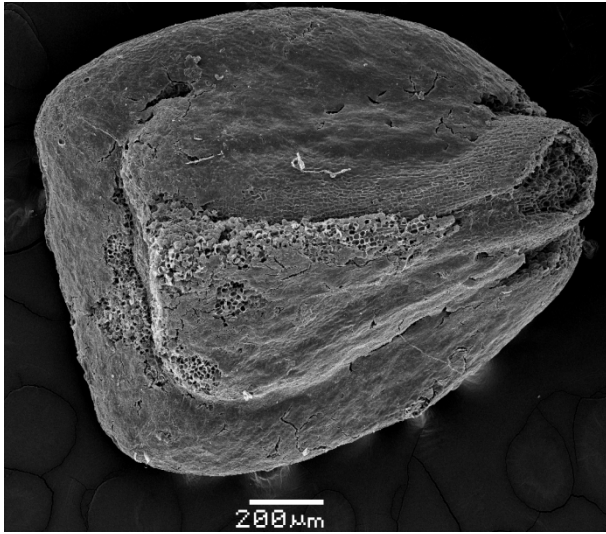
1. rok



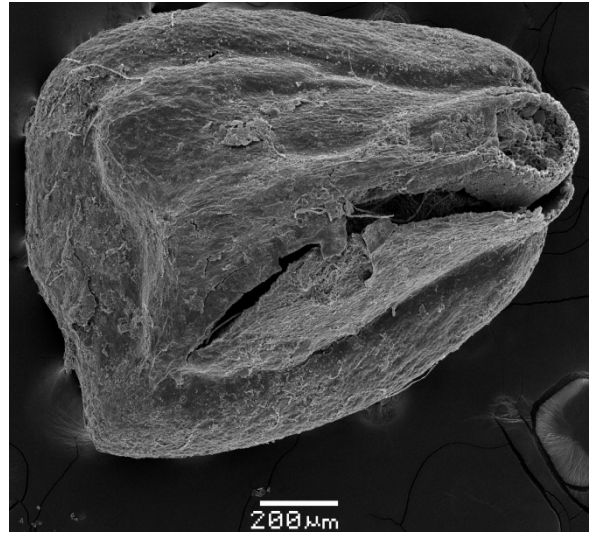
2. rok

3. rok

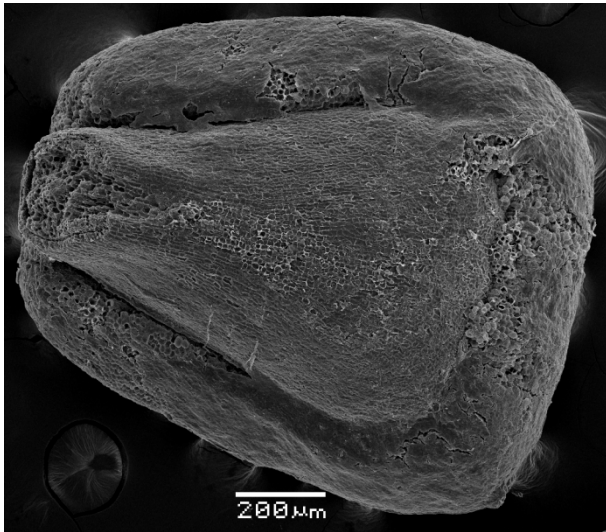
Na semenech je vidět poškození, které postupuje od semenné stopky, kde jsou semena nejcitlivější. Od 3. roku je vidět poškození semene, kdy je odstraněna vrchní část semenných obalů. Zároveň se ve 3. roce objevuje houbová hyfa na povrchu semene.



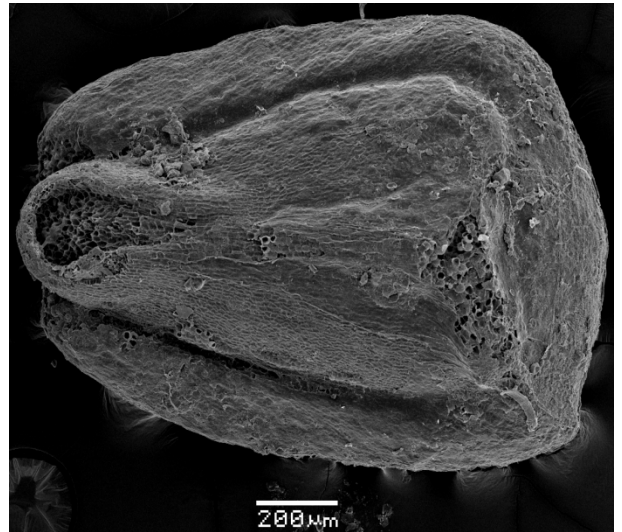
4. rok



5. rok



6. rok

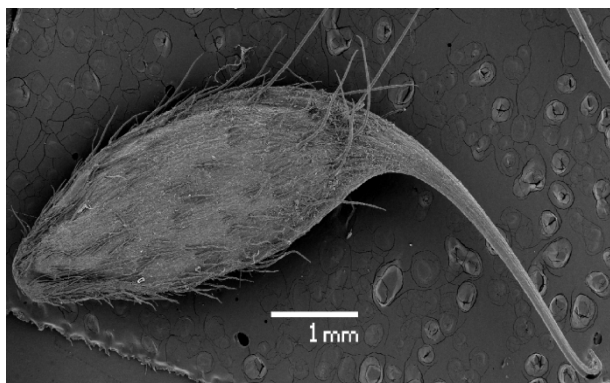


7. rok

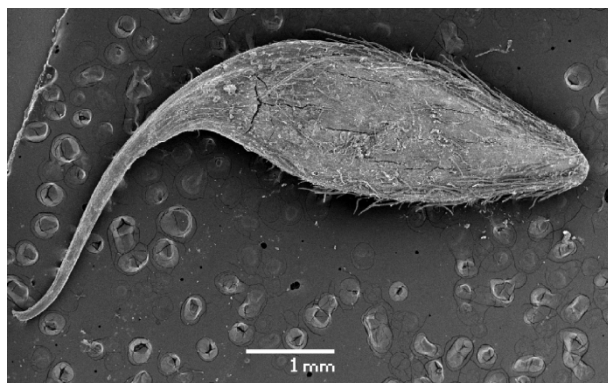


8. rok

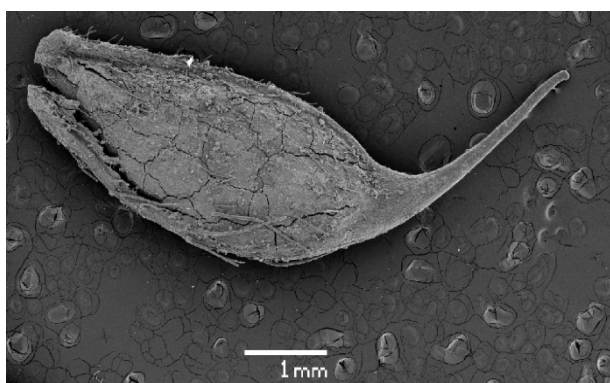
Semena kuklíku městského (*Geum urbanum* L.) a jejich změny v průběhu let



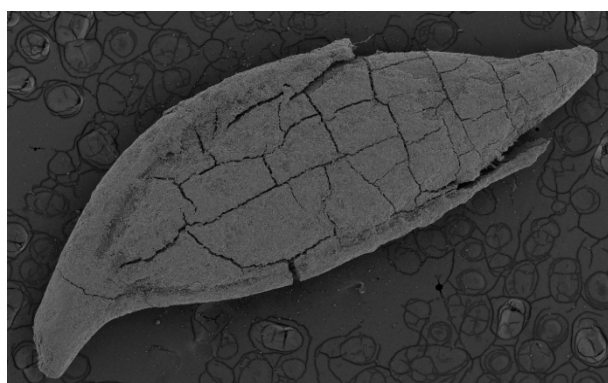
Kontrolní varianta



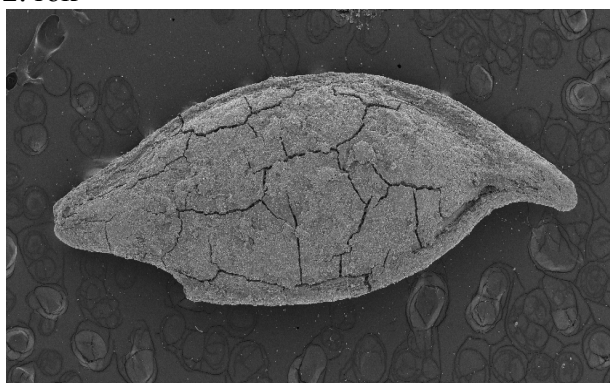
1. rok



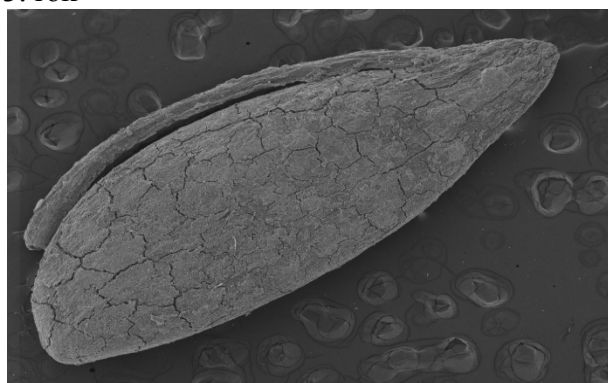
2. rok



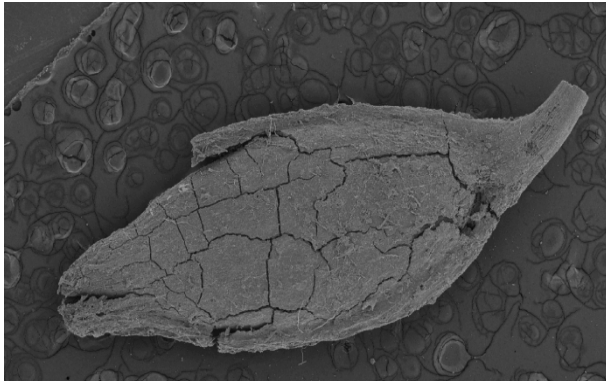
3. rok



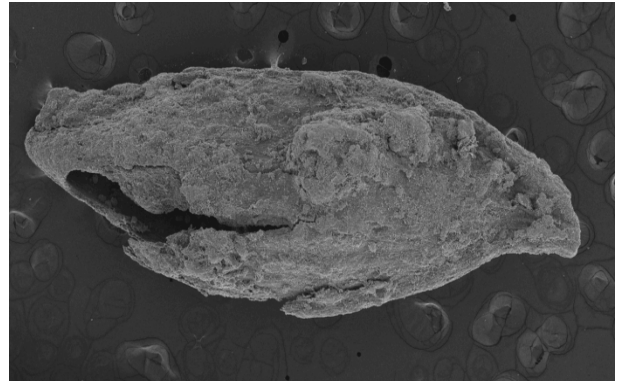
4. rok



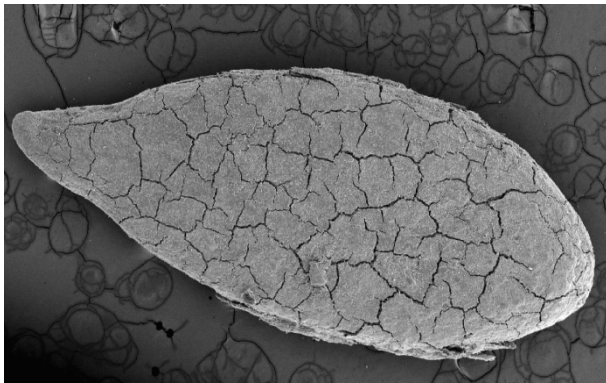
5. let



6. let



7. let



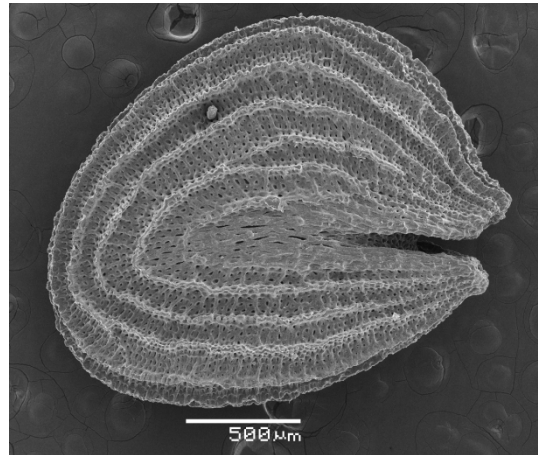
8. let

Na semenech kuklíku městského můžeme vidět nežláznaté trichomy, které semeno ztrácí již po 2. roce stráveném v půdě. Stejně jako trichomy ztrácí semeno kuklíku městského háček, který slouží po přichycení k přenašeči. A však jeho ztráta neovlivňuje jeho životnost. Zároveň na semenech můžeme vidět praskliny, tyto praskliny jsou způsobeny nevhodným vysušením semene, před vstupem do SEM nikoliv věkem semene. Dále je vidět, jak semeno prochází změnami v semenných obalech, kdy se z něho odlupují části.

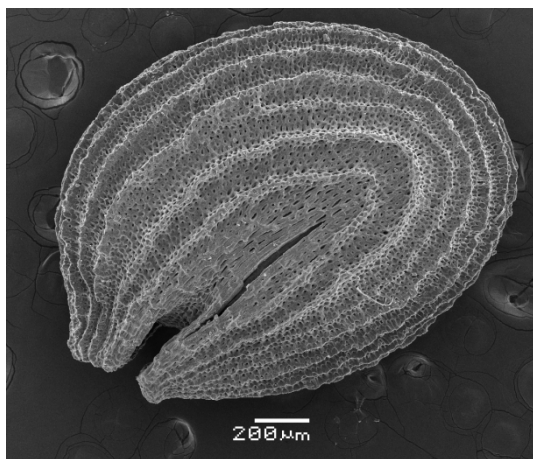
Semena penízku rolního (*Thlaspi arvense* L.) a jejich změny v průběhu let



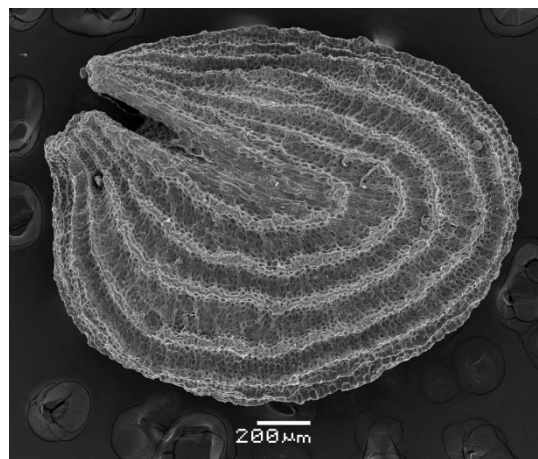
Kontrolní varianta



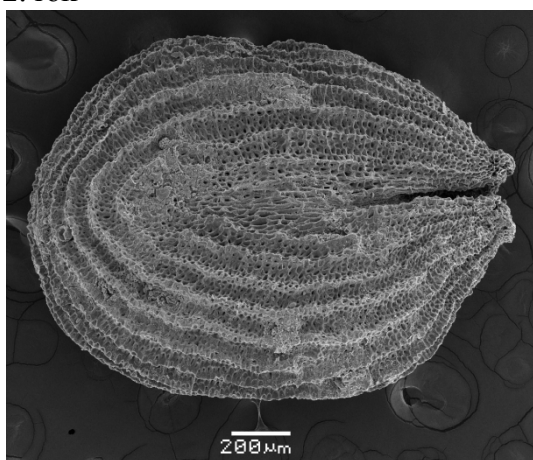
1. rok



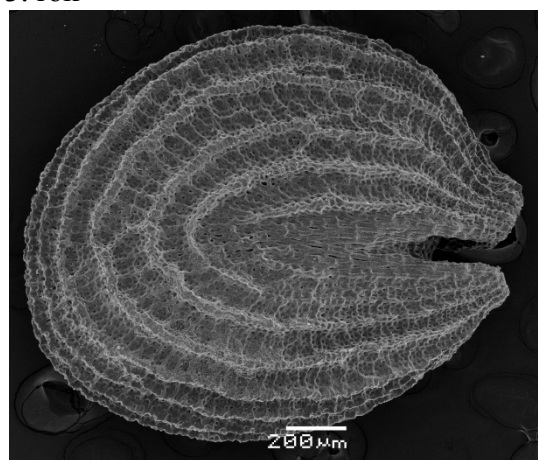
2. rok



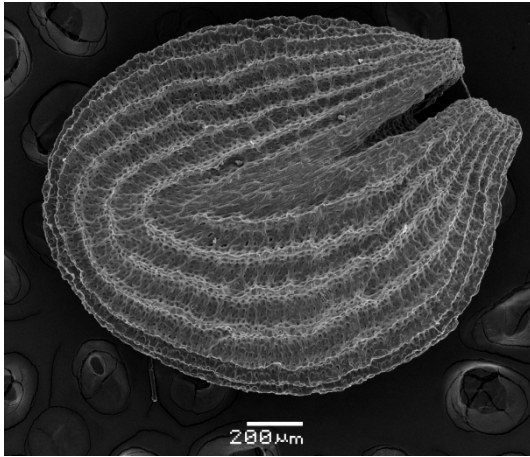
3. rok



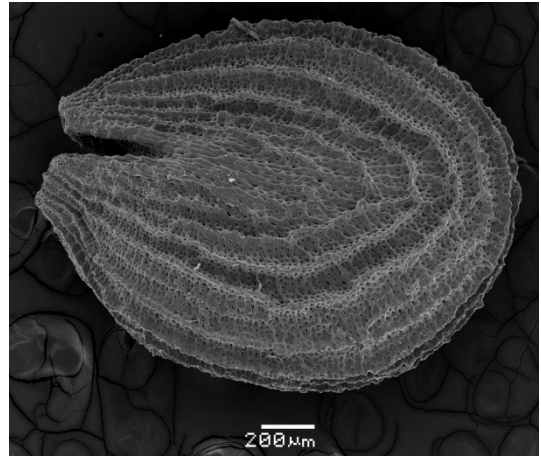
4. rok



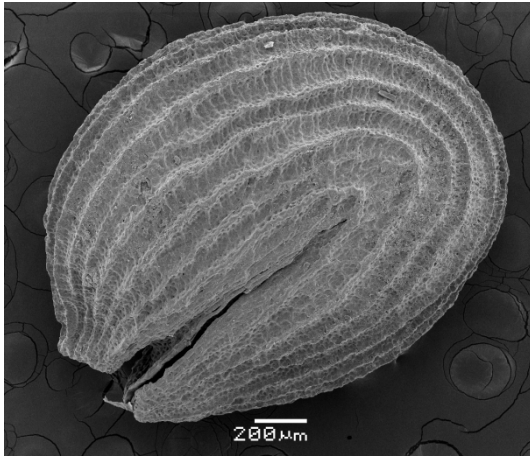
5. rok



6. rok



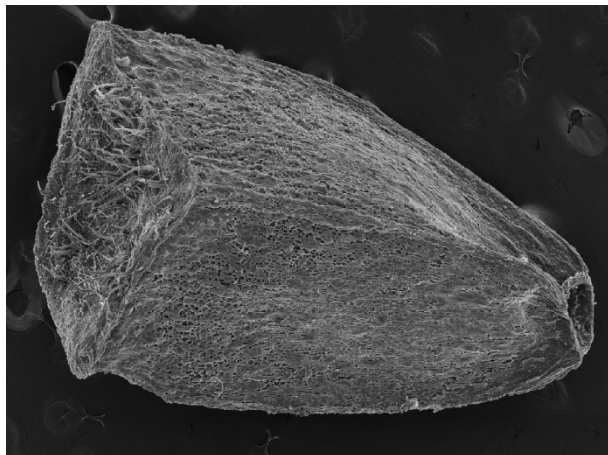
7. rok



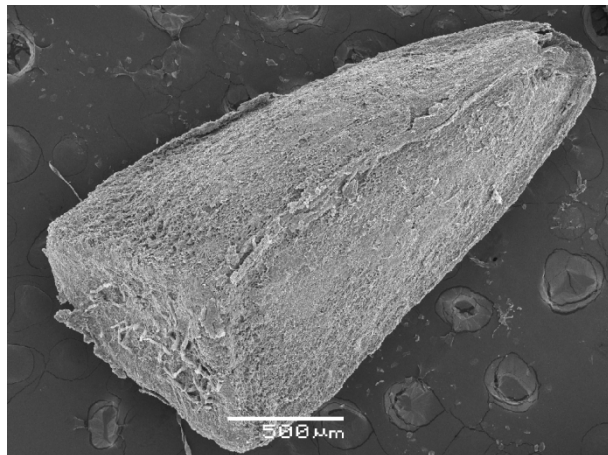
8. rok

Na semenech penízku rolního můžeme vidět jeho postupné otevírání v průběhu let. Zároveň můžeme vidět poškození semene 4. roku, kdy se na semeni vyskytuje mycelium. Další zajímavostí je pórovitost semenného obalu, v nulovém roce nejsou na semenu vidět póry a však po prvním roce se póry začínají objevovat. V 8. roce se pórovitost opět snižuje.

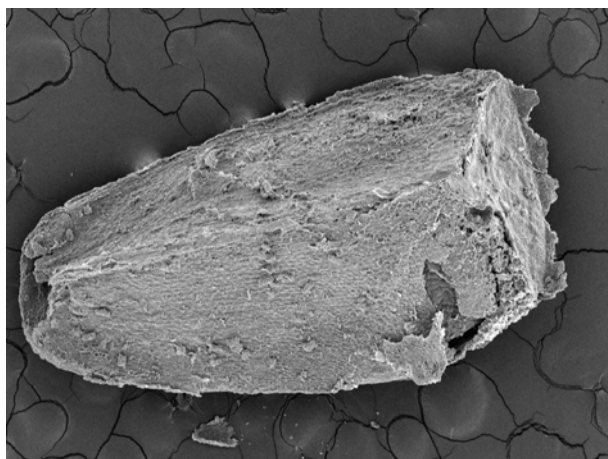
Semena srdečníku obecného (*Leonurus cardiaca* L.) a jejich změny v průběhu let



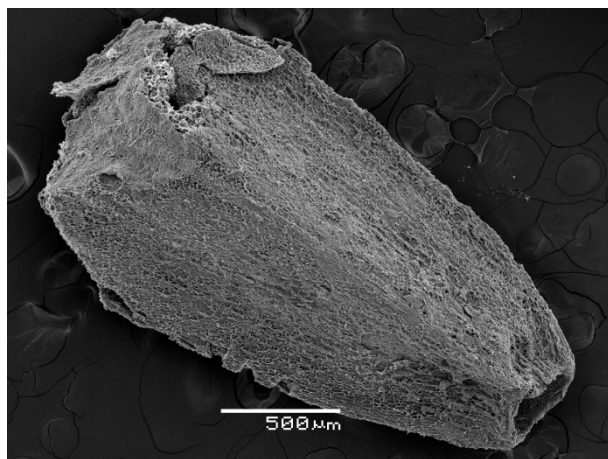
Kontrolní varianta



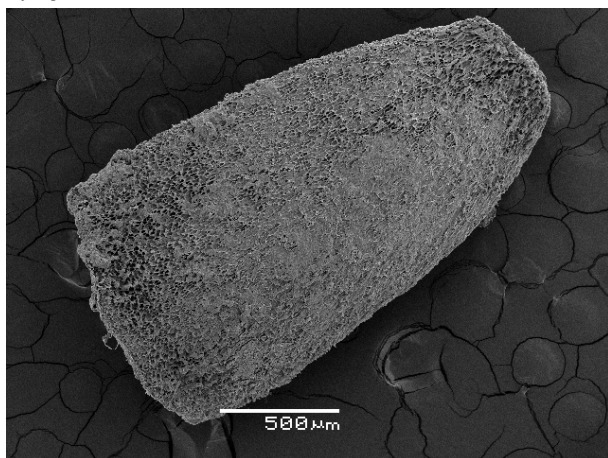
1. rok



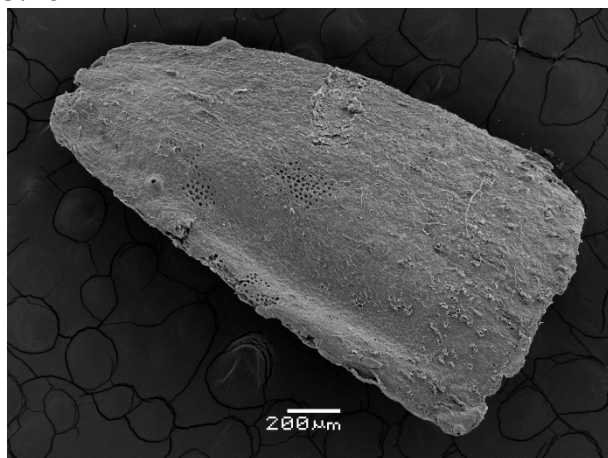
2. rok



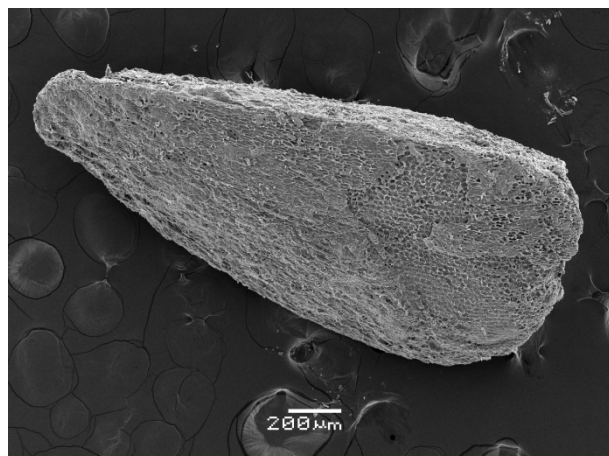
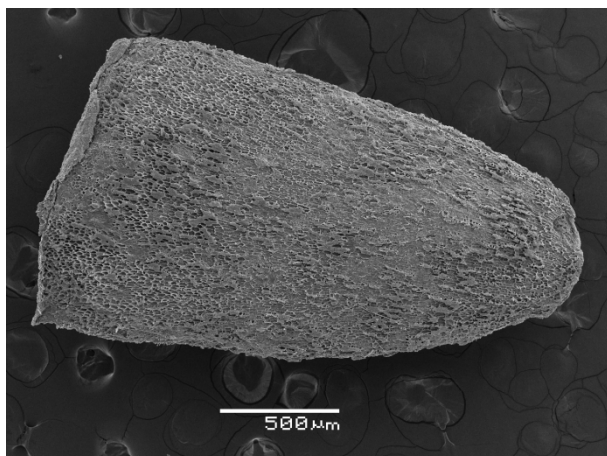
3. rok



4. rok

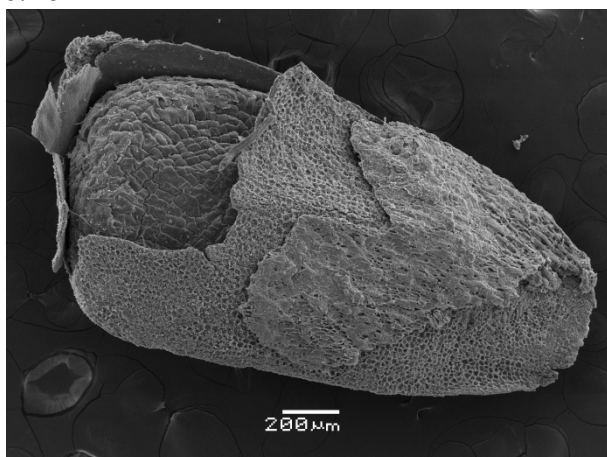


5. rok



6. rok

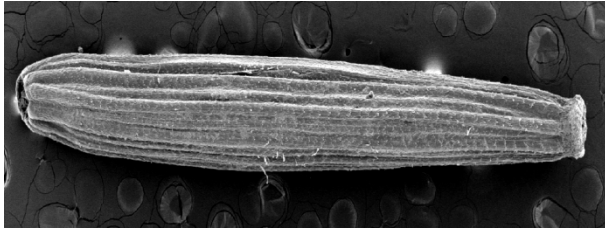
7. rok



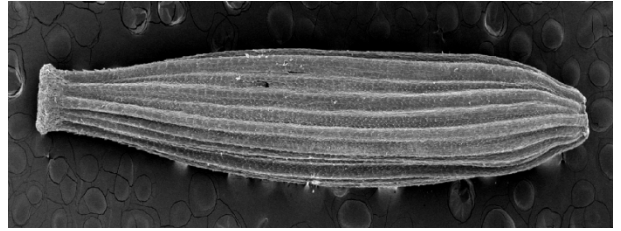
8. rok

Semena srdečníku mají na části svého povrchu trichomy, které semeno ztrácí již po prvním roce stráveném v půdě. Na tomto semenu je krásně vidět, jak v průběhu let strávených v půdě dochází k obrušování semenných obalů. V 8. roce došlo k úplnému poškození semenných obalů, kdy se odlouply a mi vidíme přímo semeno. Zároveň na tomto snímku můžeme vidět hyfu, která proniká do semene.

Semena škardy dvouleté (*Crepis biennis* L.) a jejich změny v průběhu let



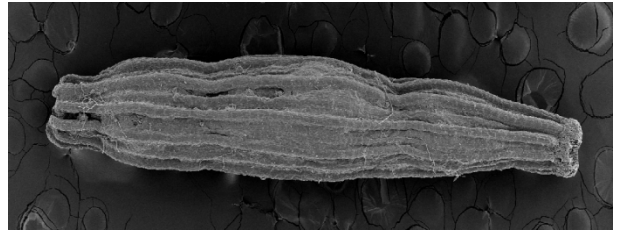
Kontrolní varianta



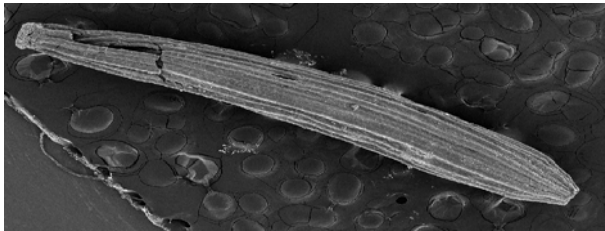
1. rok



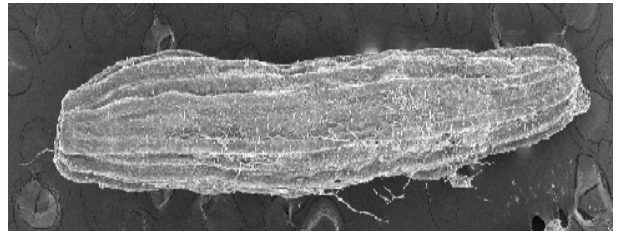
2. rok



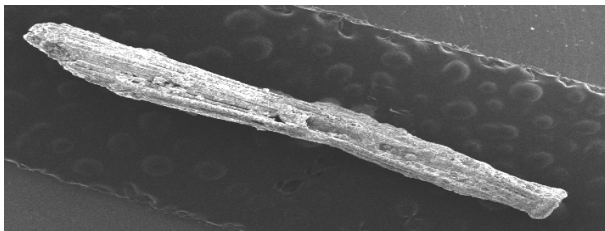
3. rok



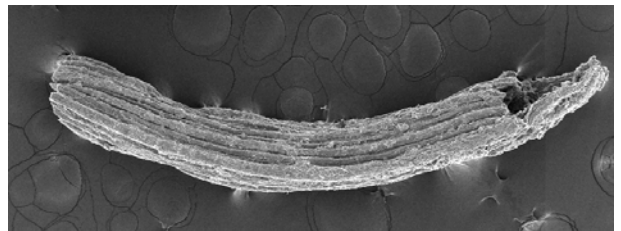
4. rok



5. rok



6. rok



7. rok

Semena škardy dvouleté jsou velmi protáhlá, v půdě často dochází k jejich rozlomení, nebo odlomení okraje semene. Zároveň je vidět, že dochází k tvarovým deformacím, kdy je semeno v průběhu let více svaštělé. Na snímku 5. roku, vychází ze semena vláknité struktury zřejmě vlákna hub. Na povrchu těchto semen jsou drobné trny, které se v průběhu let zcela ošoupou. A již v 2. roce jsou špatně viditelné.