

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra pěstování lesů



**Postupy předosevní přípravy k podpoře klíčení semen
vybraných druhů lesních dřevin**

Bakalářská práce

Autor: Tereza Toulová

Vedoucí práce: doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

2019

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Tereza Toullová

Lesnictví

Název práce

Postupy předosevní přípravy k podpoře klíčení semen vybraných druhů lesních dřevin

Název anglicky

Seed pretreatments to increase seed germination and emergence rate of chosen forest tree species

Cíle práce

Vypracovat rešerši týkající se metod předosevní přípravy v současném lesním semenářství. Ověřit účinnost vybraného postupu předosevní přípravy na osivu zvoleného druhu dřeviny.

Metodika

Vypracujte literární rešerši týkající se předosevní přípravy lesních dřevin.

Prostudujte postupy používané ke zjišťování kvality osiva a parametrů klíčení v lesním semenářství.

Vyberte si jeden druh lesní stromové dřeviny, charakterizujte vlastnosti jeho osiva a zvolte způsob předosevní přípravy, který by měl přispět ke zlepšení klíčivosti.

Navrhněte experiment, který ověří účinnost zvoleného postupu.

Doporučený rozsah práce

35

Klíčová slova

osivo; semenářství; klíčivost; energie klíčení

Doporučené zdroje informací

- ČNI (2006). ČSN 48 1211 Lesní semenářství – Sběr, kvalita a zkoušky kvality semenného materiálu lesních dřevin (Forest Seed Management – Collection, quality and methods for testing forest tree seeds). Český normalizační institut, Praha, pp. 60.
- Hoffmann J, Chválková K, Palátová E (2007). Lesné semenárstvo na Slovensku (Forest seed management in Slovakia) 2nd edition edn. IRgamma, Sliac (Slovak Republic), pp. 195.
- Kolotelo D, Steenis EV, Peterson M, Bennett R, Trotter D, Dennis J (2001). Seed handling guidebook. British Columbia Ministry of Forests, Tree Improvement Branch, Victoria, Canada pp. 106.
- Ranal MA, Santana DG (2006). How and why to measure the germination process? The Revista Brasileira de Botânica (Brazilian Journal of Botany) 29 (1): 1–11. doi:10.1590/S0100-84042006000100002
- Suszka B, Muller C, Bonnet-Masimbert M (1996). Seeds of forest broadleaves-from harvest to sowing. INRA, Paris, pp. 294.

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FLD

Vedoucí práce

doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra pěstování lesů

Konzultant

Ing. Naďa Rašáková

Elektronicky schváleno dne 1. 3. 2017

prof. Ing. Vilém Podrázský, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 27. 2. 2018

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan

V Praze dne 12. 02. 2019

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Postupy předosevní přípravy k podpoře klíčení semen vybraných druhů lesních dřevin“ vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Ivana Kuneše, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů. Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne 18.4.2019

.....
podpis studenta

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat mému vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Ivanu Kunešovi, Ph.D. za odbornou pomoc. Hlavně bych však chtěla poděkovat mé konzultantce Ing. Nadě Rašákové za pomoc při praktické části v laboratoři, odborné rady a realizaci této bakalářské práce a Ing. Rostislavu Lindovi za pomoc se zpracováním statistických dat. Chci také poděkovat své rodině a mým blízkým za podporu při studiu.

Abstrakt

Tato práce se zabývá vlivem působení brassinosteroidů na klíčení semen jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.).

Vliv brassinosteroidu (5-Fluoro-3 α ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-6-one) na jedli byl zkoumán v laboratorních podmínkách na Fakultě lesnické a dřevařské České zemědělské univerzity v Praze. Laboratorní pokus byl zahájen dne 21. 3. 2018 a ukončen dne 20. 4. 2018. Na laboratorní pokus byly použity tři oddíly osiva (95, 109, 126) jedle bělokoré, což dohromady činilo 4700 ks semen. Každý oddíl byl rozdělen do 4 variant na kontrolu (K), v tomto případě semena byla máčena v destilované vodě a klíčila v nestresovaném režimu definované normou ČSN 48 1211. Dále na kontrolu vystavenou stresovému režimu (KS), semena byla též máčena v destilované vodě a zbylé dvě varianty se máčely v brassinosteroidu o koncentraci 0,04 mg. l⁻¹ a jedna varianta byla vystavena stresovým podmínkám (MS) ve formě vysokých teplot dosahujících 39 °C a druhá varianta klíčila v nestresovaném režimu (M). Semena byla máčena po dobu 48 h. Poté byla umístěna do klíčnicích krabiček na filtrační papír po sto kusech s výjimkou variant 126K a 126KS, které byly jen po 50 kusech. Následně semena byla umístěna do klíčnicích komor po dobu 28 dnů. V průběhu pokusu byla počítána plně naklíčená semena každý týden v pondělí, středu a pátek až do dne ukončení klíčnicí zkoušky, kdy proběhlo poslední počítání. Za plně naklíčené semeno bylo považováno to, u kterého dosáhl klíček čtyřnásobné délky semene.

Výsledky prokázaly, že zkoumaný brassinosteroid neměl pozitivní účinky na klíčivost jedle bělokoré, jelikož varianty s aplikovaným brassinosteroidem nevykazovaly vyšší klíčivost oproti kontrolám jak ve stresovém režimu, tak v nestresovaném režimu.

Klíčová slova: osivo, semenářství, klíčivost, energie klíčení

Abstract

The thesis deals with the impact of brassinosteroids on silver fir germination (*Abies alba* Mill.). The impact of brassinosteroid (5-Fluoro-3 α ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-6-one) on silver fir was analysed in laboratory conditions at the Faculty of Forestry and Wood Sciences of the Czech University of Life Sciences Prague.

The laboratory experiment started on 21 March 2018 and ended on 20 April 2018. Three seed sections of silver fir (95, 109, 126) were used for the laboratory experiment; the total number of seeds used for the above-mentioned experiment was 4700 pcs. Each section was divided into 4 modifications: examination K, in which case the seeds were soaked in distilled water and they germinated in a non-stress regime defined by standard ČSN 48 1211, and examination KS in a stress regime, which also meant soaking seeds in distilled water. The remaining two modifications underwent soaking in brassinosteroid, the medium concentration of which was 0,04 mg. l⁻¹; one modification was exposed to stress (MS) conditions under high temperatures reaching 39 ° C, while the other modification germinated in a non-stress regime (M). The seeds were being soaked 48 hours. After this process was finished, 100 pcs of each seed modification, except for 50 pcs of modifications 126K and 126KS, were placed into germination boxes on filter paper. Subsequently, the seeds were placed in the germination chambers, in which they remained 28 days. In the course of the experiment, the fully germinated seeds were counted on a weekly basis (on Monday, Wednesday and Friday) till the end of the germination test. The seed was considered fully germinated provided its sprout reached a quadruple length of the seed.

The results showed that the concentration of brassinosteroid did not have any positive effects on the germination of silver fir, in that the modifications with brassinosteroid used did not show a higher germination rate compared to the modifications both under the stress regime and without it.

Key words: seed for sowing, seed production, germination, germination rate of seeds

Obsah

1	Úvod	11
2	Cíl práce.....	12
3	Literární rešerše.....	13
3.1	Lesní semenářství	13
3.1.1	Sběr semenného materiálu	13
3.1.2	Doprava a skladování semenného materiálu.....	13
3.1.3	Označení semenného materiálu.....	13
3.1.4	Kvalita semenného materiálu.....	13
3.2	Biologie semen	14
3.2.1	Tvorba semen	14
3.2.2	Stavba semen.....	15
3.2.3	Typy semen	16
3.3	Dormance semen	17
3.3.1	Dormance primární	17
3.3.2	Dormance exogenní (vnější)	17
3.3.3	Dormance endogenní (vnitřní)	18
3.3.4	Dormance sekundární.....	18
3.4	Podmínky nutné ke klíčení	19
3.4.1	Voda	19
3.4.2	Teplota.....	19
3.4.3	Kyslík	19
3.5	Podmínky ovlivňující klíčení	20
3.5.1	Světlo	20
3.5.2	Mikroorganismy a živočichové.....	20
3.5.3	Půda.....	20
3.6	Klíčení semen	21
3.6.1	Energie klíčení semen	21
3.6.2	Klíčivost semen.....	22
3.7	Jedle bělokora (<i>Abies alba</i> Mill.)	22
3.7.1	Taxonomie dělení jedlí (<i>Abies</i>)	22
3.7.2	Informace o zastoupení jedle bělokora v České republice.....	22
3.7.3	Kvetení	23
3.7.4	Šišťice	23

3.7.5	Šišky	23
3.7.6	Semena	23
3.8	Předosevní příprava semen.....	25
3.8.1	Stratifikace	25
3.8.2	Macerace	26
3.9	Brassinosteroidy	27
3.9.1	Brassinosteroidy a stres.....	27
3.9.2	Brassinosteroidy a klíčení semen	27
4	Materiál a metodika.....	28
4.1	Pracoviště	28
4.2	Materiál použitý k laboratornímu pokusu	28
4.2.1	Použitý semenný materiál	28
4.2.2	Použitý brassinosteroid	30
4.2.3	Použité pomůcky.....	30
4.3	Laboratorní pokus.....	30
4.3.1	Zkouška klíčivosti semen (stanovení energie klíčení a klíčivosti).....	30
4.3.2	Postup.....	30
4.3.3	Máčení semen.....	30
4.3.4	Instalace laboratorního pokusu	32
4.3.5	Růstové podmínky semen	32
4.3.6	Stresový režim.....	32
4.4	Hodnocení klíčivosti semen	33
5	Výsledky.....	34
5.1	Vyhodnocení výsledků v rámci oddílů.....	34
5.1.1	Vyhodnocení klíčení semen oddílu 95	34
5.1.2	Vyhodnocení klíčení semen oddílu 109.....	36
5.1.3	Vyhodnocení klíčení semen oddílu 126.....	38
5.1.4	Vyhodnocení energie klíčení v rámci oddílů	40
5.2	Vyhodnocení v rámci variant	41
5.2.1	Vyhodnocení klíčení semen	41
5.2.2	Vyhodnocení energie klíčení	42
6	Diskuze.....	43
7	Závěr	45
8	Seznam použité literatury	46

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 95 [Zdroj: Kuneš, 2019]	28
Obrázek 2 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 109 [Zdroj: Kuneš, 2019]	29
Obrázek 3 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 126 [Zdroj: Kuneš, 2019]	29
Obrázek 4 - Teplotní rampa stresového režimu vyjádřena v čase (h)	32
Obrázek 5 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 95	35
Obrázek 6 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 109	37
Obrázek 7 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 126	39
Obrázek 8 - Porovnání procentuální energie klíčení semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů a variant	40
Obrázek 9 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů a variant	41
Obrázek 10 - Porovnání procentuální energie klíčení semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů dohromady a variant	42

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Taxonomické zařazení jedle (Abies)	22
Tabulka 2 - Přehled kombinace oddílů, variant, režimů, počtu semen a koncentrace BR (BR – brassinosteroid)	31
Tabulka 3 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 95 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením	35
Tabulka 4 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 109 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením	37
Tabulka 5 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 126 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením	38
Tabulka 6 - Přehled porovnávaných variant v rámci všech oddílů dohromady pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením	41

Seznam zkratk:

BL = brassinolid

BR = brassinosteroid

BRs = brassinosteroidy

1 Úvod

Předosevní příprava je důležitá pro překonání dormance semen a pro následnou klíčivost semen a výsev osiva. Dormance se hlavně děje v důsledku zachování druhu, aby semena začala klíčit ve správný čas a přežilo co nejvíce životaschopných jedinců. Předosevní příprava se liší v závislosti na dřevině, jelikož existují různé druhy semen, které potřebují odlišné podmínky, proto aby překonala dormanci a vyklíčila. Semena musí v přirozených podmínkách překonávat různé abiotické a biotické stresy. U dřevin se přirozeně vyskytují růstové regulátory, které napomáhají zvládat stres například, který je způsobený extrémními výkyvy teplot.

Jedle bělokorá je významná dřevina, která ve 20. století byla na úkor smrku a borovice méně vysazována a k jejímu úbytku došlo, zejména z důvodu specifických biologických i ekologických požadavků a oblíbenosti u zvěři. Dnešní skladba na území České republiky činí 1,1 % a doporučené zastoupení, které uvádí ÚHUL (MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2017) by mělo být 4,4 %.

Umělá obnova je neodmyslitelnou součástí lesního hospodaření, díky které můžeme pozitivně ovlivnit vývoj lesa. V dnešních podmínkách, kdy se setkáváme s extrémními suchy a vysokými teplotami jsou kladeny vysoké nároky na kvalitu a odolnost osiva a lesního sadebního materiálu.

Brassinosteroidy mohou pozitivně ovlivnit klíčení v podmínkách, kdy na semena působí abiotický stres. Záleží však na vhodně zvoleném brassinosteroidu za v patřičné koncentraci, které se může u každého druhu semen výrazně lišit a ovlivňovat klíčivost (BAJGUZ, HAYAT, 2009).

2 Cíl práce

V této bakalářské práci je cílem zjistit působení steroidního hormonu brassinosteroidu a jeho vliv na klíčení jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) v normálních podmínkách a ve stresových podmínkách při teplotách dosahujících 39 °C.

3 Literární rešerše

3.1 Lesní semenářství

3.1.1 Sběr semenného materiálu

Semenný materiál určený ke sběru v době, kdy dosáhne morfologické zralosti. Doporučované termíny sběru pro jednotlivé dřeviny jsou v normě uvedeny v příloze A, sběr musí probíhat za vhodných klimatických podmínek. Termíny sběru se tím pádem mohou v některých letech lišit, jelikož termín sběru závisí na příznivém počasí. Předčasný sběr stanovený normou doporučuje laboratoř na základě zkoušek zralosti semenné suroviny (ČSN 48 1211, 2006). U jehličnatých a většiny listnatých dřevin se sběr semen provádí před oddělením semen od mateřského stromu (HOFFMAN et al., 2005).

3.1.2 Doprava a skladování semenného materiálu

Nasbíraná semena nebo semenná surovina musí být co nejrychleji dopravena do předem určené sběrný nebo přímo ke zpracovateli. Většina semenné suroviny ortodoxních semen nevyžaduje zvláštní péči a může být skladována a přepravována ve vzdušných obalech. Choulostivá na zapaření je semenná surovina jedle, vejmutovky (*Pinus strobus*), javoru (*Acer*) kromě klenu (*Acer pseudoplatanus*), jilmu (*Ulmus*) a buku (*Fagus*). Semena dřevin je potřeba dočasně skladovat volně uložená v tenkých vrstvách a pravidelně je přehazovat. Rekalitrantní semena je důležité chránit před zapařením i přesušením. Tloušťka ochranné vrstvy záleží na druhu dřeviny a zejména na vlhkosti semenné suroviny (HOFFMAN et al., 2005).

3.1.3 Označení semenného materiálu

Každý oddíl semenného materiálu musí být průkazně označen průvodním listem a podle právních předpisů musí být v průběhu sběru, dopravy, zpracování a skladování drženy separátně (ČSN 48 1211, 2006).

3.1.4 Kvalita semenného materiálu

Kvalita oddílů semenného materiálu se posuzuje podle čistoty, absolutní hmotnosti, energie klíčení, klíčivosti nebo životnosti, obsahu vody a počtu klíčivých nebo živých semen v 1 kg; u semenné suroviny podle sypavosti.

Zkouška kvality oddílů semenného materiálu lesních dřevin uvedených podle platných právních předpisů provádí akreditovaná laboratoř (podle platných právních předpisů Evropské směrnice o obchodování s reprodukčním materiálem lesních dřevin 1999/105/EC) (ČSN 48 1211, 2006).

3.2 Biologie semen

Semena jsou reprodukčními orgány rostlin. Vznikají složitým souborem biologických procesů, který se nazývá reprodukčním cyklem a zahrnuje vytváření samičích a samčích celul (vajíček a pylu), opylení a fertilizaci následný vznik semen a plodů. Kvalita a množství semen se odvíjí od dílčích reprodukčních period závisle na jejich průběhu (HOFFMAN et al., 2005).

3.2.1 Tvorba semen

Kvetení stromů začíná v jarních měsících nebo až počátkem léta. To je zejména ovlivněno vnitřními podmínkami (druh dřeviny, věk, původ). Pupeny jsou tvořeny meristematičtými pletivy, tedy dělivými pletivy, která mají schopnost diferenciaci. Meristematičké buňky se mohou dělit na základy samičích a samčích květních pupenů, případně na růstové pupeny. Na to, jaké pupeny se budou vyvíjet, má velký vliv okolní prostředí v době květu. Ovlivňuje to teplota, vnější humidita a působení množství růstových hormonů. U samičích i samčích buněk dochází k diferenciaci. Ze samičích buněk se vytváří vajíčka (makrosporogeneze) a samčí se přetvářejí na pylová zrna (mikrosporogeneze). V době květu po roce formování květních pupenů nastává uvolňování pylových zrn, která mohou být unášena větrem nebo přenášena hmyzem, což je důležité pro některé listnaté dřeviny s úplným květem, jako jsou např. třešně, lípy, jeřábiny, vrby (HOFFMAN et al., 2005).

Po opylení následuje oplodnění, vývoj embrya (embryogeneze) a růst zásobních struktur semena. Dozrávání je proces, kdy se oplozené vajíčko dotváří v plně vyvinuté semeno mající všechny potřebné části pro vznik nového stromu. V průběhu vyžívání semene dochází ke snižování obsahu vody a utlumování metabolických procesů. Jednoduché sacharidy, aminokyseliny a mastné

kyseliny se přetváří na složité sloučeniny jako jsou bílkoviny, tuky a škroby (NOVÁK, SKALICKÝ, 2017).

Reprodukční cyklus u většiny jehličnatých i listnatých dřevin trvá 16 měsíců. Pro všechny borovice platí, že potřebují pro vývoj semen 26 měsíců, jelikož po oplodnění dochází k dalšímu vývoji zrání šišek a semen až jeden rok po opylení (HOFFMAN et al., 2005).

3.2.2 Stavba semen

Semeno tvořeno zárodkem, který je obalen zásobním vyživovacím pletivem. Zárodek i vyživovací pletivo je uzavřeno v osemeni, které je chrání. Vyvinuté embryo se dá rozdělit na jednotlivé části. Radikulu – prvotní kořen, hypokotyl – článek pod klíčovými listy, klíčovými listy, článek nad klíčovými listy (epikotyl) a vrcholový pupen (plumula). Meristémy jsou zásobárnou pro růst kořenu a nadzemní části semenáčku, které jsou uloženy na spodní části klíčících listů, za vrcholovým pupenem a kořenovou špičkou. V embryu je uložena genetická informace nové rostliny. Je tvořena oplodněným vajíčkem mateřské rodiny a spermatickým jádrem pylového zrna otcovského rodiče. Oba dva rodiče přispívají genetickou informací, každý jednou sadou chromozomů, tím má zárodek diploidní sadu chromozomů (NOVÁK, SKALICKÝ, 2017).

Další důležitou částí semena je vyživovací pletivo, které obsahuje jednoduché chemické sloučeniny a energii potřebnou ke klíčení. Pletivo slouží rostlině do té doby, dokud není schopna fotosyntézy a vlastního aktivního příjmu vody. Zásobní pletiva semen listnatých (krytosemenných) a jehličnatých (nahosemenných) stromů se v některých ohledech liší, i když tato pletiva mají stejné úlohy: obsahují růstové regulátory, organické sloučeniny, minerály, vitamíny a mají nezbytnou funkci při vývoji zárodku (HOFFMAN et al., 2005).

U jehličnatých dřevin se jako zásobní pletivo v semenech označuje megagametofyt. Je tvořeno jen z mateřského jedince, takže má haploidní počet chromozomů (n). U listnatých dřevin je zásobní pletivo nazýváno endosperm. Je tvořeno jednou sadou chromozomů otcovského rodiče a dvěma sadami mateřského rodiče. Některé dřeviny, jako například duby, lísky a jírovce mají

většinu zásobních látek ukrytou v klíčních listech (NOVÁK, SKALICKÝ, 2017). Obal vajíčka se přemění v osemení (testa), které má za úkol chránit embryo před mechanickým i chemickým poškozením, koriguje výměnu kyslíku, oxidu uhličitého a vody s okolním prostředím. Jehličnaté dřeviny mají semena uložena jen v šiškách bez dalších obalu a listnaté dřeviny mají nejčastěji semena uložena v plodu, který byl přeměněn z pestíku (HOFFMAN et al., 2005).

3.2.3 Typy semen

V roce 1975 E.H. Roberts zavedl členění semen podle senzibility semen na obsah vody (KUPKA, 2005).

Ortodoxní semena ztrácí obsah vody už v průběhu dozrávání. Když semena dosáhnou fyziologické zralosti mají nízký obsah vody (méně než 15 %). Dobře se přizpůsobují i snížení obsahu vody na 8–10 %. V tomto stavu se mohou dlouhodoběji skladovat při nízkých teplotách. Mezi tato semena se řadí semena smrku (*Picea*), borovice (*Pinus*), modřínu (*Larix*), olše (*Alnus*), břízy (*Betula*), jasanu (*Fraxinus*) a dalších.

Rekalcitrantní semena neztrácí obsah vody v průběhu dozrávání, pokud ano, tak jen v minimálním množství. Semena se nemohou vysušit pod určitou mez, aniž by došlo k poničení. Při sušení je nutné dbát opatrnosti, protože teplota nesmí přesáhnout 20°C. Nesmějí se skladovat pod bodem mrazu, kvůli velkému podílu vody. Skladování v prostoru s omezeným přístupem vzduchu není možné, jelikož u těchto semen nedochází k omezení životních funkcí (dýchání). Mezi tato semena se řadí semena dubu (*Quercus*), javoru horského, jírovce maďalu (*Aesculus hippocastanum*), kaštanovníku (*Castanea*), ořešáku černého (*Juglans nigra* L.). Semena **jedle** a **buku** nespádají do ani jedné z těchto skupin semen. Jsou schopna snížit výrazně obsah vody, tolerují i mírně mrazové teploty a obejdou se s omezeným přístupem vzduchu. Nedají se zařadit do skupiny ortodoxních semen, kvůli době skladování, která je možná maximálně 6 let (KUPKA, 2005).

3.3 Dormance semen

Dormance neboli klíčící klid semen je přirozený fyziologický stav, kdy semena neklíčí i přes to, že je prostředí pro klíčení příznivé. Pojem quiescence v překladu nehybnost je stav, kdy semena neklíčí, protože jsou ovlivněna vnějšími podmínkami prostředí. Je to bezprostřední stav suchých semen, pro které není vhodná situace pro klíčení v důsledku nedostatku vody nebo příznivé teploty (VILKUS, 2000).

3.3.1 Dormance primární

Vzniká při vývoji semene, projevuje se po sběru osiva. Důvodem proč semena neklíčí mohou být vnitřní i vnější okolnosti (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

3.3.2 Dormance exogenní (vnější)

Nastává příčinou nedostupností základních prvků pro klíčení, jako je voda či kyslík. Zdrojem neklíčivosti semen zejména bývají obaly semen a jejich složení, kde propustnost obalu ovlivňuje zastoupení látek, například ligninu a jiných sloučenin (KINCL et al., 2006).

S nedostupností vody mají problémy tvrdá semena (*Fabaceae*, *Malvaceae*). Je to zapříčiněno anatomickou stavbou semenných obalů, které nepropouštějí vodu ani plyny. Důvodem je především genetický vliv a dále okolnosti, při kterých semena dozrávají. Nejdůležitější faktory, jako jsou teplota a pedologické podmínky, mají vliv na vysychání a vysušování semen. Toto se uplatňuje při sklizni osiva a následném skladování, kdy je regulována rychlost sušení, způsob sušení, definitivní vlhkost semen dle vlastností a morfologie semen (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

Propustnost plynů zejména kyslíku, který je nezbytnou součástí pro klíčení většiny semen. Látky, které jsou obsaženy v obalech semen mohou zamezovat v pronikání kyslíku do semena, tím pádem nemá embryo dostatek energie k překonání obalových vrstev osiva (HOFFMAN et al., 2005).

3.3.3 Dormance endogenní (vnitřní)

Nejběžnější forma primární dormance. Semena mají hereditární vlastnosti a jsou ovlivněny druhem a genetickou vybaveností jedince. Dormanci spouštějí okolnosti v době vývoje semene a dozrávání. Jedná se o fyziologickou dormanci (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

Hlavní příčinou, která způsobuje tento druh dormance, jsou inhibitory klíčení, například kyselina abscisová, kyselina ferulová a další fenolové kyseliny. Největší vliv na klíčení má koncentrace kyseliny abscisové (ABA) se společným působením stimulátorů růstu (cytokininy, gibereliny) (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

Přítomnost a koncentrace inhibitorů klíčení ovlivňuje dormanci v závislosti na (HOUBA a HOSNEDL, 2002):

- době působení slunečního záření v době zrání semen
- vlhkostních podmínkách, kdy nedostatek vody může ovlivňovat dormanci
- umístění semene v květenství
- teplotních podmínkách při zrání

3.3.4 Dormance sekundární

Vyskytuje se u zralých semen, kdy je dormance zapříčiněna tím, že osivo je dáno do nepříznivého prostředí pro klíčení, například nevhodné teploty, které přesahují maxima nebo jsou pod teplotním minimem, stres z nedostatku vláhy, nedostatku kyslíku nebo nedostatku světelného záření. Jedná se o nevyrované rozložení látek působících k podpoře klíčení semen a přítomnosti inhibitorů klíčení (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

3.4 Podmínky nutné ke klíčení

3.4.1 Voda

Voda je nezbytná pro klíčení semen. Klíčení lze rozdělit na čtyři fáze. Bobtnání, aktivace enzymů a přeměna nerozpustných zásobních látek na látky rozpustné, prodlužování buněk a buněčné dělení, proniknutí radikuly semennými obaly. Nejdůležitějším procesem v období klíčení je přeměna složitých látek na jednodušší, které jsou podstatné pro přímé využití embryem, pro růst buněk a diferenciaci. Bobtnání – fyzikální fáze, kdy semeno přijímá vodu inhibicí. Prvotně je voda vázaná fyzikálně a poté chemicky. Semeno zvětšuje svůj objem i hmotnost. Aktivace enzymů a přeměna nerozpustných zásobních látek na látky rozpustné – biochemická fáze. Enzymy a sacharidy se mění na monosacharidy a oligosacharidy, které se přesouvají do embrya a přetvářejí se na stavební látky. Tuky jsou hlavní zásobní látkou. Bílkoviny se nacházejí v endospermu nebo dělohách, představují zdroj bílkovinné výživy. Fosforové sloučeniny mají významnou roli v metabolismu semen, aktivují řadu organických sloučenin a podílejí se na oxidačních procesech (KANTOR, 1975).

3.4.2 Teplota

Semena dokážou klíčit i v teplotách těsně nad 0 °C při dostatečné vlhkosti. Teploty pro klíčení semen se mohou rozdělit do tří hodnot, a to na teplotu minimální, maximální a optimální. Optimální teplota je, kdy semeno klíčí nejlépe, minimální je, kdy semeno začíná klíčit a maximální kdy přestává klíčit. Tyto hodnoty jsou u každého druhu semene jiné (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

3.4.3 Kyslík

Semena dřevin jsou na nedostatek kyslíku rozdílně citlivá, ale pro každé semeno je kyslík nezbytně nutný, protože je známo, že hluboce vysetá semena s optimální vlhkostí i teplotou nedokážou vyklíčit (KANTOR, 1975).

3.5 Podmínky ovlivňující klíčení

3.5.1 Světlo

Není vždy nutnou podmínkou pro klíčení, ale intenzita a spektrální složení světla ovlivňuje klíčení (HOUBA, HOSNEDL, 2002).

U semen byla zjišťována klíčivost a energie klíčení semen od 0 až 24hodinového osvětlení. Semena, která byla trvale zatměna prokazovala výrazně nižší energii klíčení, a totéž prokazovaly semena trvale osvětleného smrku. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo u smrku a borovice, kdy semena byla vystavena osvětlení po dobu 6-8 hodin (KANTOR, 1975).

3.5.2 Mikroorganismy a živočichové

Mikroorganismy mohou ovlivnit průběh klíčení. U většiny semen mají mikroorganismy nepříznivý vliv, jelikož jsou nejčastěji příčinnou hnilobných procesů. Z tohoto důvodu se uplatňuje před výsevem moření osiva, aby se předešlo úmrtí semen. Živočichové jsou taky činitelem, který může ovlivnit klíčení, jako například hmyz, zejména v larválním stádiu, která parazitují na semenech. Ve školkách je semeno ohroženo po výsevu, zejména myšmi a jinými škůdci, kteří se vyskytují v lesních školkách. (KANTOR, 1975).

3.5.3 Půda

Půdní pH může ovlivnit klíčení semen, zejména u listnatých dřevin, potřebují nižší půdní aciditu oproti semenům jehličnatých dřevin (KANTOR, 1975).

3.6 Klíčení semen

Jedná se o stav, kdy semena dosáhla klíčící zralosti a jsou schopna vyklíčit ve vhodných podmínkách (CHLOUPEK, 2008). Při klíčení dochází k obnově fyziologických procesů a růstu zárodku, které se postupně vyvíjí v semenáček. Tento proces ovlivňují fytohormony. Z pohledu morfologického hlediska se považuje za první projev klíčení proniknutí klíčku o semením (KINCL et al., 2006).

Klíčení se rozděluje na **epigeické klíčení**, kdy dochází k prodlužování hypokotylu, dělohy se dostávají nad povrch země a transformují se na fotosyntetizující orgány s obdobou listů (NOVÁK a SKALICKÝ, 2017). Dělohy se stávají prvními asimilačními orgány (PROCHÁZKA et al., 1998). **Hypogeické klíčení** probíhá, prodlužováním epikotylu a dělohy setrvávají umístěné pod zemí (NOVÁK A SKALICKÝ, 2017). U hypogeicky klíčících rostlin dělohy převážně zamezují růstu úžlabních děložních pupenů, na rozdíl u epigeicky rostoucích rostlin dělohy stimulují růst (PROCHÁZKA et al., 1998). Podle KOLOTELO a kol. (1997) při epigeickém klíčení děložní listy vystupují ze semena a fungují jako listy, což je typické pro jehličnaté dřeviny. Hypogeické klíčení je rozdílné, tím, že děložní listy zůstávají uvnitř semena. Dělohy nemusejí setrvat pod zemí. Například u semen dubu dochází i ke klíčení, kdy semena nejsou umístěné pod zemí a děložní listy jsou uloženy uvnitř semene. Dělohy tvoří rezervní zásobárnu pro počáteční růst rostliny.

3.6.1 Energie klíčení semen

Počet normálně vyklíčených semen zjištěných při prvním počítání v určité, normou stanovenou dobu, vyjádřený v procentech počtu zaklíčených čistých semen (ČSN 48 1211, 2006).

Hodnota energie klíčení je využívána jako doplňková informace o zdravotním stavu semen, protože předpoklady kvalitního osiva jsou, že klíčení začíná rychle, tím pádem velký podíl semen vyklíčí v krátkém časovém úseku (KUNEŠ, BALÁŠ, 2014)

3.6.2 Klíčivost semen

Počet normálně vyklíčených semen za normou stanovenou dobu, vyjádřený v procentech počtu zaklíčených čistých semen (ČSN 48 1211, 2006). Klíčivost udává, jaký podíl semen je schopen vyklíčit a jaký podíl semen z určitých příčin nevyklíčí (prázdňá, mrtvá, poškozená) (KUNEŠ, BALÁŠ, 2014).

3.7 Jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.)

3.7.1 Taxonomie dělení jedlí (*Abies*)

Tabulka 1 - Taxonomické zařazení jedle (*Abies*)

<i>Dělení</i>	<i>Latinský název</i>	<i>Český název</i>
Říše	<i>Plantae</i>	Rostliny
Podříše	<i>Tracheobionta</i>	Cévnaté rostliny
Oddělení	<i>Pinophyta</i>	Nahosemenné
Třída	<i>Pinopsida</i>	Jehličnany
Řád	<i>Pinales</i>	Borovicotvaré
Čeleď	<i>Pinaceae</i>	Borovicovité
Podčeď	<i>Abietoideae</i>	
Rod	<i>Abies</i>	Jedle

3.7.2 Informace o zastoupení jedle bělokoré v České republice

V minulosti došlo k úbytku jedle až do takového rozsahu, že existovaly vážné obavy o zachování této dřeviny v lesních ekosystémech. Úbytek jedle v českých lesích byl datován již kolem roku 1810, kdy došlo k velkému odumírání na Křivoklátsku (SVOBODA, 1943).

Důvodem, proč jedle stále odumírala je podle názoru komplex faktorů. Hlavním důvodem se nejčastěji považuje holosečný systém hospodaření spolu s uplatňováním smrku ztepilého a borovice lesní v kulturách, dále působení škodlivých klimatických vlivů, zejména extrémní sucha. Přemnožení hmyzích škůdců, houbové choroby, a především škody způsobované zvěří (okus, ohryz), které upřednostňují jedlové nálety, nárosty a kultury před jinými druhy (BEDNÁŘ, HOŠEK, RAYNOCH, 1963).

V minulosti byla jedle bělokorá obecně rozšířenou dřevinou v lesích střední Evropy, tak i na území České republiky, vyskytovala se v pahorkatinách

a horských oblastech až do subalpínského stupně subalpínských smrčín. Původní rozšíření jedle bělokoré v lesích České republiky se odhaduje na přibližně 16 % (ŠINDELÁŘ, 1994, VOKOUN 1996). V roce 1950 bylo zastoupení jedle ještě 2,9 % (ŠINDELÁŘ, 1996).

V současné době uvádí ÚHUL (MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2017), že současná skladba jedle tvoří 1,1 %, která je od roku 2014 stabilní. Doporučené zastoupení jedle je uvedeno 4,4 %.

3.7.3 Kvetení

Abies alba Mill. kvete v dubnu až květnu někdy i v červnu. Solitéry jsou schopny kvést už od 30 roku. V zapojeném porostu až kolem 60 až 70 roku. Semenné roky se za příznivých podmínek opakují po 2-6 letech (MUSIL, HAMERNÍK, 2007).

3.7.4 Šišťice

Samčí jsou 2 cm dlouhé a 0,6 cm široké, zelenožluté, umístěné nejčastěji na okrajích střední až dolní části koruny. Samičí šišťice bývají 2,5-4,5 cm dlouhé a 1-1,5 cm široké, zelenožluté až červené, umístěné u konců loňských výhonů, obvykle ve vrcholu koruny. Jen omezeně jsou šišťice samosprašné (MUSIL, HAMERNÍK, 2007).

3.7.5 Šišky

Velikost 10-18 × 3-5 cm. Podpůrné šupiny jsou zřetelné, přímé a přitisklé nebo ohrnuté. Zrající šišky jsou znatelně namodralé. Dozrávají ve druhé polovině září 1. roku, od října se postupně rozpadají a na větvích zůstávají vzpřímené vřeteno (MUSIL, HAMERNÍK, 2007). Doba sběru jedle bělokoré začíná 15. září (HOFFMAN et al., 2005).

3.7.6 Semena

Velká, 8-13 mm dlouhá, trojhranná, měkká, leskle tmavohnědá, s vysokým obsahem terpentýnu, Křídlo asymetrické, přirostlé nápadně široké s hnědou až hnědofialovou barvou. Po odkřídlení jsou znatelné zbytky křídel. 46-48 g je hmotnost 1000 ks semen, semena jedle patří k těžším z jehličnatých dřevin. Dobře uskladněné osivo vydrží až 3 roky. Plná úroda se dostavuje

ve vhodných podmínkách většinou dvakrát za 10 let (MUSIL, HAMERNÍK, 2007). Parametry semenné suroviny a osiva: Podíl semen v plodech (sypavost) – 14 %; čistota – 85 %; podíl plných semen – 60 %; životnost – 45 %; počet semen v 1 kg osiva je 8 000 ks (HOFFMAN et. al, 2005).

3.8 Předosevní příprava semen

Je soubor postupů, které slouží k překonání klíčního klidu. Semena mají klíční klid z různých důvodů, jak je již uvedeno v kapitole dormance semen. Proces překonávání dormance v přírodě je pomalý a semena často přeléhají i několik let bez toho, aniž by ztratila životnost. Dormance má velký význam pro přežití a zachování druhu (KOLOTELO et al., 2001).

Pro pěstování sadebního materiálu pro umělou obnovu lesa je důležité dosáhnout stavu, aby semena vzcházela rychle a ve stejné době za krátký časový interval. Proto, používáme různé druhy předosevní přípravy osiva v závislosti na tom, z jaké příčiny byla dormance spuštěna (HOFFMAN et al., 2005).

U semene se doporučuje máčení po dobu 24 hodin ve studené vodě a po osušení uložit několik dnů až 1-2 týdny do chladu při teplotě +2 °C. (KUPKA, 2005).

3.8.1 Stratifikace

Stratifikace je hlavně popisována jako metoda k překonání dormance vyvolané morfologickou stavbou embrya, ale může také odstranit dormanci způsobenou semennými obaly. Mnoho studií uvádí, že stratifikace zlepšuje rychlost a jednotnost klíčení, které jsou důležité pro produkční jednotnost sklizně. Stratifikace také zlepšuje vitalitu semen nebo jejich schopnost klíčit v širokém rozsahu podmínek (např. rozšířený teplotní rozsah pro maximální klíčivost). Pro účinnost stratifikace, aby došlo k překonání dormance semen, je potřeba splnění určitých podmínek: vhodná vlhkost, teplota, doba trvání a přístup kyslíku. Pokud není jeden ze těchto faktorů ve vhodném rozmezí, nemusí dojít k odstranění klíčního klidu (KOLOTELO et al., 2001).

Optimální teplota pro studenou stratifikaci je mezi 2–5 °C u semen krátkou dobou stratifikace (STOKES, 1965).

Semena dřevin jsou od sebe odlišitelné vzhledem, tak i stavbou a potřebují odlišné způsoby stratifikace. SUSZKA et al. (1996) uvádí například následující postupy:

- Semena například javoru klenu, břízy, kaštanu, jabloně a dalších potřebují být stratifikována při nízkých teplotách, dokud nedojde ke klíčení
- Semena vyžadující teplostudenou stratifikaci s krátkou teplou fází, tj. stratifikaci sestávající nejprve z teplé fáze po dobu 2 až 4 týdnů a následné studené fáze jsou například: jeřáb břek, habr obecný, třešně
- Semena vyžadující teplostudenou stratifikaci s delší teplou fází v rozsahu od 8 až po 18 týdnů zakončené studenou stratifikací, dokud nedojde ke klíčení vyžadují tyto druhy semen: brslen evropský, borovice pinie a další

3.8.2 Macerace

Je druh předosevní přípravy osiva pro semena, která mají nepropustné osemení. Máčejí se po určité době v kyselině. Délka máčení, koncentrace a druh kyseliny musí být přesně dodrženy, aby kyselina jen částečně narušila nepropustnou vrstvu osemení a nepoškodila vnitřek semene. Následně je důležité osivo několikrát důkladně propláchnout vodou, aby nedošlo k narušení vnitřku semene (KUNEŠ, BALÁŠ, 2014).

3.9 Brassinosteroidy

Brassinosteroidy jsou rostlinné hormony, které patří do třídy polyhydroxy –steroidů. Jsou svojí strukturou příbuzné zvířecím, hmyzím steroidním hormonům (BAJGUZ, 2011). Stimulují výrazně dlouhivý růst a buněčné dělení (HRADECKÁ et. al., 2009). V roce 1979 byl izolován první rostlinný steroid s regulačním účinkem z pylu řepky (*Brassica napus* L.) a byl nazván brassinolid. Již v mnoha výzkumech bylo dokázáno, že brassinosteroidy jsou obsáhlou skupinou látek (je známo více než 30 typů endogenních látek), které se nacházejí v širokém spektru rostlin a ve všech orgánech s výjimkou kořenů, kde není výskyt dostatečně prozkoumán. Brassinosteroidy se nejvíce vyskytují v květech, pylu a semenech. Do dnešní doby bylo již zjištěno přes 70 typů brassinosteroidů. Přírodní se označují jako brassinolidy a syntetické deriváty jako brassinosteroidy (HRADECKÁ et. al., 2009). Z fyziologického hlediska se účinná koncentrace nachází v rozmezí 10^{-8} - 10^{-11} mol. l⁻¹ (CUTLER et al. 1991 cit. in: PROCHÁZKA a kol, 1997).

3.9.1 Brassinosteroidy a stres

Na rostliny v přirozeném prostředí působí abiotické i biotické faktory. Zejména extrémní sucha, změny teplot, slunečního záření, vliv patogenů a škodlivého hmyzu. V důsledku působení stresových faktorů může docházet k morfologickým, fyziologickým i biologickým změnám u rostlin (BAJGUZ, HAYAT, 2009). BRs zvyšují odolnost rostlin ke stresům. Po aplikaci brassinosteroidů jsou rostliny schopny překonat různé stresové situace, které jsou způsobeny extrémním suchem nebo nízkou teplotou (CUTLER et. al., 1991, SAKURAI a FUJIOKA 1991).

3.9.2 Brassinosteroidy a klíčení semen

BAJGUZ a HAYAT (2009) uvádí, že aplikace brassinosteroidů zvýšila rychlost klíčení a růstu po vysetí u rýže seté (*Oryza sativa*), také aplikace BR vedla k podstatnému zlepšení klíčení semen a růstu sazenic u *Eucalyptus camaldulensis*.

4 Materiál a metodika

4.1 Pracoviště

Skladování a stratifikace proběhla ve výzkumné stanici Truba Fakulty lesnické a dřevařské České zemědělské univerzity v Praze. Laboratorní pokus byl prováděn v laboratoři na Fakultě lesnické a dřevařské České zemědělské univerzity v Praze.

4.2 Materiál použitý k laboratornímu pokusu

4.2.1 Použitý semenný materiál

K laboratornímu pokusu byly použity 3 oddíly semenného materiálu jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) ze semenářského závodu v Týništi nad Orlicí spadající pod správu Lesů České republiky s. p.. Oddíl s průvodním číslem 95-2016-VL se nacházel v přírodní lesní oblasti 8 – Křivoklátsko a Český kras. Oddíl s průvodním číslem 109-2016-VL se nacházel v přírodní lesní oblasti 13 – Šumava. Poslední oddíl s průvodním číslem 126-2016-VL se nacházel v přírodní oblasti 28 – Předhoří Hrubého Jeseníku.

LESVČR	Lesy České republiky, s. p., Semenářský závod Za Drahou 191, 51721 Týniště nad Orlicí tel.: 956271111 e-mail: LZ71@lesy.cz
Průvodní štítek k P. listu č.	95-2016-VL
K průvodnímu listu č: 3201/1/8/2017 Číslo oddílu: CZ/201/92/2016 Vystavil: UHÚL Stará Boleslav Dne: 15.09.2016 Dodavatel: 42196451/71 LČR SZ Týniště n.Orl Odběratel: 60460709/1 ČZU v Praze Dřevina: 1201 JD Jedle bělokorá Abies alba Miller Lesní oblast: 8 Křivoklátsko a Český kras Ras: N Neznámý Výškové pásmo (LVS): 3 dubobukový (401-550 m/m) Kategorie OECD: Selektovaný	
Číslo uznané jednotky: CZ-2-2B-JD-04784-8-3-S	
Množství semen (plodů):	3,500 kg
Výsledek zkoušky jakosti: 999 2016 11.11.2016	
Čistota:	99,1 % Životnost: 46 %
Abs.hmotnost:	51,525 g Energie: 0 %
Poč.živ.semen/kg:	8847 ks Semena svěží: 0 %
Forma a počet balení: 1	
Uložení: M9000 Dne: 03.08.2017 Vystavil: E. Kavuláková	

Obrázek 1 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 95 [Zdroj: Kuneš, 2019]

LESYČR	Lesy České republiky, s. p., Semenářský závod Za Drahou 191, 51721 Týniště nad Orlicí tel.: 956271111 e-mail: LZ71@lesy-cr.cz
Průvodní štítek k P. listu č. 109-2016-VL	
K průvodnímu listu č: 3201/1/8/2017 Číslo oddílu: CZ/203/49/2016 Vystavil: UHÚL Plzeň Dne: 03.10.2016 Dodavatel: 42196451/71 LČR SZ Týniště n.Orl Odběratel: 60460709/1 ČZU v Praze Dřevina: 1201 JD Jedle bělokorá Abies alba Miller Lesní oblast: 13 Šumava Původ: N Neznámý Výškové pásmo (LVS): 6 smrkobukový (701-900 m/m) Kategorie OECD: Selektovaný	
Číslo uznané jednotky: CZ-2-2A-JD-00004-13-6-P-G071-2	
Množství semen (plodů): 3,000 kg	
Výsledek zkoušky jakosti: 58 2017 24.03.2017 Čistota: 97,9 % Životnost: 55 % Abs.hmotnost: 53,337 g Energie: 0 % Poč.živ.semen/kg: 10095 ks Semena svěží: 0 %	
Forma a počet balení: 1	
Uložení: M9000 Dne: 03.08.2017 Vystavil: E. Kavuláková	

Obrázek 2 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 109 [Zdroj: Kuneš, 2019]

LESYČR	Lesy České republiky, s. p., Semenářský závod Za Drahou 191, 51721 Týniště nad Orlicí tel.: 956271111 e-mail: LZ71@lesy-cr.cz
Průvodní štítek k P. listu č. 126-2015-VL	
K průvodnímu listu č: 3201/1/8/2017 Číslo oddílu: CZ/207/25/2015 Vystavil: UHÚL Frýdek-Místek Dne: 02.09.2015 Dodavatel: 42196451/71 LČR SZ Týniště n.Orl Odběratel: 60460709/1 ČZU v Praze Dřevina: 1201 JD Jedle bělokorá Abies alba Miller Lesní oblast: 28 Předhoří Hrubého Jeseníku Původ: P Autochtonní Výškové pásmo (LVS): 4 bukový (551-600 m/m) Kategorie OECD: Selektovaný	
Číslo uznané jednotky: CZ-2-2B-JD-03597-28-4-T-G158-1	
Množství semen (plodů): 3,000 kg	
Výsledek zkoušky jakosti: 25 2017 19.06.2017 Čistota: 98,7 % Životnost: 69 % Abs.hmotnost: 38,212 g Energie: 0 % Poč.živ.semen/kg: 17822 ks Semena svěží: 0 %	
Forma a počet balení: 1	
Uložení: M9000 Dne: 03.08.2017 Vystavil: E. Kavuláková	

Obrázek 3 - Průvodní štítek k průvodnímu listu osiva č. 126 [Zdroj: Kuneš, 2019]

4.2.2 Použitý brassinosteroid

Při laboratorním pokusu byl použit brassinosteroid s označením 5-Fluoro-3 α ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-6-one

4.2.3 Použité pomůcky

- gumové rukavice
- roztok chloranu sodného
- klíční krabičky
- filtrační papír
- pinzeta
- růstová komora
- protokol na zaznamenání klíčivosti semen

4.3 Laboratorní pokus

4.3.1 Zkouška klíčivosti semen (stanovení energie klíčení a klíčivosti)

Zkouškou klíčivosti semen zjišťujeme počet čistých semen, která za určitých podmínek a za dobu doporučenou ČSN 48 1211 pro danou dřevin vyklíčí a pravděpodobně se vyvinou v normální zdravé semenáčky. Podle normy by měla být zkouška klíčivosti u *Abies alba* Mill. ukončena po 28 dnech a zakončena posledním počítáním. Energie klíčení se stanovuje sedmý den od instalace pokusu a většinou bývá i prvním počítáním (ČSN 48 1211, 2006).

4.3.2 Postup

Laboratorní pokus byl založen dnem 21. 3. 2018. Instalace pokusu proběhla dne 23.3.2018. K ukončení pokusu došlo po 28 dnech po instalaci dne 20. 4. 2018, kdy bylo provedeno poslední počítání.

4.3.3 Máčení semen

Máčení semen se uskutečnilo dne 21. 3. 2018. Jednotlivé oddíly byly rozděleny do sekcí podle toho, zda semena byla máčena v brassinosteroidu nebo v destilované vodě.

Semena byla po dobu 48 hodin máčena v roztoku brassinosteroidu o koncentraci 0,04 mg. l⁻¹ a ostatní jako kontrola byla máčena v destilované vodě. Kontrola byla určena k porovnání klíčivosti se semeny, na které byly aplikovány brassinosteroidy.

Než semena byla máčena, tak byla desinfikována roztokem destilované vody a chloranu sodného v objemovém poměru 1 : 5 po dobu jedné minuty.

Po následné desinfekci a máčení byla semena rozdělena do 48 testovacích krabiček. Každá jednotlivá varianta měla 4 krabičky po sto semenech.

Tabulka 2 - Přehled kombinace oddílů, variant, režimů, počtu semen a koncentrace BR (BR – brassinosteroid)

Číslo oddílu	Kód varianty	Koncentrace BR (mg.l ⁻¹)	Režim	Druh režimu	Počet semen
95	K	0	Nestresovaný	Kontrola	400
95	KS	0	Stresovaný	Kontrola, stres	400
95	M	0,04	Nestresovaný	BR	400
95	MS	0,04	Stresovaný	BR, stres	400
109	K	0	Nestresovaný	Kontrola	400
109	KS	0	Stresovaný	Kontrola, stres	400
109	M	0,04	Nestresovaný	BR	400
109	MS	0,04	Stresovaný	BR, stres	400
126	K	0	Nestresovaný	Kontrola	350
126	KS	0	Stresovaný	Kontrola, stres	350
126	M	0,04	Nestresovaný	BR	400
126	MS	0,04	Stresovaný	BR, stres	400
	Celkový počet semen:				4700

4.3.4 Instalace laboratorního pokusu

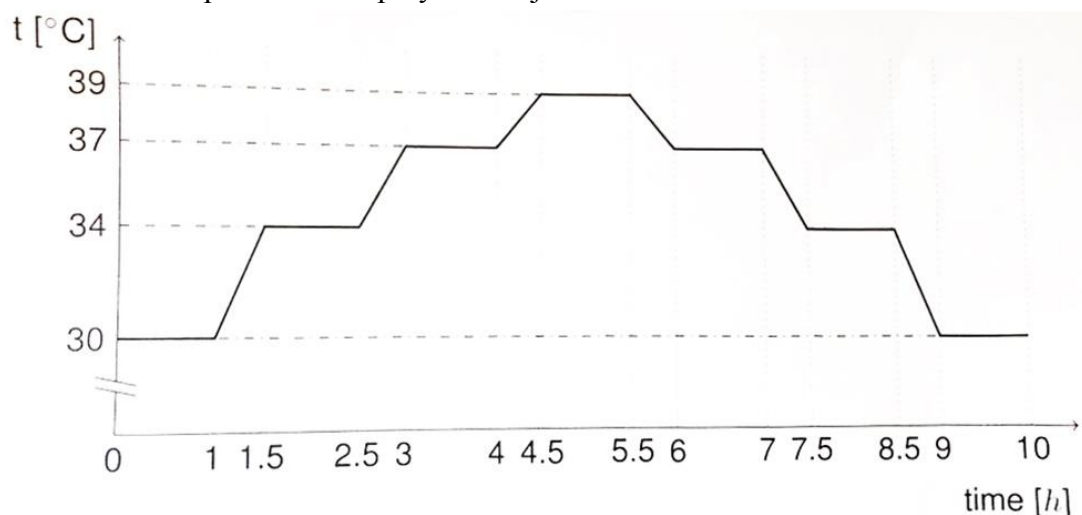
Instalace pokusu byla provedena dne 23. 3. 2018. Krabičky byly popsány příslušnými kódy, které jsou uvedeny v tabulce 2 dle toho, jestli byl použit brassinosteroid a zda se jednalo o stresový, či nestresovaný režim. Klíční krabičky byly vydezinfikovány a byl do každé krabičky vložen sterilizovaný filtrační papír. Semena se vkládala jednotlivě sterilizovanou pinzetou do jednotlivých krabiček.

4.3.5 Růstové podmínky semen

Klíční pokus trval celkem 28 dní. Semena po dobu pokusu byla umístěná v klíčnicích komorách. Každý den představoval jeden z opakujících se 24hodinových cyklů, v jejichž rámci se střídala fáze s osvětlením při teplotě 30 °C trvající 8 hodin a temná fáze při teplotě 20 °C trvající 16 hodin.

4.3.6 Stresový režim

Semena byla na začátku pokusu rozdělena do dvou režimů: stresovaný a nestresovaný. Stresované byly varianty, které měly kód varianty s písmenem S, což znamenalo, že semena byla vystavena stresu ve formě vysokých teplot a bylo zkoumáno, zda semena, která byla naimpregnována brassinosteroidem lépe odolávala stresovým podmínkám než semena, bez impregnace BR. Stresováno byla 6 variant, dvě z každého oddílu. Semena musela překonávat teploty dosahující 39 °C.



Obrázek 4 - Teplotní rampa stresového režimu vyjádřena v čase (h) zahájená 6 den od instalace pokusu

4.4 Hodnocení klíčivosti semen

Instalace pokusu byla provedena dne 23. 3. 2018. Ode dne instalace pokusu bylo zahájeno vyhodnocování klíčivosti semen, které probíhalo každý týden v pondělí, středu a pátek až do ukončení pokusu. Při hodnocení klíčivosti byla vyhodnocována semena normálně klíčící a abnormálně klíčící. Za normálně klíčící semena byla považována, ta jejichž nepoškozený klíček dosahoval alespoň 4násobku délky semene. V průběhu vyhodnocování se vyskytla i abnormálně naklíčená semena, která měla klíček poškozený, zakrnělý nebo semena byla infikovaná a nákaza pocházela z hodnoceného semena. Tyto semena byla v průběhu odstraňována a zaznamenávána.

Dne 20. 4. 2018 byla zkouška klíčivosti ukončena po 28 dnech a bylo provedeno poslední počítání, při kterém se vyhodnotila všechna semena. U každé varianty byla sledována a vyhodnocena úspěšnost klíčení. Všechna data v průběhu hodnocení klíčivosti semen byla zaznamenána do protokolu s datem počítání a osobou, která vyhodnocování podváděla. Záznam obsahoval tabulku s číslem oddílu a kód varianty, kolonku pro počet normálně naklíčených semen a abnormálně naklíčených.

5 Výsledky

Data z laboratorního pokusu byla statisticky vyhodnocena pomocí testu mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením (AGRESTI et al., 2008). Výpočty byly prováděny v programu R 3.4.4 (R CORE TEAM 2018) na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

5.1 Vyhodnocení výsledků v rámci oddílů

5.1.1 Vyhodnocení klíčení semen oddílu 95

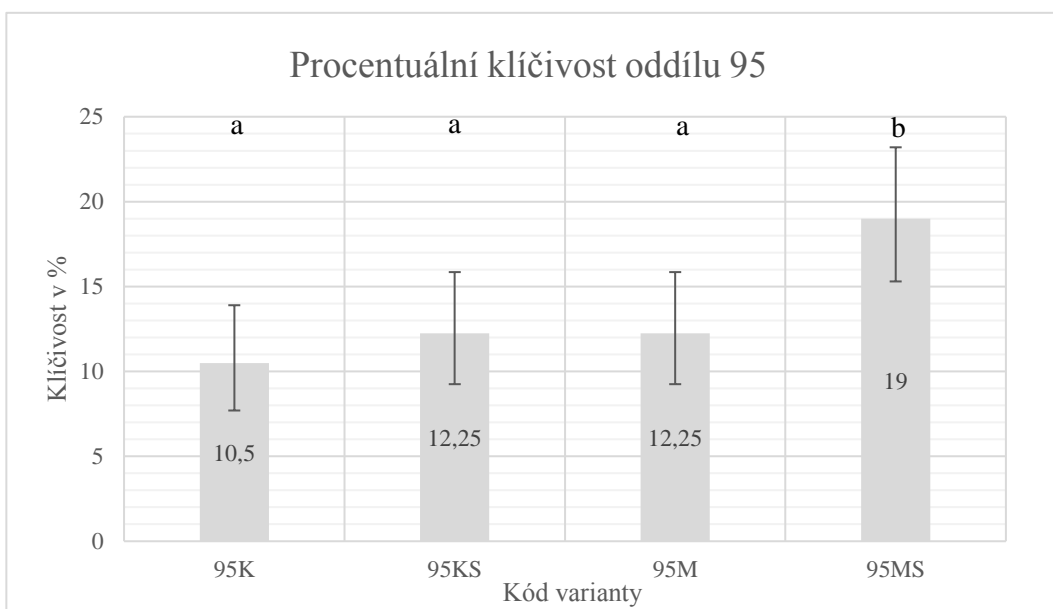
Výsledky poukazují na srovnání variant 95KS – 95MS a 95M – 95MS na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ rozdíl mezi těmito variantami ($p = 0,0434$). Stresovaná kontrola 95KS naklíčila výrazně méně než stresovaná varianta s aplikovaným brassinosteroidem, a to až o 6,75 % méně. Srovnání semen, na které byl aplikován brassinosteroid v nestresovaném režimu oproti stresovému režimu vychází, že stresovaná semena vyklíčila více než nestresovaná. U variant 95K – 95MS se nachází výrazný rozdíl ($p = 0,0039$), kdy nestresovaná kontrola naklíčila výrazně méně než stresovaná varianta s použitím brassinosteroidu.

Porovnání variant 95K – 95KS, 95K – 95M a 95KS – 95M na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, se varianty neliší, tedy neshledáme významný rozdíl.

Tabulka 3 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 95 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením

Porovnávaná dvojice při opakovaném porovnání	Testovaná stat. hodnota	Kritická hodnota	p-hodnota
95K – 95KS	1,0920	3,6332	0,8671
95K – 95M	1,0920	3,6332	0,8671
95K – 95MS	4,7927	3,6332	0,0039
95KS – 95M	0,0000	3,6332	1,0000
95KS – 95MS	3,7082	3,6332	0,0434
95M – 95MS	3,7082	3,6332	0,0434

Poznámka: Tato tabulka vyjadřuje statistické porovnání variant **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid v rámci zkoumaného oddílu 95 pomocí testu mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.



Obrázek 5 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 95

Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální klíčivost jedle bělokore oddílu 95 v % po 28 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroidu. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině $(p < 0,05)$.

5.1.2 Vyhodnocení klíčení semen oddílu 109

Z výsledků vychází, že nejlépe naklíčila varianta 109M při nestresovaném režimu s aplikovaným brassinosteroidem s největším procentem klíčivosti 15,25 %.

Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ se od sebe liší varianty 109K – 109KS ($p = 0,0099$), kde se nachází výrazný statistický rozdíl. Nestresovaná varianta 109K naklíčila o 6,75 % více než stresovaná varianta 109KS.

Varianty 109M – 109MS na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ od sebe výrazně liší ($p = 0,0032$), je zjevné, že u varianty 109M, která byla impregnována brassinosteroidem naklíčila mnohem lépe než stresovaná varianta na, kterou byl též aplikován brassinosteroid. Varianta 109M naklíčila lépe o 7,75 %.

U porovnání variant 109K – 109MS bylo zjištěno, že se od sebe liší ($p = 0,0225$), nestresovaná kontrola naklíčila lépe než stresovaná varianta s brassinosteroidem.

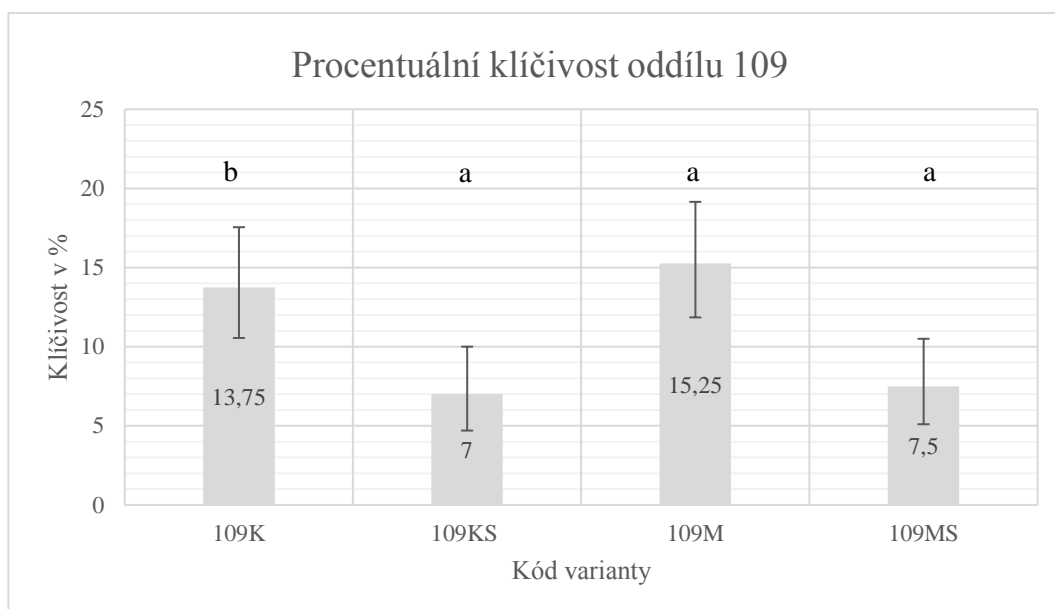
Varianty 109KS – 109M, se od sebe výrazně liší ($p = 0,0012$), kde je zřejmé, že klíčivost je vyšší u nestresované varianty za použití brassinosteroidu oproti stresované kontrole o 8,25 %.

U variant 109K – 109M a 109KS – 109MS na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, nedošlo k výraznému rozdílu ($p = 0,9327$, $p = 0,9932$).

Tabulka 4 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 109 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením

Porovnávaná dvojice při opakovaném porovnání	Testovaná stat. hodnota	Kritická hodnota	p-hodnota
109K–109KS	4,4059	3,6332	0,0099
109K–109M	0,8458	3,6332	0,9327
109K –109MS	4,0341	3,6332	0,0225
109KS –109M	5,2392	3,6332	0,0012
109KS –109MS	0,3796	3,6332	0,9932
109M –109MS	4,8698	3,6332	0,0032

Poznámka: Tato tabulka vyjadřuje statistické porovnání variant **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid v rámci zkoumaného oddílu 109 pomocí testu mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.



Obrázek 6 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 109

Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální klíčivost jedle bělokoré oddílu 109 v % po 28 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině ($p < 0,05$).

5.1.3 Vyhodnocení klíčení semen oddílu 126

Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ se od sebe liší varianty 126KS – 126M ($p = 0,0010$), kdy lépe naklíčila stresovaná kontrola oproti nestresovanému brassinosteroidu.

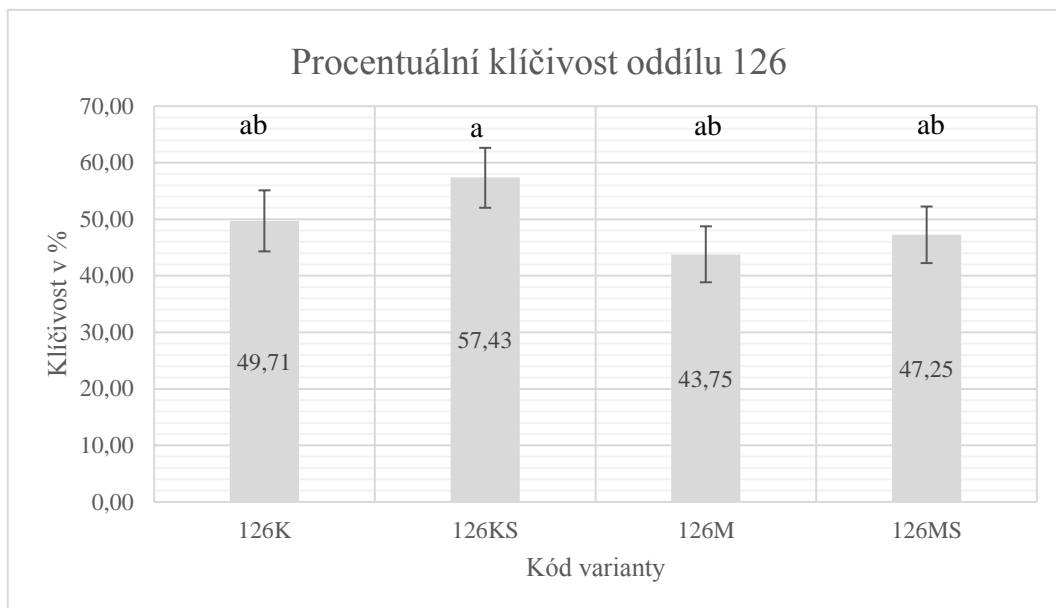
Varianty 126KS – 126MS se od sebe liší ($p = 0,0269$), kdy stresovaná kontrola, která dosáhla největší klíčivosti z oddílu a to 57,43 % a tím se liší od stresovaného brassinosteroidu o 10,18 %.

Ostatní varianty 126K – 126KS, 126K – 126M, 126K – 126MS a 126M – 126MS se na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ od sebe výrazně neliší.

Tabulka 5 - Přehled porovnávaných variant v rámci oddílu 126 pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením

Porovnávaná dvojice při opakovaném porovnání	Testovaná stat. hodnota	Kritická hodnota	p-hodnota
126K – 126KS	2,8941	3,6332	0,1711
126K – 126M	2,3080	3,6332	0,3605
126K – 126MS	0,9508	3,6332	0,9076
126KS – 126M	5,3221	3,6332	0,0010
126KS – 126MS	3,9481	3,6332	0,0269
126M – 126MS	1,4030	3,6332	0,7540

Poznámka: Tato tabulka vyjadřuje statistické porovnání variant **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid v rámci zkoumaného oddílu 126 pomocí testu mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.



Obrázek 7 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci oddílu 126

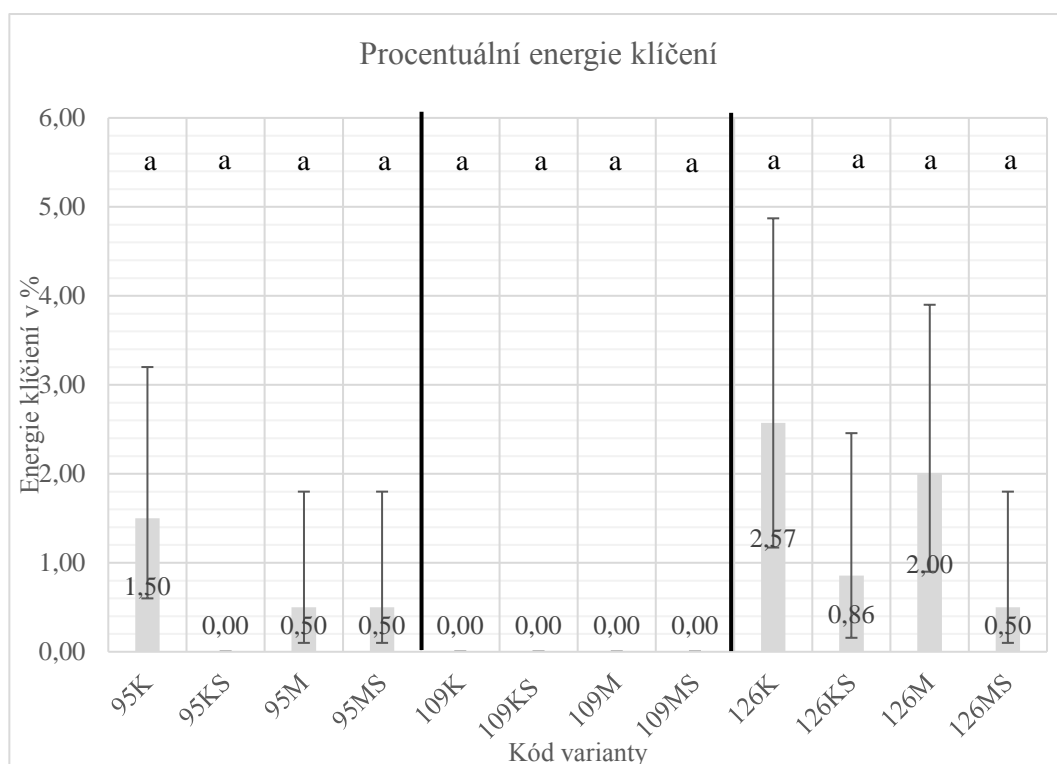
Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální klíčivost jedle bělokoré oddílu 126 v % po 28 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině ($p < 0,05$).

5.1.4 Vyhodnocení energie klíčení v rámci oddílů

Z obrázku 8 vyplívá, že největší energii klíčení vykazoval oddíl 126 a v rámci oddílu vykazují nejvyšší hodnoty energie klíčení obě nestresované varianty 126K s hodnotou 2,57 % a nestresovaný brassinosteroid s hodnotou 2 %. Menší energii klíčení dosáhly varianty 126KS s 0,86 % a 126MS s 0,5 %.

Oddíl 95 vykazoval menší energii klíčení, nejlépe vyšla varianta 95K s energií klíčení 1,5 % a stresovaná varianta i nestresovaná s brassinosteroidem vyšla 0,5 % a varianta 95KS vyšla s nulovou hodnotou klíčivosti v %.

Oddíl 109 vykazoval u všech variant nulovou energii klíčení.



Obrázek 8 - Porovnání procentuální energie klíčení semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů a variant

Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální energii klíčení všech oddílů jedle bělokoré v % po 7 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině ($p < 0,05$).

5.2 Vyhodnocení v rámci variant

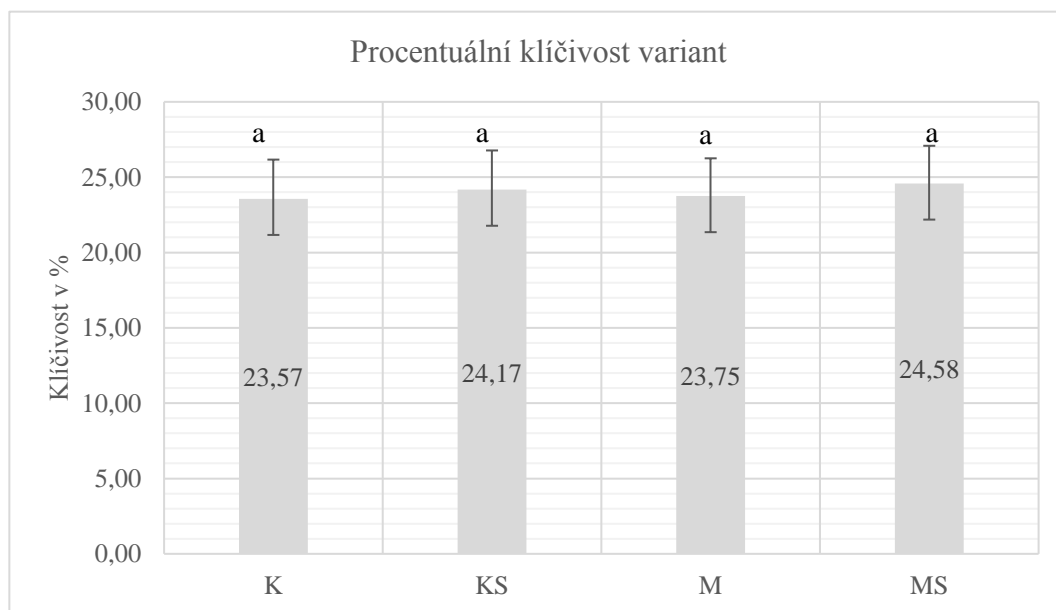
5.2.1 Vyhodnocení klíčení semen

Z výsledků vychází, že na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, se od sebe ani jedna z variant průkazně neliší.

Tabulka 6 - Přehled porovnávaných variant v rámci všech oddílů dohromady pomocí mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením

Porovnávaná dvojice při opakovaném porovnání	Testovaná stat. hodnota	Kritická hodnota	p-hodnota
K – KS	0,4835	3,6332	0,9863
K – M	0,1473	3,6332	0,9996
K – MS	0,8136	3,6332	0,9395
KS – M	0,3413	3,6332	0,9951
KS – MS	0,3249	3,6332	0,9957
M – MS	0,6734	3,6332	0,9644

Poznámka: Tato tabulka vyjadřuje statistické porovnání variant **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid v rámci všech oddílů dohromady pomocí testu mnohonásobného porovnání veličin s binomickým rozdělením na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

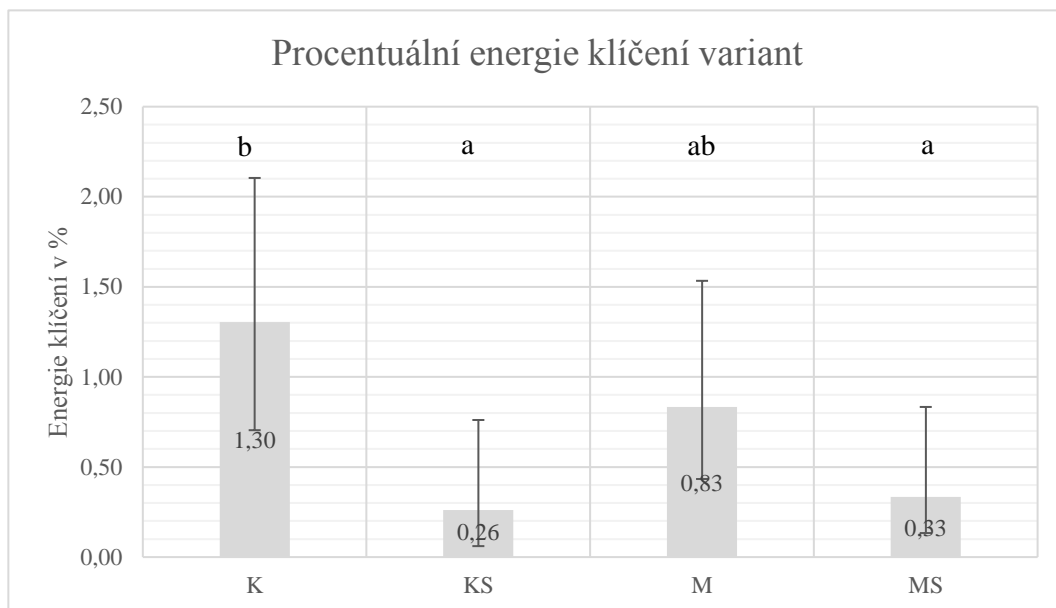


Obrázek 9 - Porovnání procentuální klíčivosti semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů a variant

Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální klíčivost jedle bělokoré všech oddílů v rámci všech variant v % po 28 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině ($p < 0,05$).

5.2.2 Vyhodnocení energie klíčení

Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ se od sebe liší varianty K – KS a K – MS ($p = 0,0350$, $p = 0,0623$). Z porovnání je zřejmé, že nejlépe naklíčila nestresovaná kontrola K s 1,3 % oproti stresované kontrole, která naklíčila o 1,04 % méně. Semena stresovaná s aplikovaným brassinosteroidem (MS) naklíčila také výrazně méně a to o 0,97 %. energii klíčení mají vyšší obě nestresované varianty oproti stresovaným variantám.



Obrázek 10 - Porovnání procentuální energie klíčení semen u stresovaného a nestresovaného režimu v rámci všech oddílů dohromady a variant

Poznámka: Tento obrázek znázorňuje procentuální energii klíčení všech oddílů dohromady jedle bělokoré v rámci variant v % po 7 dnech měření při stresových podmínkách a nestresových podmínkách. **K** – kontrola, **KS** – stresovaná kontrola, **M** – brassinosteroid, **MS** – stresovaný brassinosteroid. Chybové úsečky představují 95% interval spolehlivosti. Označení odlišnými písmeny znamenají významné rozdíly v hodnotách na hladině ($p < 0,05$).

6 Diskuze

HAYAT et al. (2003) zmiňují, že dříve nebyla brassinosteroidům věnována větší pozornost v rámci růstových regulátorů rostlin. Za posledních 25 let došlo ke změně a pokroku v jejich izolaci, charakterizaci a možnostech využití.

SHAH a kol. (2011) předpokládá, že stále zvyšující se teplota může vážně ohrozit nejen zemědělství. Doporučuje výměnu citlivých kultivarů na teplo za druhy tepelně odolné a aplikaci rostlinných hormonů, které by mohly pomoci k zmírnění prognózovaného snížení výnosů v důsledku globálního oteplování.

BAJGUZ a HAYAT (2009b) uvádějí, že brassinosteroidy mohou účinně působit v rostlinách, pokud se aplikují v patřičné koncentraci a ve správném stádiu. Brassinosteroidy pomáhají rostlinám překonávat abiotický stres. Brassinosteroidy reagují na stres spuštěním biochemických reakcí a potlačují nebo aktivují enzymatické reakce, syntézy proteinů a produkci různých chemických obranných sloučenin. BRs otevírají nové možnosti, jak zlepšit odolnost rostlin vůči abiotickým vlivům a nebezpečnému dopadu životního prostředí.

V laboratorním pokusu, který provedli KUNEŠ a kol. (2017) na semenech smrku ztepilého, borovice lesní, douglasce tisolisté za použití synteticky vyrobené sloučeniny brassinosteroidu $2\alpha,3\alpha,17\beta$ trihydroxy-5 α -androstan-6-one bylo zjištěno, že stres vyvolaný suchem potlačuje klíčivost všech uvedených druhů. U semen smrku ztepilého a borovice lesní bylo zjištěno, že přítomnost BR významně snížila účinky stresu. Semena douglasky tisolisté neměla pozitivní odpověď na aplikovaný brassinosteroid ve stresových podmínkách vyvolaných suchem. U semen dubu letního testovaných za optimálních podmínek nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi klíčivostí kontrolních žaludů a žaludů ošetřených brassinosteroidy.

Cílem této bakalářské bylo zhodnotit vliv brassinosteroidu 5-Fluoro-3 $\alpha,17\beta$ -dihydroxy-5 α -androstan-6-one o koncentraci 0,04 mg. l⁻¹

aplikovaného na osivo jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) za optimálních podmínek a ve stresových podmínkách. Mezi jednotlivými testovanými oddíly byly dílčí odlišnosti. Celkově lze ale konstatovat, že v rámci tohoto laboratorního pokusu nebylo zjištěno, že by brassinosteroid měl pozitivní účinek na klíčivost jedle za optimálních teplotních podmínek, ani při teplotním stresu, kdy testovaný brassinosteroid oproti kontrole neovlivnil klíčivost a v pozitivním směru ani energii klíčení. Výsledky vykazovaly téměř totožné hodnoty. Za optimálních podmínek kontrolní varianta (K) dosáhla 23,57% klíčivosti a varianta (M) s aplikací brassinosteroidu dosáhla klíčivosti 23,75 %, přičemž rozdíly nebyly průkazné. Na druhou stranu teplota, jíž bylo osivo ve stresované variantě vystaveno, zřejmě nezapříčinila zásadnější ohrožení osiva, protože klíčivost jedle v režimu s teplotním stresem byla prakticky stejná, jako u nestresovaného (optimálního) režimu klíčení. Z toho lze vyvodit, že při dalším experimentu s teplotním stresem na osivu jedle by u stresované varianty bylo vhodné teplotu ještě mírně zvýšit.

Z výsledků laboratorního pokusu lze konstatovat, že použití zvoleného brassinosteroidu o koncentraci $0,04 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ nebyla úspěšná a je důležité si položit otázky, zda je vůbec možné, aby jedle za použití BR mohla lépe klíčit ve stresovaných podmínkách za působení vysokých teplot. Pokud ano, je podstatné, aby si další výzkumy zvolily více koncentrací brassinosteroidu nebo případně byl zvolen jiný druh BR o různých koncentracích. V současné době brassinosteroidy nejsou zcela prozkoumanou oblastí z důvodu, že byly nedávno objeveny a izolovány. V rámci laboratorního pokusu jedle nebyla zkoumána na stres suchem, který je v poslední době také dost aktuální. Celosvětově se průměrné denní teploty zvyšují, což může působit u druhů choulostivých na vysoké teploty problém a snižovat jejich populace, proto je žádoucí prozkoumat vliv brassinosteroidů na více druhů dřevin.

7 Závěr

Předkládaná bakalářská práce se zabývá vlivem brassinosteroidu 5-Fluoro-3 α ,17 β -dihydroxy-5 α -androstan-6-one na parametry klíčení semen jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) za optimálních podmínek a za stresových podmínek vyvolaných přechodnou expozicí vysokým teplotám s kulminací na 39 °C. Srovnatelné hodnoty parametrů klíčení mezi jednotlivými režimy (stresový a nestresový) naznačují, že teploty ve „stresovém režimu“ byly nastaveny příliš nízko.

Výsledky laboratorního pokusu ukázaly, že aplikovaný brassinosteroid o zvolené koncentraci 0,04 mg. l⁻¹ nepodpořil klíčivost za optimálních podmínek ani při teplotním stresu, kdy hodnoty procentuální klíčivosti všech variant vyšly téměř totožně kolem 23-24 %. Výsledky dokonce naznačují, že energie klíčení byla poněkud vyšší u kontrolní varianty, i když v rámci jednotlivých teplotních režimů nebyly rozdíly mezi kontrolou a brassinosteroidem ošetřenou variantou statisticky průkazné. Z výsledků laboratorního pokusu lze konstatovat, že použití testovaného brassinosteroidu o zvolené koncentraci nebylo efektivní.

8 Seznam použité literatury

AGRESTI, A., BINI, M., BERTACCINI, B., RYU, E., 2008: Simultaneous confidence intervals for comparing binomial parameters *Biometrics*, 64 (4), 1270–1275.

BAJGUZ A., 2011: Brassinosteroids – occurrence and chemical structures in plants. In: Hayat S., Ahmad A. (eds): *Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer: 1–28.

BAJGUZ, A., HAYAT, S., 2009b: Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1-8

BEDNÁŘ, Z., HOŠEK, E., RAYNOCH B., 1963: Příspěvek poznávání příčin ústupu jedle v bývalém olomouckém kraji. *Lesnický časopis*, 9, 7, s. 649-672.

CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G., 1991: Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications, ACS Symp. Ser. 474, Am. Chem. Soc. Washington.

ČSN 48 1211, 2006: Lesní semenářství – Sběr, kvalita a zkoušky kvality semenného materiálu lesních dřevin. Praha, Český normalizační institut, 60 s.

HAYAT, S., AHMAD, A., FARIDUDDIN, Q. Brassinosteroids: A regulator of 21st century (pp. 231-246). Springer Netherlands, (2003).

HOFFMANN, J., CHVÁLOVÁ K., PALÁTOVÁ E., 2007: Lesné semenárstvo na Slovensku. 2. uprav. vyd. Sliac: ITgamma, 195 s.

HOUBA M., HOSNEDL V., 2002: Osivo a sadba: praktické semenářství. 1.vydání. Praha: Ing. Martin Sedláček, 186 s.

HRADECKÁ, D., URBAN, J., KOHOUT, L., PULKRÁBEK, J., HNILIČKA, R., 2009: Využití brassinosteroidů k regulaci stresu během růstu a tvorby výnosu řepy cukrové: Utilization of brassinosteroids to stress control during growth and yield formation of sugar beet. *Listy cukrovarnické a řepařské*, 125 (9), 271–273.

CHLOUPEK, O., 2008: Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Vyd. 3., upr. Praha, Academia, Česká matice technická, 307 s.

KANTOR, J., 1975: Zakládání lesů a šlechtění lesních dřevin: učebnice pro vysokoškolské lesnické obory. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, Lesnická knihovna, 526 s.

KOLOTELO D., 1997b: Anatomy and morphology of conifer tree seed. *Forest nursery technical series*, 61 s.

- KOLOTELO D., VAN STEENIS E., PETERSON M., BENNET R., TROTTER D., DENNIS J., 2001: Seed Handling Guidebook. Canada, BC, Ministry of Forests, Tree Improvement Branch: 106 s.
- KINCL, L., KINCL M., JAKRLOVÁ J., 2006: Biologie rostlin: pro 1. ročník gymnázií. 4. přepracované vydání. Praha, Fortuna, 304 s.
- KUNEŠ I., BALÁŠ M., 2014: Biologické základy pěstování lesů. Praha: Česká zemědělská univerzita, Katedra pěstování lesů. 120 s.
- KUNEŠ I., BALÁŠ M., LINDA R., GALLO J., NOVÁKOVÁ O., 2017: Effects of brassinosteroid application on seed germination of Norway spruce, Scots pine, Douglas fir and English oak, *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 10, 1, (121).
- KUPKA, I., 2005: Základy pěstování lesa. Praha: Česká zemědělská univerzita, Fakulta lesnická a environmentální, 174 s.
- MUSIL, I., HAMERNÍK J., 2007: Jehličnaté dřeviny: přehled nahosemenných i výtrusných dřevin: lesnická dendrologie 1.vyd. Praha: Academia, 352 s.
- NOVÁK, J., SKALICKÝ M., 2017: Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika. 4. vydání. Praha : Powerprint, 327 s.
- PROCHÁZKA S., a ŠEBÁNEK J, MACHÁČKOVÁ I. a kol., 1997: Regulátory rostlinného růstu. Praha: Academia, 395 s.
- PROCHÁZKA, S. a kol., 1998: Fyziologie rostlin. 1.vydání. Praha : Academia, 488 s.
- SHAH, F., HUANG, J., CUI, K., NIE, L., SHAH, T., CHEN, C., WANG, K: 2011. Impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related to tolerance. *Journal of Agricultural Science* 149 (5): 545–556
- SKOŘEPA, H., 2006: Jedle bělokorá v našich lesích. *Živa: časopis pro biologickou práci*. Praha: Academia, 54(3), 108-110.
- STOKES, P., 1965: Temperature and seed dormancy. In *Encycl. Plant Physiol.* W. Ruhland (ed.). Springer, Berlin. Vol. 15/2:746–803.
- SUSZKA, B., MULLER, C., BONNET-MASIMBER, M., GORDON, A., 1996: Seeds of Forest Broadleaves: From Harvest to Sowing. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France, 294 s.
- SVOBODA, P., 1943: Křivoklátské lesy, *Studia botanica Čech*, s. 22-43.

ŠINDELÁŘ, J., 1994: Možnosti optimalizace druhové skladby lesů ČR. Studie VÚLHM Jíloviště – Strnady, 82 s.

ŠINDELÁŘ, J., 1996: Problematika druhové skladby lesních porostů v České republice. Lesnická práce 75, č. 2, s. 44-46.

VILKUS, E., 2000: Rozmnožování ovocných a okrasných dřevin: základy školkařství. 2. nezm. vyd. Praha : Květ, 104 s.

VOKOUN, J., 1996: Koncepce úprav druhové skladby lesů v dlouhodobé perspektivě z hlediska hospodářské úpravy lesů ČR. VÚLHM Jíloviště – Strnady, ODIS, s. 29-39.

Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky: stav k roku 2017. Praha: Ministerstvo zemědělství v nakladatelství Lesnická práce, 2017 [cit. 16. 3. 2019].

Dostupné z: http://www.uhul.cz/images/ke_stazeni/zelenazprava/ZZ_2017.pdf

Použitý software

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing [online]. Vienna: R Core Team, [2018] [cit. 2019-04-04]. Dostupné z WWW: <<https://www.r-project.org>>