

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra Botaniky

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Studium dormance semen planých a primitivních
kulturních forem hrachu
(*Pisum sativum* subsp. *elatius* a *Pisum sativum* subsp.
sativum) v kontextu domestikace**

Žaneta Juračková

Biologie – Geologie a životní prostředí

Prezenční



Vedoucí práce: Ing. Petr Smýkal, PhD.

Datum odevzdání práce: 22. 4. 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením Ing. Petra Smýkala, PhD. a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci

.....

Žaneta Juračková

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat těm, kteří mi pomohli při zpracování bakalářské práce. Jmenovitě bych chtěla poděkovat vedoucímu bakalářské práce Ing. Petru Smýkalovi, Ph.D. za odborné vedení, všestrannou pomoc a všechny čas, který mi při konzultaci věnoval. Potom také Dr. I. Smýkalové za pomoc při odborném zpracování výsledků z obrazové digitální analýzy.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Žaneta Juračková

Název práce: Studium dormance semen planých a primitivních kulturních forem hrachu (*Pisum sativum* subsp. *elatius* a *Pisum sativum* subsp. *sativum*) v kontextu domestikace.

Typ práce: Bakalářská práce

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP

Vedoucí práce: Ing. Petr Smýkal, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2013

Abstrakt: V letech 2012 – 2013 jsem pracovala na pracovišti katedry botaniky v Olomouci. Ve své práci jsem použila celkem 40ks vybraných genotypů hrachu (*Pisum* sp.), reprezentující plané druhy (*P. fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatius*, *P. sativum* subsp. *sativum*) a kulturní formy hrachu setého (*P. sativum* subsp. *sativum*). Byla testována dormance semen během bobtnání a následné klíčivosti, vyjádřená procenty. Tento souhrn poznatků o tvrdosemennosti, tj. fyzikální bariéře permeability osemení a s tím spojené dormance, demonstruje míru dormance v závislosti na stupni domestikace. Zjistila jsem 100% až 0% dormanci v případě planých druhů, 55% až 0% u krajových primitivních domestikovaných forem a její úplnou absenci u moderních odrůd hrachu. Stupeň dormance nebyl v žádné korelaci s velikostí, hmotností semen, ale ukázala se částečná spojitost s pigmentací osemení.

Klíčová slova: hrách, dormance semen, domestikace, klíčení, luskoviny, osemení, *Pisum sativum*

Počet stran: 67

Počet příloh: 1

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification

Author's first name and Surname: Žaneta Juračková

Title: Study of wild and domesticated pea (*Pisum sativum* subsp. *elatius* and *Pisum sativum* subsp. *sativum*) seed dormancy in context of domestication.

Type of thesis: Bachelor thesis

Department: Katedra botaniky PřF UP

Supervisor: Ing. Petr Smýkal, PhD.

The year of representation: 2013

Abstract: During period of 2012 – 2013, I have worked at the Department of Botany, Palacký University in Olomouc. In my work I have used 40 selected genotypes of pea (*Pisum* sp.), representing both wild species (*P. fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatius*, *P. sativum* subsp. *sativum*) and cultivated forms (*P. sativum* subsp. *sativum*). Level of seed dormancy was tested and expressed as a percentage of swelling and subsequent germination. This body of knowledge about hardseededness, caused by physical barrier permeability of the seed coat and associated dormancy, demonstrates that the degree of dormancy depends on the degree of domestication. However variation in dormancy was found also in the case of wild species (100 - 0%), 55% and 0% for regional primitive domesticated forms and its complete absence in modern varieties. Level of dormancy was not in any correlation with the size, seed weight, but showed a partial association with testa pigmentation.

Keywords: pea, seed dormancy, domestication, germination, legumes, testa, *Pisum sativum*

Number of pages: 67

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

1 CÍLE PRÁCE	8
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1 Původ kulturních rostlin	9
2.1.1 Genová centra kulturních rostlin	9
2.2 Domestikace	13
2.2.1 Historie domestikace	13
2.2.2 Domestikace rostlin	15
2.2.3 Domestikační syndrom	19
2.3 Hrách setý (<i>Pisum sativum</i> L.) – jako modelová rostlina	21
2.3.1 Historie	21
2.3.2 Stavba a popis	24
2.3.3 Výskyt hrachu	26
2.3.4 Formy hrachu pěstovaného v ČR	26
2.3.5 Hospodářské členění hrachu	26
2.4 Semeno hrachu – jako model pro studium dormance	27
2.4.1 Anatomická stavba osemení	27
2.4.2 Vývoj semen	28
2.5 Dormance semen a klíčení	29
2.5.1 Příklady signálů, které způsobují přerušení dormance:	33
2.5.2 Klíčení semen, bobtnání	34
3 MATERIÁL A METODY	36
3.1 Materiál	36
3.2 Metody	40
3.2.1 Stanovení hmotnosti	40
3.2.2 Vytvoření fotografie	40
3.2.3 Digitální obrazová analýza DIA	42
3.2.4 Testování dormance semen	43
4 VÝSLEDKY	45
5 DISKUZE	57
6 ZÁVĚR	60
7 LITERATURA	62
8 PŘÍLOHY	67

ÚVOD

Zhruba před deseti tisíci lety proběhla jedna z nejvýznamnějších změn v lidských dějinách. Lidé přešli od lovení zvěře a sběru rostlin k pěstování rostlin a chovu zvěře, aby si tak zajistili svoji obživu. Postupně tak vznikalo zemědělství a potažmo i civilizace, jelikož se uvolnil potenciál pro specializaci práce. Postupná přeměna z planých rostlin na kulturní formy (domestikace) byla dovršena přibližně před čtyřmi tisíci lety a probíhala na několika geografických místech. Proces domestikace byl zprvu zřejmě neuvědomělý a teprve později pak cílený výběr semen z nejvhodnějších rostlin.

Právě studium změn během domestikace, patrné v ohromné variabilitě v rámci jednoho druhu inspirovalo vědce jako byl Ch. Darwin, A. DeCandolle a N.I. Vavilov, k vyslovení hypotéz o evoluci a přírodním výběru. Je i dnes fascinující, jak byly mnohé tyto druhy pozměněny, mnohdy k nepoznání od svých planých předků, a to během evolučně velmi krátké doby (pouhých několik tisíc let). Domestikační proces je tak souhrou tří faktorů: člověka, daného organismu a prostředí.

Původní až plané formy jsou opět v centru pozornosti a to obzvláště při domestikaci dnešních kulturních forem, ty totiž obsahují mnoho potřebných znaků, které nebyly využity v procesu domestikace.

Mezi nejdůležitější změny způsobené domestikací patří odstranění, nebo zmenšení dormance a omezení přirozeného šíření semen.

1 CÍLE PRÁCE

- Literární přehled problematiky dormance semen v kontextu domestikace kulturních rostlin. Stručný přehled znaků změněných během procesu domestikace rostlin.
- Souhrn poznatků o tzv. tvrdosemennosti, tj. fyzikální bariéře permeability osemení planých a kulturních rostlin.
- Experimentální testování dormance resp. bobtnání a klíčení semen vybraných položek planých a kulturních forem hrachu setého (*Pisum sativum*).

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Původ kulturních rostlin

Vznik kulturních druhů a forem rostlin je výsledkem dlouhodobého evolučního procesu, který je podmíněn genetickými mechanismy evoluce a usměrněnou lidskou činností (působení domestikace a cíleným šlechtěním). Kulturní formy vznikly a stále vznikají z původních planých předků. Je proto mnohdy obtížné nalézt spojitost mezi dnešními kulturními a původními planými formami. Větší četnost výskytu vnitrodruhových forem, vyšší míra genové, morfologické i fyziologické variability v rámci daného druhu, jsou kulturní rostliny považovány za kritérium pravděpodobného místa vzniku genového centra (Vavilov 1950). Podobně jako v evolučním procesu, i v průběhu domestikace docházelo prostřednictvím výběru člověka k rozdělení výchozích druhů na geneticky a geograficky izolované populace. Následně pak k intenzivnímu působení ekologických a genetických vlivů na tyto poměrně malé izolované populace. V důsledku tento proces tak vedl ke zvýraznění genetické odlišnosti daných populací, zejména centrálních a okrajových populací a ke vzniku morfologicky a fyziologicky odlišných typů. Výraznější rozdíly jsou patrné z porovnání některých odlišností kulturních a planých druhů a forem.

Základem evoluce kulturních druhů je proměnlivost vyvolaná dědičnými vlivy a vlivy okolního prostředí. Dědičnou proměnlivost podmiňují procesy mutace, hybridizace, zesiluje ji izolace a velikost populace a usměrňuje ji výběr (selekce) - přírodní výběr, ale také i „neuvědomělý“ umělý výběr primitivních zemědělců a záměrný výběr při současném šlechtěním. Všechny tyto faktory spolupůsobí navzájem.

Z evolučního, genetického a šlechtitelského hlediska jsou významné především dědičné změny, které vedou k diferenciaci genotypů v rámci populace a druhu, ke vzniku nových životaschopných jedinců, v některých případech i druhů a rodů, většinou se složitějším fenotypem (Graman et al. 1997).

2.1.1 Genová centra kulturních rostlin

Centra původu kulturních plodin jsou geografické oblasti, ze kterých dané druhy pocházejí, jsou to místa jejich vzniku. V genových centrech převažují dominantní formy daného druhu vzniklé na základě mutací a selekce.

Vyskytují se v nich i původní plané formy kulturního druhu a v periferních populacích (okrajových) se zvyšuje zastoupení recesivních forem (Graman et al. 1997).

Genová centra jsou místem největší genetické variability ve formě alelického spektra genů, ale i nejvyšší morfologické variability daného druhu. Genová centra kulturních rostlin na základě genetické diverzity definoval N. I. Vavilov (1950).

Dělení genových center:

a) Primární – kde kulturní druhy vznikaly z planých forem. Primární genová centra leží většinou v horských oblastech tropů a subtropů, jejichž přírodní podmínky jsou příznivé pro vznik a udržení vysoké variability organismů. Jsou to místa s největším počtem genetických forem.

b) Sekundární – oblasti s největší současnou různotvorností příslušných druhů. V těchto druhotných centrech došlo kdysi k četným mutacím a rekombinacím znakům a tím vzniklo často ještě větší bohatství nových forem, než bylo v prvotních centrech vlastního původu.

Základní význam primárních genových center pro genetiky spočívá v tom, že se tu vyskytuje mnoho primitivních znaků, které kulturní druhy v ostatních oblastech postrádají. Současně samosprašné druhy bývají cizosprašné, což je významné pro jejich evoluci (Nečas et al. 2004). N. I. Vavilov předpokládal, že stupeň mnohotvornosti daného druhu je také ukazatelem doby pěstování plodiny v dané oblasti. Centra původu druhů byla podle Vavilova současně i centra genetické proměnlivosti. Největší rozmanitost našel Vavilov v tropickém a subtropickém pásu v podhůří velkých pohoří. Tato pohoří byla vlastně i bariérou vedoucí k omezené migraci rostlin, lokální izolaci. Později se prokázalo, že ne vždy jsou centra s maximální úrovní genetické proměnlivosti centry vzniku kulturních rostlin (Boháč 1990; Chloupek 1995).

N. I. Vavilov na základě svých poznatků vymezil 8 genových center (viz obr. 1)

I. Čínské centrum - ječmen víceřadý, nahý a bezosinatý, čirok, pohanka, sója, ředkev, konopí, hrušeň, jabloň, meruňka, fazol.

II. Indické centrum - rýže, cukrová třtina, fazol, okurka, citrusy, palma kokosová, brukvovité rostliny, bavlník, banánovník.

III. Středoasijské centrum - pšenice, hrách, čočka, bob, drobnozrnný fazol, len, meloun, ředkvička, cibule, špenát, meruňka, mandloň, hrušeň, jabloň, oliva, vinná réva, vlašský ořešák.

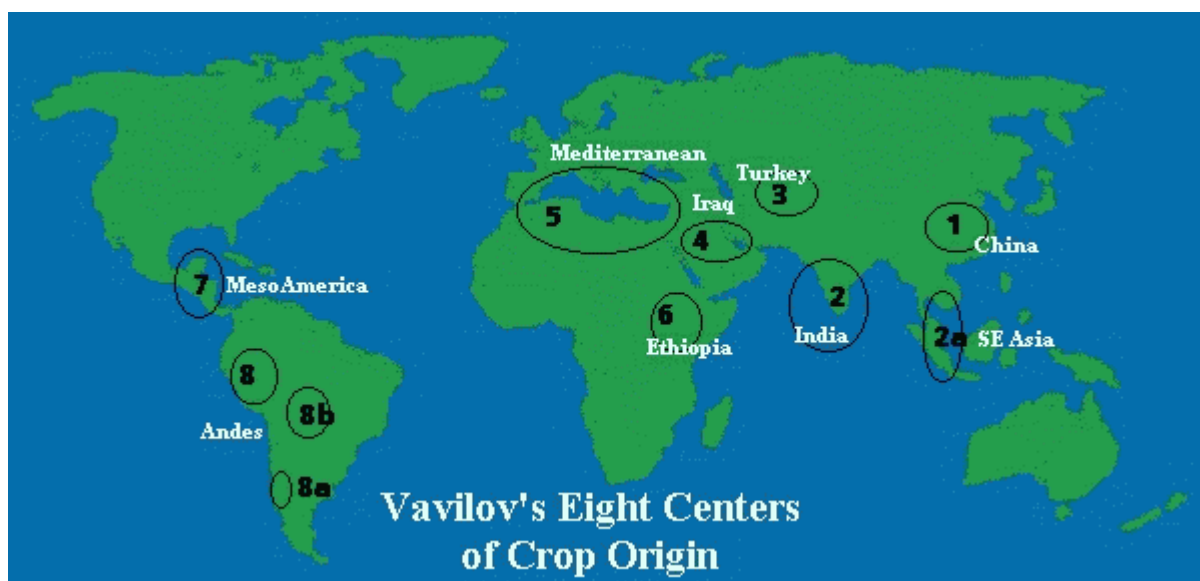
IV. Blízkovýchodní centrum - pšenice, žito, ječmen, cibule, salát, řepa salátová, zelí mrkev, len meloun, okurka, tykev, vojtěška, jetel perský, vičenec, vikev, lupina, vinná réva, hrušeň, třešeň, mandloň, smokvoň, vlašský ořešák.

V. Středomořské centrum - pšenice, ječmen, hrách, jetel alexandrijský, jetel inkarnát, vikev, len, hořčice, brukvovité plodiny, řepa, oliva.

VI. Etiopské centrum - pšenice, ječmen, len, hrách, čočka, bob.

VII. Středoamerické centrum - fazol, dýně, paprika, kakaovník, bavlník, tabák.

VIII. Jihoamerické centrum - brambor, kukuřice, fazol, rajče, dýně, bavlník, podzemnice, ananas, kakao.



Obr. 1. Mapa genových center

(<http://oregonstate.edu>)

Problematika genových center byla i nadále studována, získávaly se materiály ze sběrových expedic a v sedmdesátých letech P. M. Žukovskij (1971) rozdělil centra vzniku kulturních rostlin do **12-ti geografických genových center vzniku:**

I. GENOVÉ CENTRUM ČÍNSKO-JAPONSKÉ: patří sem např. sója, pšenice, ječmen, pohanka, čínské zelí

II. GENOVÉ CENTRUM INDONÉSKO-ČÍNSKÉ: rýže, kokosová palma

III. GENOVÉ CENTRUM AUSTRALSKÉ: tabák, rýže, některé bavlníky

IV. GENOVÉ CENTRUM INDICKÉ: fazole, indická rýže, některé druhy pšenice, pepřovník, konopí

V. GENOVÉ CENTRUM STŘEDOASIJSKÉ: žito, hrách, čočka, len, mák, salát, mrkev, cibule, česnek, špenát, ředkev, ředkev

VI. GENOVÉ CENTRUM PŘEDOASIJSKÉ: pšenice, ječmen, oves, vikev, meloun, řepa, zelí, pór

VII. GENOVÉ CENTRUM STŘEDOMOŘSKÉ: vavřín, žito, hrách, bob, mrkev, cibule, petržel, kedluben, chřest, brokolice, květák, kopr

VIII. GENOVÉ CENTRUM AFRICKÉ: pšenice, žito, ječmen, oves, čirok, rýže, len

IX. GENOVÉ CENTRUM EVROPSKO SIBIŘSKÉ: křen, chmel, konopí, len

X. GENOVÉ CENTRUM STŘEDOAMERICKÉ: kukuřice, brambory, fazol, tabák, paprika

XI. GENOVÉ CENTRUM JIHOAMERICKÉ: slunečnice, kukuřice, fazol, brambory, ječmen, tabák, bavlník, bob, tykev, rajče

XII. GENOVÉ CENTRUM SEVEROAMERICKÉ: ječmen, brambor

Praktický význam genových center spočívá v možnosti využití existující rozsáhlé genetické diverzity ve šlechtitelské práci - při rezistentním šlechtění, možnosti rozšíření genetické proměnlivosti šlechtitelského materiálu.

V období přelomu našeho letopočtu byla již většina kulturních rostlin domestikována a často rozptýlena daleko od svých center vzniku. Proměnlivost druhů se ale vyvíjela dále, zejména osídlováním nových území a kontinentů.

Kulturní plodiny se dělí na *primární* (např. pšenice, hrách, čočka, mák, len), které člověk využíval sběrem ještě před jejich zavedením do kultury a na *sekundární* (např. žito), které nejprve jako plevelné druhy jen doprovázely primární druhy a pěstovat se začaly až později (Graman et.al. 1997).

Podle původu lze kulturní druhy rostlin zařadit do 5 skupin:

(Graman et al. 1997)

1. není znám planý předek (bob koňský)
2. vyskytuje se v plané i kulturní formě, ale nejsou dostatečné důkazy o jejich příbuznosti (některé pšenice, ječmen, hrách)
3. planý předek je znám a existuje i v současnosti (rajče, jetel luční, vojtěška, lupina, kukuřice, slunečnice)
4. druhy hybridního charakteru, vzniklé na základě složité spontánní hybridizace rozdílných druhů a rodů, které se dnes zcela odlišují od kulturních druhů (některé pšenice, podzemnice olejná, cukrová třtina, tabák)
5. druhy zkulturněné nebo zkulturněované v posledním období (sudanská tráva, kozinec, sléz, řepka).

Pro důkaz původu některých kulturních druhů byly využity procesy resyntézy druhů, tj. cesta vzdálené hybridizace a amfidiploidizace uvažovaných rodičovských druhů s cílem umělého vytvoření kulturního druhu (pšenice obecná, řepka, švestka).

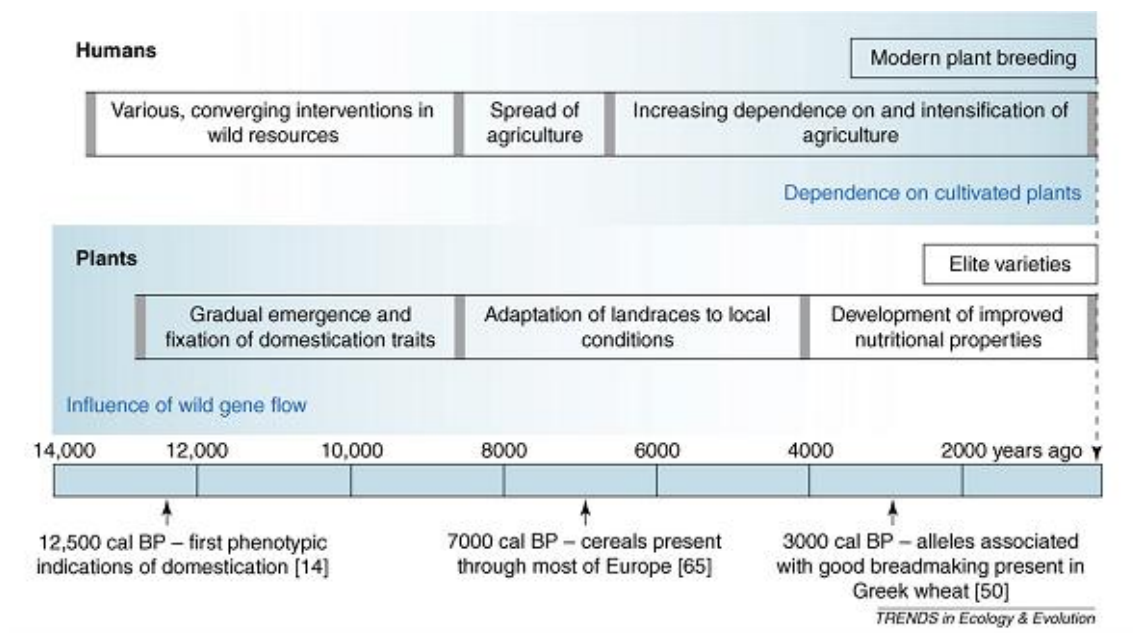
Analogickou cestou byly vyšlechtěny i nové v přírodě doposud neexistující druhy jako např. žitovec (*Triticale*), pýro-pšeničné hybridy (Rod 1982; Boháč 1990).

2.2 Domestikace

2.2.1 Historie domestikace

Šlechtění rostlin je tak staré jako pěstování rostlin samo, mohlo k němu dojít až s počátky domestikace rostlin. Domestikace nastala v neolitu, tj. asi před deseti tisíci let v údolí řeky Tigridu, v Mexiku a jinde. Zpočátku byly pěstovány hlavně obilniny, pak následovaly luskoviny, zelenina, len a teprve později okopaniny, olejnin a ovoce (Chloupek 2008). Doklady o procesu domestikace se studují nejen na základě archeologických nálezů

a srovnáváním rozdílů v současnosti mezi existujícími planými a kulturními formami jednotlivých druhů, ale nejlépe pomocí kombinace přístupů.



Obr. 2. Časová škála vzniku zemědělství a domestikace rostlin (Harlan 1971)

Lidé: různé zásahy planých zdrojů, šíření zemědělství. Rostoucí závislost na zemědělství. Postupná závislost na pěstované rostlině.

Rostliny: postupný vznik a fixace domestikace, adaptace krajových odrůd místních podmínek, postupný rozvoj zdokonalených nutričních vlastností u elitních odrůd rostlin

Před 12 500 lety - první fenotypové údaje o domestikaci.

Před 7000 lety - začátky pěstování obilovin po celé Evropě.

Před 3000 lety - nalezeny alely v pšenici, která se pěstovala v Řecku pro pečení chleba.

Kombinace přístupů pro zjištění možného geografického původu kulturních rostlin (Harlan 1971):

1) Rostliny současnosti: biosystematického analýzy, včetně genetiky, cytogenetiky, chemotaxonomy, morfologie, ekologie, geografie, z plodin a jejich blízkých příbuzných (v podstatě Vavilovian přístup). 2) Rostliny minulosti: archeobotanika, palynologie, datování uhlíku. 3) Lidé současnosti: lingvistika, ústní tradice, techniky a pěstování, postoje plodiny v kultuře, náboženství,

magie. 4) Lidé minulosti: historie, umění, archeologie (artefakty a odvozu zanechané člověkem). 5) Jiné zdroje: geologie, hydrologie, eroze, půdní analýzy, limnologie, živočišné zbytky, pro důkazy o změnách klimatu, vegetace a fauny, stejně jako pro nepřímé důkazy o zemědělství.

2.2.2 Domestikace rostlin

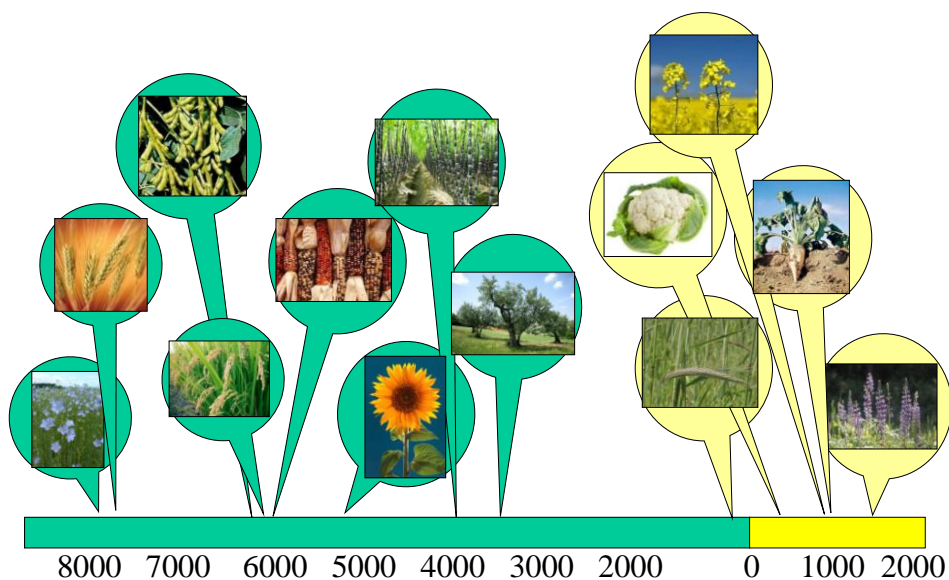
Proces postupné přeměny z planých na kulturní formy – domestikace, byl u všech hlavních plodin dovršen cca před čtyřmi tisíci lety a proběhl na několika geografických místech. Tato centra původu kulturních rostlin poprvé definoval ruský botanik N. I. Vavilov v roce 1926.

- 1) **Malá Asie:** Blízký Východ: pšenice, žito, ječmen, oves, len, luskoviny, vojtěška, len, mák, salát, ovocné druhy (83 druhů).
- 2) **Vnitřní Asie:** pšenice, luskoviny, len, bavlník, cibule, mrkev, ovoce, vinná réva (42 druhů).
- 3) **Středozeemí:** pšenice, ječmen, píceiny, zeleniny, brukvovité, řepa, hořčice, ovoce, olivovník, koření, zeleniny, chmel (84 druhů).
- 4) **Indie:** rýže, proso, luskoviny, lilek, okurek (117 druhů).
- 5) **Čína:** rýže, obiloviny, proso, pohanka, sója, mák, konopí, vigna, citrusy, čajovník (138 druhů).
- 6) **Indo - Malajsie:** cukrová třtina, ovoce, olejová a kokosová palma, banán (55 druhů).
- 7) **Etiopie:** ječmen, luskoviny, koření, čirok, káva (38 druhů).
- 8) **Centrální Amerika, Mexiko:** kukuřice, fazole, tykve, koření, quinoa, amarant, batáty, ovoce, přadné rostliny (49 druhů).
- 9) **Jižní Amerika, Andy:** brambory a jiné kořenové plodiny, zelenina, rajčata, tabák, chinin, kokain (45 druhů).
- 10) **Brazílie, Paraguay:** fazole, maniok, podzemnice, ananas, kaučukovník, kakaovník, maté (13 druhů).

Místa neolitické revoluce



Obr. 3. (Smýkal 2012)



Obr. 4. Časová osa plodin, které byly domestikovány v rozdílném časovém období (Smýkal 2012)

Za jedno z nejvýznamnějších center lze považovat Blízký Východ, vzhledem k počtu a důležitosti domestikovaných rostlin jako jsou: bob, čočka, hrách, ječmen, pšenice, len a další (Hammer et al. 2009).

Čeď	Počet domestikovaných druhů + příklady
Bobovité <i>Fabaceae</i>	41 fazole, hrách, čočka, sója, viona
Lipnicotvaré <i>Gramineae</i>	29 kukuřice, rýže, pšenice, proso
Brukvovité <i>Brassicaceae</i>	25 zelí, řepka, hořčice
Lilkovité <i>Solanaceae</i>	18 rajče, brambor, paprika, tabák
Okurkovité <i>Cucurbitaceae</i>	13 okurek, meloun, dýně
Růžovité <i>Rosaceae</i>	11 jabloň, broskve, švestky
Liliovité <i>Liliaceae</i>	11 cibule, česnek, pór
Mrkvovité <i>Daucaceae</i>	9 mrkev, fenykl, kopr, kmín
Hvězdicovité <i>Asteraceae</i>	8 slunečnice, topinambur

Tab. 1. Příklady čeledí s nejvýznamnějšími zástupci domestikovaných plodin.

Proces domestikace je tradičně prezentován jako zprvu neuvědomělý a teprve později pak cílený výběr semen z nejvhodnějších rostlin, které disponují výhodnými vlastnostmi. To bylo během mnoha generací dosaženo postupnou přeměnou z planého druhu na produktivní kulturní plodinu.

Soubor znaků změněných při domestikaci:

- hromadné klíčení semen – absence dormance
- současné zrání všech rostlin i všech plodenství na rostlině
- nerozpadavost klasů – omezení vypadávání semen
- nepukavost lusků
- zvětšení některých orgánů (např. dužniny plodů)
- zesílení některých pletiv
- zvětšení zásobních orgánů (hlíz, cibulí, semen)
- zvýšení obsahu zásobních látek (cukrů a tuků v semenech, kořenech, hlízách)
- zvýšení počtu semen
- zlepšení fertility a klíčivosti
- změny v architektuře rostlin

- změny v době kvetení
- eliminace toxických nebo inhibujících látek
- eliminace pigmentů semen
- eliminace mechanických ochranných orgánů jako chlupů a trnů

Některé z těchto změn znemožnily, aby rostly jako plané rostliny, např. kukuřice. Při domestikaci docházelo i k mezidruhovému křížení, např. pšenice, řepka, cukrová třtina, nebo švestky, které se plané nevyskytují. Tyto uvedené vlastnosti nebyly jen cílem výběru, ale také odrazem tehdejších sklizňových, secích a pěstebních postupů. Za klíčový moment se pokládá sběr, uchování a následné vysetí sklizených semen, namísto jejich ponechání k samovolnému výsevu, což ve svém důsledku navodilo silnější selekční proces. V současnosti je popsáno asi 250 tisíc druhů vyšších rostlin, avšak jen 500 z nich bylo podrobeno určité míře domestikace (Smýkal 2009). Vzhledem k povaze archeologických nálezů, nelze určit dobu, během níž proběhl proces domestikace, od plané formy až po kulturní plodinu. Většinou byly nalezeny zbytky buď planých nebo již domestikovaných forem. Někteří autoři zastávají názor, že domestikace mohla proběhnout poměrně rychle během několika set generací a mohla být dovršena v průběhu jednoho tisíciletí. Naopak, současné archeologické nálezy, genetické studie a modelování pomocí počítače, jako pravděpodobnější scénář podporují pomalý proces, trvající staletí a tisíciletí (Alaby 2010).

U čeledi *Fabaceae* (bobovité) je zjištěn největší počet domestikovaných plodin (Harlan 1992) se 41 domestikovanými druhy. Některé druhy luštěnin jako je vojtěška a jetel, byly domestikovány za účelem krmiva. Většinou však byly pěstovány pro vysoce výživná semena s vysokým obsahem proteinů, které tvořily důležitou součást stravy mnoha raných civilizací (Weeden 2007).

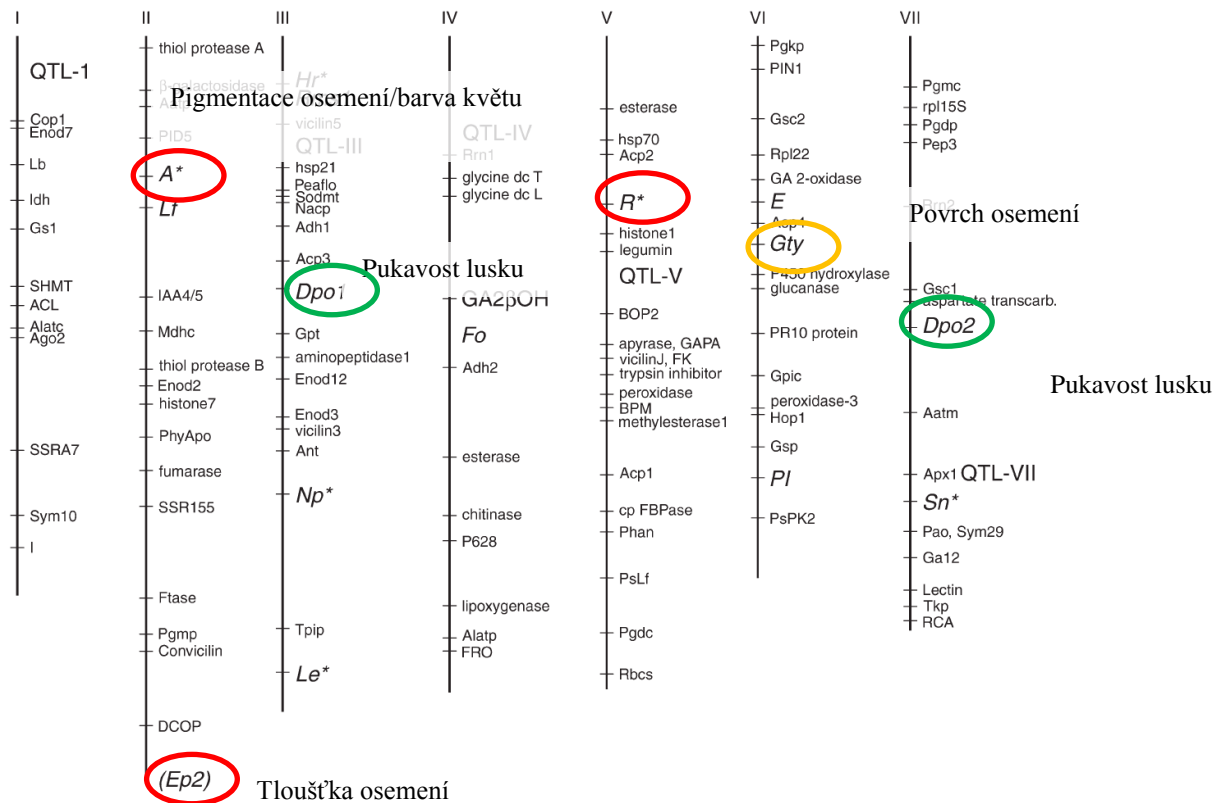
Mezi staré kulturní plodiny patří také hrách, který byl po své domestikaci rozšířen z původního centra výskytu (Blízký Východ a Středomoří) na východ do oblasti Afghánistánu, Íránu a Pákistánu a na jih do oblasti Jemenu a především Etiopie, kde pravděpodobně proběhla jeho druhá domestikace. Současné kulturní typy hrachu vykazují velkou genetickou diverzitu, kterou lze ve šlechtitelském procesu dále rozšiřovat využitím planých typů (Smýkal 2011).

Jako jeden z nejdůležitějších kroků domestikace byla modifikace šíření semen. Příkladem domestikace z planého na kulturní formy jsou známy u hrachu např. druhy volně žijící – plané druhy mají semena a zralé lusky, které po vysychání pukají. Naopak u kulturní formy suché zralé lusky zůstaly uzavřené (Ladizinski 1979). Plodiny se od svých předků liší určitými vlastnostmi, a jelikož podobné vlastnosti byly pozorovány u různých rostlinných druhů, byly souhrnně nazvány domestikačním syndromem (Hammer 1984).

2.2.3 Domestikační syndrom

Během domestikace u mnoha druhů proběhly velmi podobné změny, a to jak v rozdílech u vlastností a dormance semene, tak i v gigantismu a zvýšeném sklizňovém indexu. Mezi prvními, kdo použil pojem "**domestikační syndrom**" byl Hammer (1984). Tento pojem popisuje soubor změn u kulturních druhů rostlin. O několik let později byl propagován Harlanem (1992) a dalšími např. Koinange (1996). Domestikační syndrom se vyskytuje také u luštěnin, které jsou pěstovány pro jejich semena např. hrách (*Pisum sativum*), čočka (*Lens culinaris*), cizrna (*Cicer arietinum*), fazole, vřesovka (*Vigna unguiculata*), sója (*Glycine max*) aj. (Weeden 2007). Je to soubor znaků, které jsou značně podobné u většiny současných kulturních plodin i přesto, že jsou tyto znaky stejné v oblastech geograficky vzdálených od sebe. V posledních 20. letech, díky pokrokům v biologii a především genomice, začaly být identifikovány geny, které byly modifikované během domestikace různorodých plodin jako je kukuřice (*Zea mays*), rýže (*Oryza sativa*) a fazole (*Phaseolus vulgaris*). Nejlépe studovaným příkladem těchto plodin je kukuřice, kde bylo již popsáno několik genů zodpovědných za významné morfologické a fyziologické rozdíly mezi planými a kulturními formami. Jedním je *Tb-1* (*Teosinte branched*) – kontrolující architekturu rostliny. Mutace, (jedna z mála dominantních mutací vedoucích k domestikovanému znaku) vede ke zvýšenému projevu genu *Tb-1*, který se projevuje omezením větvení a tvorbou jednoho hlavního stvolu, jak je tomu u současné kukuřice. Další změna postihla gen *Tga-1* (*Teosinte glume architecture-1*), odpovědný za tvorbu pevného osemení (Doebley et al. 1990; Smýkal 2009). V případě obilovin, se díky fylogenetické příbuznosti a genomické syntenii podařilo využít výsledky dosažené u rýže nebo kukuřice,

a objevit tak homologní lokusy a geny. To by mohlo platit i u *Fabaceae* a vedlo by to k pochopení genetických změn, které nastaly v průběhu domestikace. V případě hrachu se o to pokusil Weeden (2007) a pomocí křížení planých a kulturních forem hrachu identifikoval přibližně 20 lokusů zodpovědných za úpravy rostlinných forem a funkcí, které doprovázely domestikaci hrachu. Nahrazení určitého genu za jiný u hrachu zlepšilo kvalitu semen a redukovalo dobu vegetačního klidu.



Obr. 5. Genetická mapa znázorňující polohy vybraných lokusů/genů zodpovídající za vybrané domestikační znaky u hrachu setého (Weeden 2007)

Lokusy (geny) které jsou zodpovědné za:

- pigmentaci o semení / barvu květu: *A* (identifikace genu – Hellens et al. 2010)
- pukavost lusku: *Dpo1*, *Dpo2*
- tvrdé o semení - povrch: *Gty*
- svařetelost semene: *R* (identifikace genu – Bhattacharya et al. 1999)
- tloušťka o semení: *Ep2*

Řešení těchto problémů pravděpodobně bude vyžadovat identifikaci kódování sekvence genu v kulturní plodině a následující mapování této sekvence v planém druhu. Tyto výzkumy byly prováděny u fazole, která se však neukázala jako velmi užitečný model pro pochopení genetiky domestikace u hrachu a naopak. (Weeden 2007). U fazole např. již známe gen zodpovědný za změnu habitu rostliny- z pnoucí (s nedeterminovaným růstem) na keřovitou formu (determinovaný růst) (Repinski et al. 2012).

2.3 Hrách setý (*Pisum sativum* L.) – jako modelová rostlina

Hrách jako vděčný biologický objekt, na kterém v r. 1846 objevil opat brněnského augustiniánského kláštera Johann Gregor Mendel základní principy dědičnosti a následně tak položil základy genetiky. Mendel využíval velké proměnlivosti kulturního hrachu pro studium dědičnosti. Později však zájem o hrách jako genetický model a zároveň také jeho pěstování upadl a nahradila ho během posledních 20 let dovážená sója.

2.3.1 Historie

Hrách patří k nejstarším kulturním plodinám. V přední Asii se pěstoval již v mladší době kamenné. Primárním centrem původu je centrální Asie, sekundárním je Přední Asie a Etiopie. Jako kulturní rostlina byl využíván v Egyptě a Přední Asii již před šesti tisíci lety (Chloupek 2008). Šlechtěním pak bylo dosaženo výrazných změn v morfologických znacích proti původnímu typu (Lahola 1990) např. linie s listy lichozpeřenými, mnoholístkové, bezlístkové, s redukovanými palisty, vícekvěté, semena v lusku smáčklá, slepená, s přirostlým poutkem. Naše šlechtění hrachu setého i pelušky dosahovalo v minulých desetiletích vysoké úrovně (Chloupek 2008).

Nejvíce hrachu pěstují v Indii, Číně a Brazílii (70% světové produkce), dále pak v USA, Kanadě, Austrálii, Rusku a na Ukrajině. Hlavní exportní zemí je v současné době Kanada (Houba et al. 2009). V České republice patří hrách k hlavním luskovinám, ale jeho plošné rozšíření je malé, s pěstební plochou kolem 10 000ha.

Semena hrachu vynikají vysokým obsahem bílkovin (asi 2x více než u obilovin), skladbou aminokyselin, obsahem vitaminů a minerálních látek.

Hlavní přednosti hrachu jsou:

- Schopnosti fixace vzdušného dusíku s převodem do půdy (zlepšuje fyzikální stav půdy i schopnost vázat další makro a mikro prvky pro výživu rostlin).
- Pozitivní vliv na úrodnost půd a vyváženost komplexu osevních sledů.
- Působí na přirozený útlum šíření škodlivých organismů u nejvíce pěstovaných plodin. Tyto přednosti pozitivně ovlivňují životní prostředí, mj. nižší potřebu chemických zásahů do následných kultur.
- Obsahem bílkovin (22 až 28%), aminokyselin a ostatních látek se hrách blíží k masu a má rozmanité využití v potravinářství.
- Použití ve výživě zvířat formou šrotů a jako zelené krmení.
- Využití pro výrobu škrobu, ve farmaceutickém průmyslu.

Semena hrachu jsou z hlediska výživy lidí a hospodářských zvířat významná díky jejich vysokému obsahu bílkovin. Naše odrůdy hrachu obsahují průměrně 22 – 26% hrubých bílkovin a 18% stravitelných bílkovin, ze kterých lidský organismus může využít 83 - 87,4%. Cenné je také zastoupení vitamínů A, B1, B2, C, v klíčku je i vitamín E, a minerálních látek – draslíku, fosforu, hořčíku, síry, vápníku a železa (Lahola 1990).

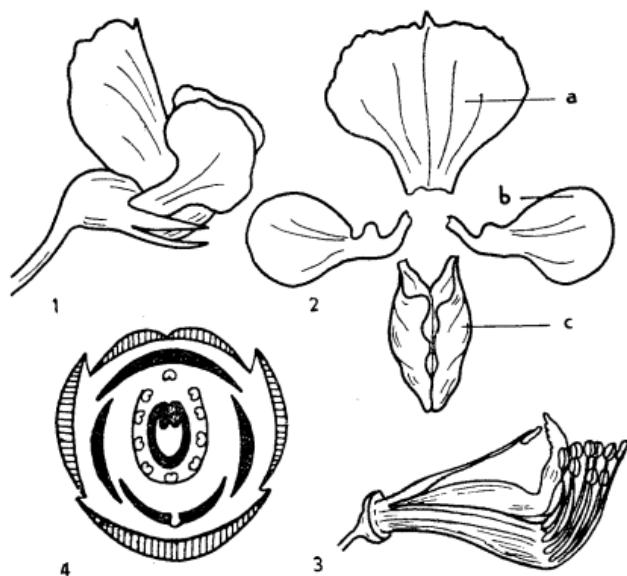
2.3.2 Taxonomie

Bobovité řadíme do kmene *Magnoliophyta* (Krytosemenné rostliny), třídy *Magnoliatae*, podtřídy *Rosidae*, nadřádu *Rosanae*, řádu *Fabales* a čeledi *Fabaceae*. Luskoviny tvoří početně velmi bohatou skupinu rodů a druhů náležejících do čeledi **bobovitých** (*Fabaceae*), syn. (*Papilionaceae*), luštěninaté (*Leguminosae*), vikvovité (*Viciaceae*). Čeleď zahrnuje asi 850 rodů a více než 24 000 druhů (Lewis et al. 2005).

Druhy luskovin se dělí do 10 skupin (tribus), z nichž nejvýznamnější jsou:

- **vikvovité** (*Vicieae*) či **bobovité** (*Fabeae*): s rody *Pisum* L., *Lens* Adans., *Lathyrus* L., *Vicia* L., *Faba* Adans. a *Cicer* L.,
- **jetelovité** (*Trifolieae*) – *Medicago* L., *Trifolium* L.
- **fazolovité** (*Phaseoleae*): s rody *Phaseolus* L., *Glycine* L., a *Vigna* L.,
- **kručinkovité** (*Genisteae*): s rodem *Lupinus* L.,
- **čičorkovité** (*Coronilleae*): s rody *Arachis* L. a *Ornithopus* L.

Luskoviny jsou rozděleny do různých podčeledí, z nichž ekonomicky nejvýznamnější jsou členy podčeledi *Papilionoideae*. Tato skupina je charakteristická svými květy, ve kterých je pět plátků uspořádaných do vzpřímeného velkého okvětního lístku (pavézy), 2 postranních okvětních lístků a zbývajících dvou lístků (křídel a člunku), které úzce obklopuje semeník. *Papilionoideae* jsou primárně bylinné druhy, kam patří nám známý jetel a hrách.



Obr. 6. Květ hrachu setého (<http://cernabizule.chytrak.cz>)

1- květ 2 - rozložené korunní lístky a) pavéza b) křídla c) člunek
3 – tyčinky a pestík 4 – květní diagram

Systematické třídění rodu *Pisum* L. 2 - 3 plané a 1 - 2 kulturní druhy (Smýkal et al. 2011)

- *Pisum fulvum* Sibth. et Sm.- jednoletý, xerofytní
- *Pisum sativum* subsp. *sativum* subsp. *elatius* (M.B.) Stev.- planý druh, nejvíce rozšířený, velmi variabilní morfologicky i fyziologicky, květy má fialové, semeno drobné, červenohnědé
- *Pisum sativum* subsp. *sativum* (syn. *P. syriacum* (Beregr) Lehm. /*P. humile* BOISS. et NOE), plazivý, nízký, pravděpodobný předchůdce kulturního druhu
- *Pisum abyssinicum* – Etiopský druh kulturního hrachu, možný hybrid *P. sativum* subsp. *elatius* x *P. fulvum*, předpokládaná nezávislá domestikace
- *Pisum sativum* subsp. *sativum* L., jediný kulturní druh nejvíce rozšířený v pěstování, má mnoho variant a forem

- *Vavilovia formosa* (*Pisum formosum* (Stev.) Boiss). - vytrvalý, s pestrobarevným květem, příbuzný monotypický druh

Botanická charakteristika hrachu

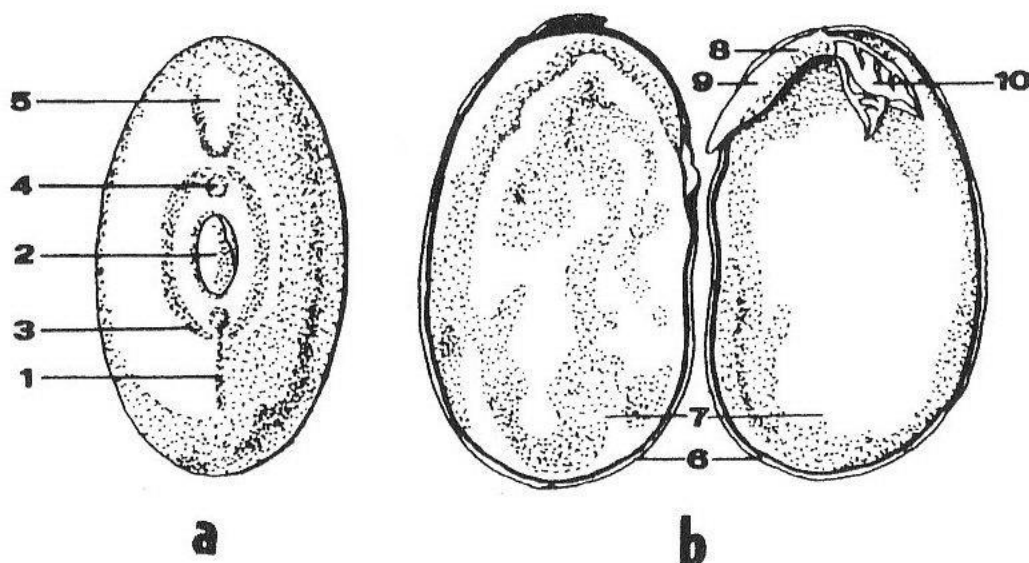
Počet chromosomů rodu *Pisum* je 14 ($n = 7$). Hrách je jednoletá rostlina, která má také formy ozimé (*f. hybernum*).

2.3.2 Stavba a popis

Hrách má středně hluboký kulový kořen, který proniká až 110 cm a v horní vrstvě půdy se bohatě větví. Lodyha je na průřezu okrouhlá, nebo zřetelně hranatá, dutá. Je holá a větví se podle odrůdy a podmínek. Lodyha je poléhavá, vystoupavá, nebo popínavá. Listy jsou obvykle sudozpeřené, zakončené úponky, které se přichycují k opoře. Lístky jsou oválné, nebo podlouhle vejčité, přisedlé. Při spontánní mutaci byl objeven typ rostliny hrachu, který měl přeměněny listy na úponky – tzv. *afila*.

Typické květenství je hrozen s květy umístěnými po jedné straně, ale jsou známy i případy s květy po obou stranách. Hrách je rostlina autogamní, kleistogamická. Květ je pětičetný. Semeník roste, vytváří lusk a obsahuje až 10 vajíček. Povrch osemení je obvykle hladké, ale např. u *Pisum sativum* může být i vrásčité (Lersten et al. 1982). Lusk bývá rovný, nebo různě prohnutý, obsahuje podle genotypu v průměru od 4 do 10 semen, která jsou různého tvaru a velikosti. Tvar semen je kulatý, oválný nebo svráštělý. Na obou stranách můžou být semena zkrácená nebo můžou mít hranatý tvar. Takové tvary jsou obvykle způsobeny tlakem z přilehlých semen v lusku. Semena přirůstají k hřbetní straně lusku ve dvou řadách poutkem (hilum). Barva semen může být zelená, žlutá, nebo hnědá s různými kresbami. Velikost semen je klasifikována podle délky jako malé (méně než 3mm), střední (3 – 6mm), nebo velké (6mm a víc). Semena hrachu jsou bohatá na bílkoviny (23 - 25%), pomaleji stravitelný škrob (50%), rozpustné cukry (5%), vláknina, minerální látky a vitamíny (Bastianelliet et al. 1998). K odlišení semen různých druhů luskovin slouží i tvar a barva pupku (hilum). Je to zbytek po poutku, kterým bylo semeno spojeno s hlavním cévním svazkem procházejícím hřbetem lusků (Lersten et al. 1982). Hmotnost semen je podmíněna geneticky a částečně i vlivem prostředí.

Průměrná hodnota hmotnosti tisíce semen se pohybuje v intervalu od 150 do 350 g (<http://agritec.cz>).



Obr. 7. Popis semene luskovin: a) pupková část: 1 – šev (raphe), 2 – pupek (hilum), 3 - chaláza, 4 – mikropyle, 5 – obrys kořínku, b) rozpůlené semeno: 6 – osemení (testa), 7 – dělohy (cotyledones), 8 – klíček (embryo), 9 – kořínek (radix) (Lahola 1990).

Semena se vyvíjejí mnohem pomaleji než lusk. Při zrání jsou do semen převáděny rezervní látky (včetně látek dusíkatých a bezdusíkatých) z listů a lodyh. Lusk se skládá ze dvou chlopní, které mají vnější a vnitřní pokožku. Mezi nimi se nachází vícevrstevné parenchymatické pletivo (mezokarp). Na vnitřní straně je pergamenová blána (endokarp) z příčně uspořádaných buněk. Nestejné sesychání parenchymatického pletiva a pergamenové blány v době dozrávání je příčinou pukání lusků a vypadávání semen. Záměrnou šlechtitelskou činností byla tato negativní vlastnost u kulturních druhů snížena nebo odstraněna. Poměrně pevným uzávěrem lusků se vyznačují kromě hrachu také čočka, sója, vlíčí bob bílý a bob. Lusk obsahuje 1 – 11 semen, které jsou ve hřbetní části ve dvou řadách přirostlá poutkem (funikulus) (Lahola 1990; Petr 1973).

2.3.3 Výskyt hrachu

Hrách se vyskytuje na rozmanitých stanovištích, což vedlo ke vzniku různých forem a primitivních odrůd. Následným výběrem bylo vyšlechtěno množství odrůd odlišujících se jak v morfologických a hospodářských znacích, tak i v dalších znacích jako je odolnost k chorobám, škůdcům či ostatním stresovým faktorům. Pro další šlechtění, která umožňují kombinování těchto vlastností, je velmi důležitá existence genových bank. V nich jsou shromažďovány, vyhodnocovány a skladovány položky daného druhu.

2.3.4 Formy hrachu pěstovaného v ČR

Rod *Pisum* je natolik různorodý, že jeho zařazení do planých nebo kulturních druhů je částečně nejasné. Nicméně, podstatná část genetické variability zůstává v planých formách a druzích rodu *Pisum* (Ellis 2011).

2.3.5 Hospodářské členění hrachu

Kulturní druh *Pisum sativum* L. je druh polymorfní a dále se třídí na poddruhy (ssp.) a podle hospodářského využití:

Podle Dostála (cit. Lahola 1990) je rod *Pisum* L. u nás zastupuje jediný druh - **hrách setý** (*P. sativum* L.), který se člení na dva poddruhy (ssp):

- **hrách setý pravý** - ssp. *sativum* (syn. *hortense* (L.) Čelak., syn. zahradní), slučující všechny genotypy s bílým květem
- **hrách setý rolní** (peluška) - ssp. *arvense* (L.) Čelak., s barevným květem.

Hrách setý - ssp. *sativum*. Zahrnuje všechny genotypy bíle kvetoucí se žlutě (růžově) nebo zeleně zbarvenými semeny.

Podle hospodářského využití má tyto formy:

- a) **hrách polní (pravý)** pěstovaný pro semena a zelenou hmotu
- b) **hrách zahradní** se 3 varietami (convar.):
 - na vylupování (var. *leptobolum* Cam.)
 - dřevňový (var. *quadratum* Mill.)
 - cukrový (var. *sacharatum* Hort.).

Botanická charakteristika zahradního hrachu je v zásadě shodná s hrachem setým, s těmito rozdíly: lusk cukrového hrachu nemá pergamenovou vrstvu, chlopně se sesychají kolem semen, semeno je zpravidla vráscité, výjimkou

je barevný květ a barevně mramorované semeno. Rozdíl je i v tvaru škrobového zrna, u zahradních hrachů je okrouhlé s radiální rýhou, což je dáno mutací v genu biosyntetické dráhy škrobu (Bhattacharya et al. 1999).

Hrách setý má velký počet genotypů. Celosvětově je registrováno množství odrůd různých forem. V ČR je v seznamu 37 odrůd. V seznamu doporučených odrůd (SDO) jsou v roce 2009 všechny odrůdy tohoto typu.

Hrách rolní (peluška) - ssp. *arvense*. Dříve se považoval za samostatný druh.

Peluška je především pícní plodina, využívaná pro krmné účely, převážně ve formě zelené hmoty. Botanická charakteristika je shodná s hrachem setým pravým, avšak s barevnými rozdíly. Peluška kvete obvykle fialovými, červenofialovými, či růžovými květy. Liší se také v přítomnosti antokyanové jednoduché nebo zdvojené skvrny v úžlabí palistu. Semeno, obsahující často hořké látky, se pro potravinářské či krmivářské účely nepoužívá. Semeno bývá většinou tmavší barvy, s případnou pigmentací. Jeho tvar je kulovitý, až hranatý. Velikost semene a délka lodyhy je charakteristická pro genotyp. Snáší i drsnější podmínky vyšších poloh. Při pěstování pelušky je výrazně nižší potřeba zásahů ochrany rostlin a celkové náklady na pěstování jsou menší. Hrách rolní má malolistou (evropskou) a velkolistou (asijskou) formu.

2.4 Semeno hrachu – jako model pro studium dormance

2.4.1 Anatomická stavba osemení

Nejvíce pozornosti bylo věnováno anatomické stavbě palisádových buněk označovaných jako „Malpighiovy buňky“, které se nachází v osemení. Již ve starších pracích autoři předpokládali, že v integumentárním systému semen existují místa různého stupně permeability pro vodu i roztoky solí. Pro objasnění propustnosti bylo užito testování semen hrachu *Pisum sativum*. Struktura blány palisádových buněk semen hrachu byla studována na příčných řezech testou a palisádových buněk (Spurný 1954). Prokázala se přítomnost kutinových struktur v horní polovině blány palisádových buněk, což nám umožňuje vyřešit problém podstaty fyziologických pochodů při bobtnání semene. Suberinové nebo kutinové lišty snižují propustnost ostatní hladké části testy a významně se podílejí na bobtnání semen. U pomaleji bobtnajících semen byla přítomnost těchto lišt až dvakrát větší, než u semen normálně bobtnajících. Tím se liší

rychlost bobtnání mezi semeny. Rychlost pronikání vody kolísá mnohdy od několika minut až do desítek hodin. Na základě výsledků bylo tedy prokázáno, že jediná těžce propustná vrstva pro vodu v osemení hrachu je kutikula a pod ní uložena vnější blána palisádových buněk (Spurný 1954).

2.4.2 Vývoj semen

Během vývoje semen probíhá ukládání fenolických látek. Bylo identifikováno několik fenolických látek v osemení, které korelují s tvrdostí a klíčivostí semene. Mezi tři hlavní fenolické látky patří epikatechin, cyanidin 3-O-glukosid, a delphinidin 3-O-glukosid. Z těchto fenolických látek pouze epikatechin vykazoval významně pozitivní vztah při vzniku „tvrdosemennosti“ a s tím související dormance. Hraje roli také při klíčivosti semen. Jak bylo zjištěno, epikatechin ukázal vlastnosti autooxidace s kyslíkem O₂. Role epikatechinu pravděpodobně brání vstupu O₂ a chrání tak embryo proti oxidaci, a proto si jsou semena schopna udržet vitalitu. Při pomalé a trvalé oxidaci O₂ na povrchu semene, se snižovala jeho tvrdosemennost a docházelo tak ke klíčení. Epikatechin hraje důležitou roli jak při vytváření, tak i poškození tvrdých semen v souvislosti s kyslíkem (Zhou et al. 2010). Čím nižší obsah fenolických látek v osemení, tím se může současně postupně snižovat i pigmentace semen, což je také typické v průběhu procesu domestikace (Plitmann et al. 1989).

Sója (*Glycine max* L. Merr.) je celosvětově rozšířenou plodinou. Dnešní kulturní druh byl domestikován z plané formy *Glycine soja* Sieb. et Zucc. Její planá forma je v Číně stále rozšířená a její semena vykazují znaky tzv. tvrdých semen. To je druh semen, které vykazují dormanci. Tvrdosemennost je adaptivní vlastnost pro rostliny, které jsou schopné přežít dlouhé období v nepříznivých podmínkách. Tvrdosemennost u sóji může chránit semena před poškozením, udržovat vysokou kvalitu a životaschopnost prostřednictvím delšího skladování. Naopak je to negativní vlastnost z hlediska potravinářského využití - absence příjmu vody, což vede k prodloužení vařivosti. Tím, že má tvrdosemennost vysokou odolnost proti poškození, na druhou stranu je bohužel doprovázeno sníženou klíčivostí (Zhou et al. 2010).

2.5 Dormance semen a klíčení

Definice dormance semen byla navržena Baskin a Baskin (2004). Dormantní semeno nemá schopnost klíčit v určitém časovém období v kombinaci s běžnými fyzikálními faktory prostředí, které jsou jinak příznivé pro jeho klíčení, tj. semeno se stává dormantní.

Dormance semene mohla být zprvu považována pouze jako blok k dokončení klíčení neporušeného životaschopného semene za výhodných podmínek. Finch-Savage a Leubner-Metzger (2006), představují ucelený pohled na vznik a mechanismy dormance semen od evoluce, molekulární genetiky, fyziologie, biochemie, modelování až po ekofyziologii kontroly klíčení semen. Dormance je tedy blok klíčení, který se vyvíjel odlišně u různých druhů prostřednictvím adaptace na jejich prostředí tak, aby klíčivost nastala, když budou podmínky pro vznik nové rostlinné generace vhodné (<http://seedbiology.de>; Finch-Savage et al. 2006). Přítomnost fyzikální dormance tzv. tvrdosemennosti je typický jev u většiny luskovin. Tento atribut je ekologického významu pro volně žijící rostliny, protože poskytuje lepší možnosti pro přežití v přírodě. Přítomnost tvrdých semen nejen že brání rychlému a jednotnému klíčení jak je požadováno pro pěstování, ale také prodlužuje dobu vyklíčení (Quinlivan 1971; Maass 2005). Kulturní rostliny byly šlechtěny na dobrou klíčivost. Avšak většina rostlin v přírodě má více nebo méně výraznou dormanci semen (Šetlík et al. 2004). Rostliny mají mnoho způsobů regulace dormance, proto se rozeznávají různé typy. Pokud jsou zapojeny rostlinné hormony (fytohormony), dělíme dormanci na hormonální.

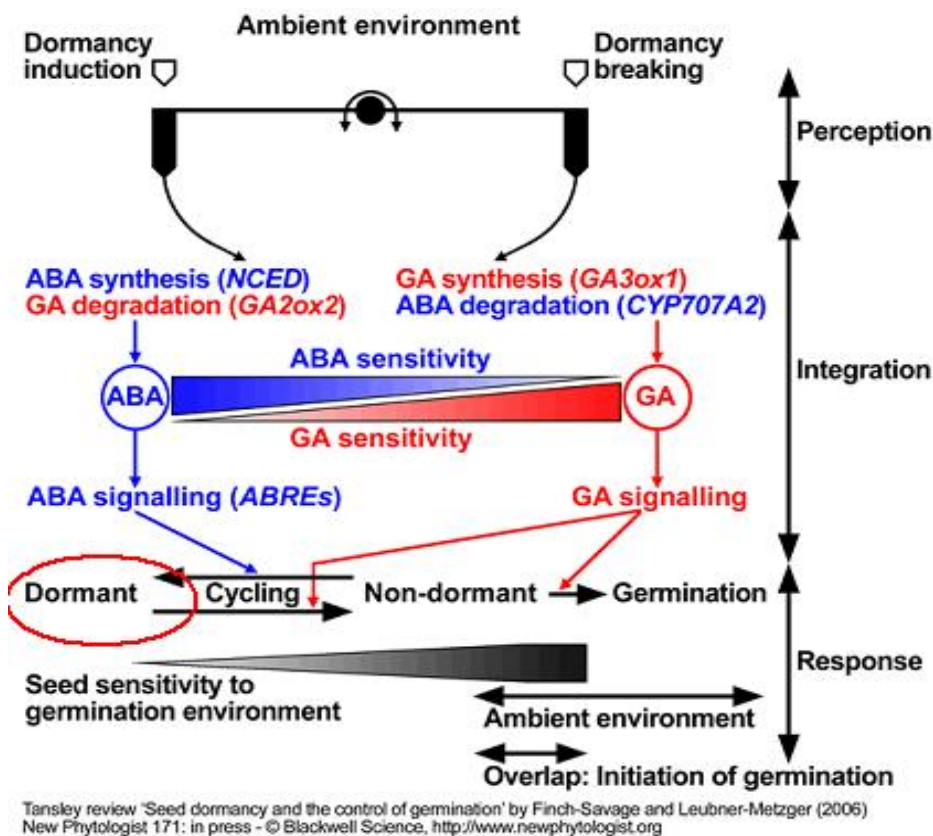
Dělení dormance:

1) Hormonálně podmíněná dormance

Růstové procesy, degradace zásobních látek i tvorba nezbytných nových metabolitů jsou endogenně řízeny především dvěma rostlinnými hormony - fytohormony - kyselinou abscisovou (ABA) a gibereliny (GA). Ukázalo se, že přítomnost giberelinů je nezbytná pro klíčení a přítomnost kyseliny abscisové zodpovídá za navození dormance v průběhu zrání semene. Existuje mnoho důkazů, že kyselina abscisová (ABA) je důležitý regulátor indukce období klidu a údržby stavu nečinnosti semen (Kucera et al. 2005).

- ABA – její nedostatek při vývoji semen je spojen s absencí primární dormance u zralých semen vzhledem k tomu, že nadměrná exprese genů biosyntézy ABA může zvýšit obsah ABA u semen a zlepšit tak dormanci nebo zpomalit klíčení.
- ABA – produkovanou u semene během počátečního vývoje, lze stanovit trvalou dormanci.

Tvorba semen a jejich dormance jsou významné adaptace na život na souši a na sezónní klimatické změny. Dormance semen umožňuje nejen přežít nepříznivá období, ale dává druhu také možnost rozšířit areál. Dormantní semena neklíčí ani tehdy, jsou-li vnější podmínky příznivé (dostatek vody, kyslíku, optimální teplota). Příčin dormance semena může být mnoho a mohou se vzájemně kombinovat. Pestrá škála dormancí se vyvinula v souladu s rozmanitostí klimatu a přírodních stanovišť, ve kterých působí (<http://seedbiology.de>).



Obr. 8. Model regulace dormance a klíčení ABA a GA v reakci na životní prostředí (Finch-Savage et al. 2006).

Okolní faktory prostředí (např. teplota) ovlivňují ABA / GA rovnováhu a s tím i citlivost na tyto hormony. Syntéza kyseliny abscisové (ABA) nám signalizuje dormanci (GA katabolismus) a syntéza giberelinů (GA) přechází v klíčení (ABA katabolismus) (Finch-Savage et al. 2006). Model ukazuje, že období klidu (dormance) může záviset na vnitřní rovnováze giberelinu (GA) - a kyseliny abscisové (ABA) - biosyntéza a katabolismus, který určuje dominanci jednoho z hormonů. GA u dormantních semen způsobil přechodné zvýšení hladiny ABA, což naznačuje, že u dormantních semen mechanismus zpětné vazby existuje a že si udržuje vysoký poměr ABA / GA a proto hraje velkou roli při klíčení.

Komplexní klasifikační systém dormance semen (Baskin et al. 2004):

1) Fyziologická dormance – nejrozšířenější forma, která se nachází u semen nahosemenných a krytosemenných rostlin. Je to nejrozšířenější forma dormance semenných bank a laboratoří (př. locika salátová, rajče keříčkové, slunečnice roční).

Dělení:

a) Hluboce dormantní – GA nemají vliv na jejich dormanci (př. javor mleč).

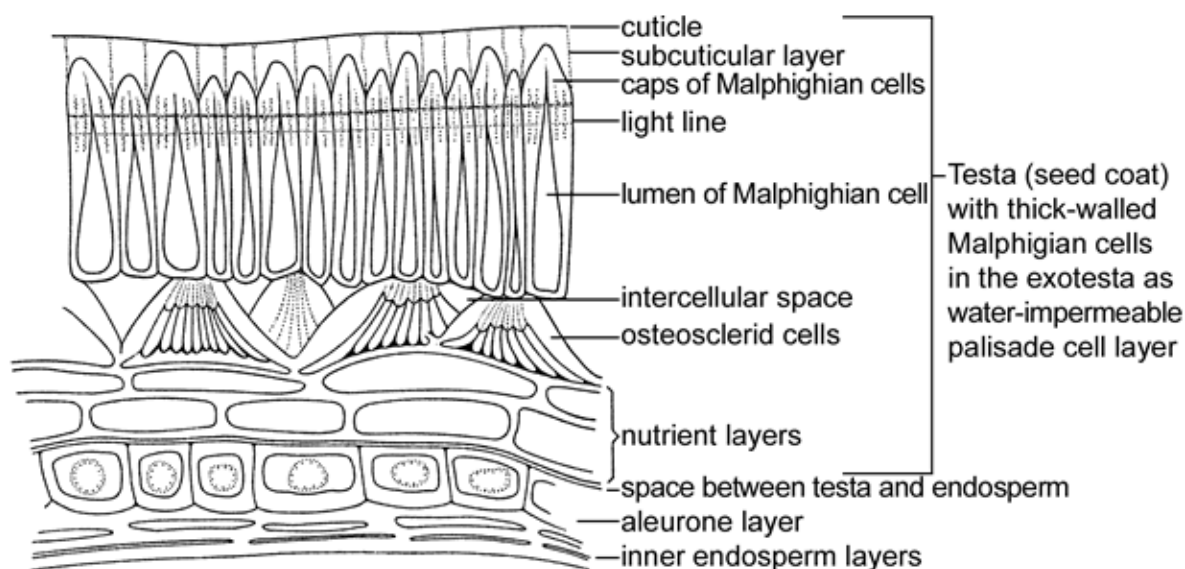
b) Částečně dormantní – GA podporují klíčení, ale ne u všech druhů (př. javor klen).

c) Lehce dormantní (až nedormantní) – GA přerušují dormanci, semena díky vzrůstající nebo klesající teplotě mohou přecházet z nedormantní do částečně dormantní nebo hluboce dormantní skupiny (př. huseníček rolní).

2) Morfologická dormance – nachází se u semen s embryi, která nejsou dostatečně vyvinutá (ve smyslu velikosti), semena této skupiny jsou diferencovaná (děloha a hypocotyl). Tato embrya nejsou fyziologicky dormantní, jen potřebují čas, aby vyrostla a vyklíčila (př. celer řapíkatý).

3) Morfofyziologická dormance – nachází se u semen, které mají málo vyvinutá embrya a mají navíc fyziologické součásti k jejich dormanci. Tyto semena vyžadují pro ukončení dormance skarifikaci, nebo aplikaci GA. Vyžadují podstatně delší dobu růstu než u morfologické dormance (př. jasan ztepilý) (<http://www.seedbiology.de>).

4) Fyzikální dormance – je způsobena jednou nebo více vrstvami palisádových buněk v osemení, které jsou nepropustné pro vodu. (viz obr. 9.). Tato nepropustnost je porušena až mechanickou nebo chemickou skarifikací. Až po ní mohou začít semena klíčit (Finch-Savage et al. 2006). Dormance semen může být také způsobena dormancí vlastního embrya, v jehož pletivech, nejčastěji v dělohách, je vysoký obsah inhibičních látek (ABA). Embryo, které překonalo vlastní dormanci, může setrvávat v klidu v důsledku podmínek, daných ostatními pletivy semena. Častou příčinou je vysoký obsah inhibičních látek různého charakteru v endospermu, perispermu i v obalových pletivech (Pavlová 2005).



Testa (seed coat) structure of *Melilotus alba* (Fabaceae). From Hamly (Bot. Gaz. 93: 345-375, 1932)
 © G. Leubner - The Seed Biology Place - <http://www.seedbiology.de>

Obr. 9. Struktura a stavba povrchu osemení *Fabacea*

Stavba povrchu osemení (popis shora): kutikula, subkutikulární vrstva, špičky Malpighických buněk, tenká linie, lumen Malpighických buněk, mezibuněčný prostor, sklereidové buňky, vrstva živin, prostor mezi testou a endospermem, vrstva lepku, vnitřní vrstva endospermu (<http://seedbiology.de>). Fyzikální dormance semen je spojena s hlavní mechanickou krycí vrstvou. Tato vrstva palisádových protáhlých buněk zabraňuje absorpci vody. K překonání dormance je u některých semen třeba působení dalšího vnějšího faktoru, např. dlouhodobého působení nízkých teplot, krátkodobého působení vysokých

teplot, světla apod. Dlouhodobé (tj. několik dnů až měsíců) působení nízkých teplot (2 až 5°C) pozitivně ovlivňuje klíčení nabobtnaných semen u mnoha druhů a představuje jednu z adaptací na sezonní charakter klimatu. Během tohoto období klesá obsah inhibičních látek (Baskin et al. 2000).

5) Kombinovaná dormance – nachází se u semen tvrdosemenných - vodou nepropustných, v kombinaci s fyziologickou dormancí (př. lípa srdčitá, škumpa vonná) (<http://www.seedbiology.de>).

Rozlišujeme také dormanci semen **primární a sekundární**.

- **Primární dormance** je dána růstem, vývojem, zráním semen za účasti kyseliny abscisové (ABA) na mateřské rostlině.
- **Sekundární dormance** je dána sníženou citlivostí semen k vodě, taková semena pak musí projít druhým cyklem dormance (přechod nedormantních semen do dormantního stavu) (<http://www.seedbiology.de>).

2.5.1 Příklady signálů, které způsobují přerušování dormance:

- 1) světlo** -- mnohá semena klíčí ve tmě nebo jen na světle
 - (a) absolutní množství
 - (b) červená část spektra (FAR) – 650 - 760 nm
- 2) teplota** -- zprostředkovává informaci o ročním období a intenzitě nadzemní kompetice mezi sousedními rostlinami
 - (a) denní maximum
 - (b) teplotní fluktuace
- 3) dostupnost vody**
- 4) oheň**
- 5) přirozeně se vyskytující chemické látky** (ABA) ve výluhu, který pokrývá semena v jejich prostředí
- 6) CO₂ v půdě** – indikuje množství potenciálních kompetitorů v okolí; CO₂ vzniká respirací kořenů (<http://seedbiology.de>).

Trait	Cross, number of loci and locus symbol*	
	87-18&19	M × J
Pod dehiscence	4 (<i>Dpo1</i> , <i>Dpo2</i> , <i>Np</i> , <i>Gp</i>)	2 (<i>Dpo1</i> , <i>Np</i>)
Seed dormancy	2 (<i>R</i> , <i>S</i>)	2 (<i>A</i> , <i>R</i>)
Plant height	2 (<i>Le</i> , <i>GA2βOH</i>)	2 (<i>Le</i> , <i>GA2βOH</i>)
Basal branching	1 (<i>Rms1</i>)	1 (<i>Rms1</i>)
Seed weight	4 (<i>R</i> , <i>Np</i> , QTL-I, -IV)	2 (<i>R</i> , <i>Np</i>)
Seed quality	3 (<i>Gty</i> , <i>Pl</i> , <i>R</i>)	4 (<i>Gty</i> , <i>Pl</i> , <i>R</i> , <i>A</i>)
Flowering response	4 (<i>E</i> , <i>Sn</i> , <i>Le</i> , QTL-V)	3 (<i>E</i> , <i>Sn</i> , <i>Le</i>)
Pod neoplasm	1 (<i>Np</i>)	1 (<i>Np</i>)
Root mass	1 (<i>Le</i>)	1 (<i>Le</i>)
Root/shoot ratio	2 (QTL-III, QTL-VII)	1 (QTL-VII)

Obr. 10. Genetické rozdíly zjištěné ve dvou populacích pocházejících z křížení u hrachu mezi planým a kulturním druhem (Weeden 2007).

Dormance je podmíněna nejméně 2 lokusy (geny).

2.5.2 Klíčení semen, bobtnání

Nedormantní semena mají schopnost klíčit v rozsahu optimálních fyzikálních faktorů životního prostředí možného pro určitý genotyp. Délka období klíčení je závislá na teplotě. Optimální teploty jsou kolem 15 – 20°C. Hrách klíčí hypogeicky za poměrně nízkých teplot kolem 4°C (Finch-Savage et al. 2006). Klíčení je vývojový proces obnovení metabolické aktivity v semenu, kterým se embryo mění v klíčnou rostlinu. Vedle základního požadavku na vodu, kyslík a vhodné teploty mohou být semena citlivé na světlo. Klíčení začíná příjmem vody suchého semene a následně zvětšováním embrya (<http://seedbiology.de>). První fáze klíčení spočívá v bobtnání semene, což je vratný fyzikální děj, často doprovázený prasknutím osemení. Voda proniká do suchého semene díky jeho nízkému vodnímu, resp. Matričnímu potenciálu. Bobtnání semene je proces fyzikální a může k němu dojít i u semen, jejichž embrya jsou dormantní nebo neobsahují embrya živá. Druhá, růstová fáze klíčení začíná růstem v embryu, prudkým zvýšením rychlosti respirace (která byla až dosud nepatrná) a mobilizací zásobních látek, kterých se účastnili gibereliny. Ty indikují syntézu enzymů, jež hydrolyzují a tím mobilizují zásobní látky v endospermu nebo v dělohách.

Prvním viditelným růstovým projevem klíčení je zvětšování embryonálního kořínku. Růst plumuly je zpočátku působením kořínku brzděn. Začíná později, teprve když kořínek dosáhl určité velikosti. Když plumula proroste o semením, klíčící semeno se mění v klíčnou rostlinu. Proražení testy je jedním z důležitých okamžiků klíčení. To umožní embryu kontakt s vnějším prostředím a zakotvení v půdě (Pavlová 2005).

Pro čeled' *Fabacea* (bobovité) je typickou překážkou při klíčení vrstva mechanického pletiva - palisádového sklerenchymu, která znemožňuje propustnost vody testou. Pletivo se nachází v o semením. (Procházka et al. 1998). Tím prodlužují klid semena a brání tak radikule prorazit testu.

V praxi se tyto bariéry odstraňují tzv. skarifikací – mechanickým narušením semenných obalů, která mohou být prováděna pouze mírnými metodami (ruční odstraňování obalů atp.), tak aby nedošlo k porušení embrya a tím snížení klíčivosti. Možné jsou také chemické metody využívající často působení slabých kyselin. V přírodě mohou být tyto bariéry odstraněny např. saprofytickými mikroorganismy, působením teplot pod bodem mrazu nebo aktivací hydrolytických enzymů ve vrstvách buněk pod mechanickou bariérou. U mnohých druhů rostlin, jsou obaly schopny bránit klíčení semena po řadu sezon až desetiletí, což je typické pro plevelné druhy (<http://genbank.vurv.cz>).

3 MATERIÁL A METODY

3.1 Materiál

Semena vybraných genotypů planých druhů a forem hrachu (*Pisum fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatius*, *P. sativum* subsp. *sativum*) a kulturního hrachu setého *Pisum sativum* a *P. abyssinicum* (v průměru 10 ks u každé položky) – 40 položek (genotypů) planých i primitivních forem (Středozeří – Indie – Tibet Čína – Etiopie) (viz tab. 2, 3). Všechny analyzované odrůdy byly získány z genových bank z jednotlivých geograficky odlišných vzorků.

Číslo	Taxonomie	Status (kulturní/planý)
W6 26112	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
W6 2101	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>	Planý
W6 2107	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>	Planý
W6 10925	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
JI 1010	<i>P. fulvum</i>	Planý
JI 2517	<i>P. fulvum</i>	Planý
JI 3149	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
JI 1794	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>	Planý
721	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
W6 20025	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
W6 20026	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
W6 26109	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
L100	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
713	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
IG 52520	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
IG 52508	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
IG 52220	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PIS 7475	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PIS 2850	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PIS 2845	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PI 344011	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PI 344013	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
PI 344010	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý
WL2140	<i>P. fulvum</i>	Planý
VIR 320	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>	Planý

JI 1267	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
JI 1974	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
CGN 3311	<i>P. sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
CGN 3319	<i>P. sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
PI 347467	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
PI 347466	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
PI 347464	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
PI 193835	<i>P. sativum subsp. sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
ATFC 08	<i>P.sativum</i>	Tradiční krajová odrůda
P014	<i>Pisum sativum var. arvense</i>	Kulturní
PI 358608	<i>Pisum abyssinicum</i>	Kulturní
W6 19256	<i>P.sativum</i>	Pravděpodobně kulturní
PI 639964	<i>Pisum sativum var. arvense</i>	Pravděpodobně kulturní
PI 269818	<i>P.sativum</i>	Odrůda
TERNO	<i>P.sativum</i>	Kulturní - moderní odrůda

Tab. 2. Označení odrůd, taxonomie a jejich status

Každá z vybraných odrůd má své určité taxonomické zařazení a označení statusem kulturní nebo planá odrůda.

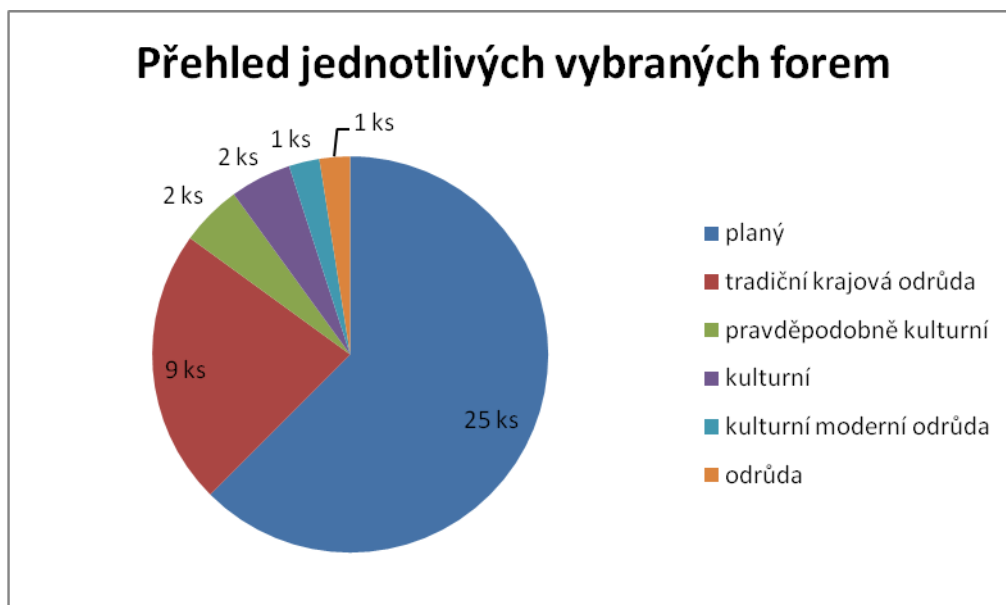
Podrobnější popis statusu odrůdy viz tabulka 2.:

Planá: samovolně se rozmnožují bez lidského přičinění

Tradiční krajová odrůda: kulturní odrůda pocházející z určité oblasti nebo místa, kde se tradičně po dlouhou dobu pěstovala

Kulturní – moderní odrůda: odrůda získaná cíleným šlechtěním

Pravděpodobně kulturní: ne zcela jistý původ



Obr. 11. Graf znázorňující status testovaných genotypů

Z celkového počtu zkoumaných položek bylo k dispozici největší zastoupení *planých* druhů (25 ks) a *tradiční krajové odrůdy* (9 ks). Původ jednotlivých odrůd uvádí následující tabulka 3.: zde jsou popsány odrůdy z různých zemí – 7x Turecko, 6x Israel, 4x Indie, 3x Bulharsko, 3x Etiopie, 3x Řecko, 2x Gruzie, 2x Pákistán, 1x Sýrie, 1x Francie, 1x Anglie, 1x Čína, 1x Itálie, 1x Makedonie, 1x Maďarsko, 1x Armenie, 1x Palestina, 1x Česká republika.

Číslo	Původ-země	Místo	Kolekce
IG 52508	Turecko	K.Maras	ICARDA
IG 52520	Turecko	Antakya	ICARDA
IG 52220	Turecko	Antakya	ICARDA
W6 2101	Turecko	Siirt	USDA
W6 2107	Turecko	Siirt	USDA
P014	Turecko	Tokat	VIR
JI 3149	Turecko		JIC, UK
JI 1010	Israel		JIC, UK
713	Israel	Beit Kama	VIR
WL 2140	Israel	Valley of Cross	JIC, UK
721	Israel	Bat Shelomo	VIR
L100	Israel	Beér Sheva	VIR
JI 1794	Israel	Golan Hight	JIC, UK
PI 347464	Indie		USDA

PI 347466	Indie	Uttar Pradesh	USDA
PI 347467	Indie	Uttar Pradesh	USDA
JI 1267	Indie	Bulandshahr	JIC, UK
W6 19256	Bulharsko	Albena	USDA
W6 10925	Bulharsko	Albena	USDA
PI 639964	Bulharsko	Albena	USDA
JI 1974	Ethiopie		JIC, UK
PI 193835	Ethiopie		USDA
PI 358608	Ethiopie	Nazareth	USDA
PI 344010	Řecko	Karyes, Mt Athos peninsula	USDA
PI 344011	Řecko	Xyropotamon Monastery, Mt Athos peninsula	USDA
PI 344013	Řecko	Karyes, Mt Athos peninsula	USDA
W6 26109	Gruzie	Partsklisi	USDA
W6 26112	Gruzie	Ateni Sioni durch	USDA
CGN 3319	Pákistán	Laspur, Balim	CGN
CGN 3311	Pákistán	Laspur	CGN
JI 2517	Sýrie	Harem	JIC, UK
W6 20025	Francie	Rougiers	JIC, UK
PI 269818	Anglie		USDA
ATFC 08	Čína	Yunan	ATFC
PIS 2850	Itálie	Camogli-Mortola	IPK
PIS 7475	Makedonie	Skopje	IPK
PIS 2845	Maďarsko	Szársomlyo	IPK
W6 20026	Armenie		USDA
VIR 320	Palestina		VIR
TERNO	Česká republika		CzNPC

Tab. 3. Původ jednotlivých druhů – genobanky

Kód	Země	Instituce	Webová adresa
VIR	Rusko	N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry, St. Petersburg	http://www.vir.nw.ru/data
USDA	USA	Plant Germplasm Introduction and Testing Research Station, Pullman	http://www.ars-grin.gov
CGN	Nizozemí	Centre for Genetic Resources, Wageningen	http://www.cgn.wur.nl/pgr/
ATFC	Austrálie	Australian Temperate Field Crop Collection, Horsham	http://www2.dpi.qld.gov.au/extra/asp/AusPGRIS
ICARDA	Sýrie	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo	http://www.icarda.cgiar.org
IPK	Německo	Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben	http://www.ipk-gatersleben.de/
JIC	Velká Británie	John Innes Centre, Norwich	http://www.jic.ac.uk/GERMPLAS/pisum
CzNPC	Česká republika	AGRITEC, Research, Breeding and Services Ltd., Šumperk	http://genbank.vurv.cz/genetic/resources

Tab. 4. Zkratky kolekce (genobanky) (viz tab. 3.).

Semena výše uvedených genotypů pocházela ze sklizně roku 2011, vypěstované v nádobových pokusech ve sklenicích Agritec Plant Research s.r.o. v Šumperku a byla uložena před vlastním stanovením na suchém místě při pokojové teplotě.

3.2 Metody

3.2.1 Stanovení hmotnosti

Pracoviště: Laboratoř molekulárních markerů katedry botaniky, UP v Olomouci.

Pomůcky: Analytické laboratorní váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko.

První bylo provedeno sčítání semen jednotlivých genotypů (položek), které byly následně zváženy na analytických vahách a zapisovány do tabulky. Výsledky vážení byly zaokrouhleny na 3 desetinná místa, počet kusů bylo později přepočítáno na hmotnost 10 semen (mg).

3.2.2 Vytvoření fotografie

Pomůcky: fotoaparát - Samsung ST90

Velikost semen byla vyfocena s měřítkem na bílém pozadí pro digitální analýzu obrazu (DIA). Semena by se neměla dotýkat, aby byla snadnější manipulace při

následném měření DIA analýzou. Pokud ano, oddělí se od sebe softwarovými funkcemi a mohou se přímo měřit. Viz obr. 12.

Zde byla vizuálně určena také barva – pigmentace semen pro vlastní klasifikaci. Podle vyhlášky č. 329/1997 Sb. (zákon č. 110 Ministerstva zemědělství ČR) je barevnost semen hrachu rozdělena do dvou kategorií na žlutý (hnědožlutý, oranžový a žlutý) a zelený (světlezelený, olivový, zelený) hrách (Smýkalová et al. 2011).

Pro tyto položky byly definovány tyto barevné standardy:

- černý
- tmavě hnědý
- kropenatý
- kropenatý dohněda
- kropenatý světlý
- bez pigmentu světlý až nazelenalý

Barevnost semen hrachu je dána obsahem pigmentů v dělohách embrya, protože osemení je průsvitné.

Změna barev semen spojená s postupným rozkladem chlorofylu osemení v průběhu zrání a uskladnění semen vyžaduje predikci změny. Vyladění barevných charakteristik před snímáním a sladění všech součástí optického systému je základním předpokladem pro objektivní měření (Smýkalová et al. 2011).



Obr. 12. Fotografie semen položky PI 344010
(*P. sativum* subsp. *elatius*, status planý, původ Řecko)

3.2.3 Digitální obrazová analýza DIA

a) Základní princip digitální obrazové analýzy:

Obrazová analýza patří mezi nedestruktivní analytické metody využívající digitální obraz k naměření dat, jejichž zpracováním získáváme informace o vlastnostech analyzovaných objektů.

Pro obrazovou analýzu bylo potřeba předem pořízených fotografií semen, kde byla potřeba kvalita pořízeného snímku, která rozhoduje o kvalitě a objektivitě dalšího zpracování obrazu prostřednictvím speciálních programů.

Každý obrazový bod, ze kterého obraz sestává, je dán pozicí 3 souřadnic x, y, z v trojrozměrném modelu barevného prostoru.

Jedno semeno nebo celý soubor semen zastupující genotyp jsou objektem, který hodnotíme a který je složen z velkého počtu těchto obrazových bodů, jejichž průměrná hodnota nám dá měřitelný a vyhodnotitelný údaj.

Asi nejvýznamnějším přínosem této metodiky je přesné definování a charakterizace daného genotypu v souboru odrůd nebo položky v genových kolekcích prostřednictvím změřených hodnot. Navíc ve spojení se statistickými metodami lze jednoznačně prokázat rozdíly mezi hodnocenými objekty, které nelze postihnout pouhým pozorováním nebo porovnáváním se standardy.

V případě analytického hodnocení semen se jedná navíc o materiál, který je dlouhodobě uchovatelný a má vysokou vypovídací hodnotu.

b) Příprava materiálu:

Vzorek: suchá vyžralá semena 40-ti položek

Kvalita semen: bez významného mechanického poškození, bez viditelného napadení škůdci nebo chorobami nebo bez přítomnosti organických zbytků (rostlinné a půdní apod.)

Přesné označení: číslo vzorku / odrůda / původ / hmotnost.

c) Aplikace software:

Vyhodnocování digitalizovaných snímků se provádí ve speciálním programu NIS - Elements AR 2.30.

Vyberou se parametry pro měření, které se měří a získané hodnoty se dále exportují například do MS Excel, kde jsou vytvořeny tabulky s naměřenými hodnotami.

Výběr a měření parametrů se volí podle požadavku na výslednou informaci:

Area (plocha): je hlavním kritériem velikosti – reálná plocha ($4 \cdot \pi \cdot r^2$)

EqDiameter (ekvivalentní průměr): je kritériem velikosti odvozeným z plochy a určuje průměr kruhu, která má stejnou plochu jako objekt ($4 \cdot \text{Plocha} / \pi$)^{1/2}

MaxFeret, MinFeret (maximální/minimální Feretův průmět): je maximum/minimum z Feretových průmětů, kdy při úhlu α , $\alpha = \{0, 10, 20, \dots, 180^\circ\}$

Elongation (protáhlost): se určuje jako poměr MaxFeret/MinFeret, je to užitečná charakteristika tvaru

Circularity (kruhovost): hodnota 1 je pouze pro kruh a všechny ostatní tvary jsou charakterizovány kruhovostí < 1 . Je to užitečná charakteristika tvaru, odvozená míra tvaru počítaná z plochy a obvodu: $4 \cdot \pi \cdot \text{plocha} / \text{obvod}^2$.

Výsledkem je získání informace o převažujícím zastoupení jedné ze tříd (nejvyšší četnost) a základní statistická data z naměřených parametrů (Smýkalová et al. 2011).

Zde jsou zahrnuty parametry pro velikost a tvar semen viz kapitola výsledky. Výsledky z DIA analýzy pro tuto práci vyhodnocovala Dr. I. Smýkalová.

3.2.4 Testování dormance semen

Pomůcky: Petriho misky, buničitá vata, voda, brusný papír, pinzeta

Postup:

- a) Semena jednotlivých položek byla vložena do Petriho misek na buničitou vatu, poté bylo přidáno takové množství vody (asi 2 větší lžíce), aby semena nebyla příliš ponořená a nebo neplavala ve vodě. Každá Petriho miska byla označena číslem každé položky tak, aby nemohlo dojít k záměně misek.
- b) Semena ponechána při cca 20 °C pokojové teploty, aby mohla bobtnat a klíčit.
- c) Zaznamenán v průběhu 1 – 5-ti dnů podíl bobtnajících semen, klíčení a dormance.
- d) U některých položek či odrůd byla pořízena fotografie (viz obr. 14, 15, 16 - průběh bobtnání, klíčení).
- e) V případě semen, která nereagovala ani po 5-ti dnech, tudíž u nich neproběhlo klíčení ani bobtnání, byla provedena skarifikace brusným papírem –

tím se mechanicky narušilo osemení a následně mohla být vrácena zpět do kultivace, kde byla schopna vyklíčit.

f) Skarifikace byla provedena i u semen, která částečně nabobtnala, ale další pochody u nich během 5-ti dnů nenastaly. U semen menších rozměrů byla použita ke skarifikaci pinzeta, pro snadnější držení při práci.

4 VÝSLEDKY

Číslo	Počet testovaných semen (ks)	Hmotnost semen (mg)	Hmotnost 10 semen (mg)
W6 26109	21	1133	540
JI 1010	25	1721	688
CGN 3311	23	1661	722
713	15	1086	724
WL 2140	36	2720	756
W6 26112	21	1632	777
CGN 3319	29	2330	803
IG 52508	14	1256	897
W6 2101	24	2239	933
JI 2517	26	2479	953
PI 347467	21	2045	974
721	18	1775	986
W6 20025	14	1417	1012
L 100	31	3139	1013
IG 52520	13	1355	1042
PI 269818	15	1588	1059
JI 1794	22	2350	1068
P014	27	2918	1081
ATFC 08	33	3569	1082
PI 347466	17	1858	1093
PIS 2850	14	1574	1124
PIS 7475	15	1699	1133
IG 52220	12	1399	1166
PIS 2845	16	1883	1177
PI 344011	20	2485	1243
PI 344013	15	1875	1250
PI 344010	15	1901	1267
W6 19256	13	1673	1287
W6 2107	18	2363	1313
PI 347464	20	2637	1319
PI 639964	25	3352	1341
JI 1267	23	3103	1349
JI 3149	17	2310	1359
JI 1974	22	3032	1378
W6 10925	20	3193	1597
W6 20026	15	2444	1629

VIR 320	18	3336	1853
PI 193835	11	2194	1995
PI 358608	16	3258	2036
TERNO	17	5301	3118

Tab. 5. Výsledky sčítání a vážení semen pro každý druh

Položky (genotypy, vzorky) byly sčítány od 11ks až po 34ks, dle množství dostupných semen. Hmotnosti všech semen, které byly zváženy na analytických vahách, byly u každého druhu přepočítány na hmotnost 10 semen. V tabulce jsou druhy seřazeny od nejnižší hmotnosti 10 semen, až po nejvyšší hmotnost u daných druhů. Tři položky s nejvyšší hmotností, které jsou uvedeny v tabulce, patří mezi krajové a kulturní odrůdy. Z výsledků v tabulce je patrné, že moderní odrůda TERNO (viz obr. 13a), která měla i podle měření největší rozměry (viz tab. 7), měla také největší hmotnost. Naopak semena plané položky W6 26109 původem z Gruzie – viz obr. 13b), měla nejnižší hmotnost, avšak ne dle rozměru zjištěného z pozdější DIA analýzy (viz tab. 7). Tudíž nebyla prokázána přímá závislost mezi hmotností a průměrem plochy semen jednotlivých druhů.



Obr. č. 13. a) odrůda TERNO



b) W6 26109

Číslo	Barva osemení – pigmentace	Status
713	kropenatý – dohněda	Planý
W6 20025	kropenatý – světlý	Planý
W6 2107	kropenatý – světlý	Planý
W6 2101	tmavě hnědý	Planý
W6 26112	kropenatý – dohněda	Planý
W6 20026	kropenatý – dohněda	Planý
W6 26109	Kropenatý	Planý
W6 10925	kropenatý – dohněda	Planý
PI 344013	kropenatý – dohněda	Planý
PI 344010	kropenatý – dohněda	Planý
JI 1794	Kropenatý	Planý
PIS 2850	kropenatý – světlý	Planý
IG 52220	kropenatý - světlý	Planý
PI 344011	kropenatý – dohněda	Planý
VIR 320	světle hnědý	Planý
IG 52508	Kropenatý	Planý
PIS 2845	Kropenatý	Planý
L 100	kropenatý - dohněda	Planý
PIS 7475	kropenatý - nazelenalý	Planý
JI 3149	Kropenatý	Planý
JI 1010	Černý	Planý
WL 2140	kropenatý-tmavě hnědý	Planý
IG 52520	Kropenatý	Planý
721	kropenatý - hnědý	Planý
JI 2517	kropenatý-tmavě hnědý	Planý
PI 347466	bez pigmentu - světlý až nazelenalý	Tradiční krajová odrůda
PI 347464	Kropenatý	Tradiční krajová odrůda
PI 347467	kropenatý - světlý	Tradiční krajová odrůda
CGN 3319	kropenatý - dohněda	Tradiční krajová odrůda
CGN 3311	kropenatý - dohněda	Tradiční krajová odrůda
PI 193835	bez pigmentu - světlý	Tradiční krajová odrůda
ATFC 08	bez pigmentu - světlý až zelenohnědý	Tradiční krajová odrůda
JI 1267	kropenatý - světlý	Tradiční krajová odrůda
JI 1974	Kropenatý	Tradiční krajová odrůda
PI 639964	kropenatý - dohněda	Pravděpodobně kulturní
W6 19256	kropenatý - tmavě hnědý	Pravděpodobně kulturní
PI 358608	bez pigmentu - zelený	Polokulturní
P014	bez pigmentu - světlý	Kulturní

PI 269818	Kropenatý	Odrůda
TERNO	bez pigmentu - světlý	Kulturní - moderní odrůda

Tab. 6. Barva osemení / pigmentace jednotlivých odrůd

Hrách reprezentoval semena s barevností mezi hnědou, kropenatou, zelenou až světlou – bez pigmentu. Z výsledků je patrné, že barevnost semen by mohla vypovídat i o významné korelaci hodnot mezi některým z parametrů dormance semen a pigmentací (viz graf obr. 17). Barevnost semen je významným rozlišovacím znakem. Viz foto v příloze. V tabulce byly zvýrazněny položky bez pigmentu, což bylo prioritním znakem u hodnocení dalších souvislostí. V tabulce uvedeny druhy jak bez pigmentu, mezi které patří 6 položek hrachů původem z Číny, Turecka, Indie, Etiopie a z České republiky, tak i převážná většina položek s různou pigmentací. Všechny položky (vzorky) bez pigmentace byly krajové a kulturní formy, které jsou taxonomicky řazené především jako *P. sativum*. Zbytek pigmentovaných semen tvořily především plané druhy.

Číslo	Hodnoty v mm 0.02mm/px kalibrace PLOCHA Průměr (DIA)
W6 19256	33,29
P014	56,88
JI 1010	60,3
ATFC 08	62,03
PI 193835	64,03
JI 3149	67,92
W6 26112	68,62
PI 639964	70,85
PI 344010	71,21
CGN 3319	73,31
PI 344011	74,64
CGN 3311	75,95
PI 347466	76,44
IG 52508	79,73
W6 20026	80,23
PI 347464	81,55
WL 2140	81,66

IG 52520	82,36
JI 2517	82,64
W6 10925	82,92
713	82,93
W6 26109	85,15
JI 1267	85,38
PI 344013	88,03
JI 1794	89,6
JI 1974	90,69
L 100	92,29
PI 269818	92,75
W6 2101	96,41
PIS 2845	97,95
W6 2107	106,08
721	112,9
TERNO	199,43

Tab. 7. Výsledky hodnocení plochy digitální obrazovou analýzou.

kulturní druhy – modrá buňka, plané druhy – hnědá buňka, nejmenší položky modře, největší položky červeně

Výsledky uvedené v tabulce 7, jsou hodnoty plochy v průměru, které byly změřeny digitální obrazovou (DIA) analýzou.

Tyto výsledky byly seřazeny od nejmenší hodnoty po největší. Kulturní formy vykazují velké rozpětí velikosti semen, vyjádřené plochou. Rozmezí velikosti sledovaných položek pro kulturní formy byla od 33,29 do 199,43mm. Pro plané formy od 60,3 do 112,9 mm. Jedny z největších semen v průměru na plochu měla odrůda TERNO (199,43 mm) původem z České republiky, položky 721 z Israele, W6 2107 původem z Turecka a PIS 2845 z Maďarska. Naopak nejmenší semena W6 19256, která pocházejí z Bulharska (viz obr. v příloze). Dalším z výsledků bylo porovnávání a zjišťování vztahu mezi velikostí semen vzhledem ke kulturním a planým druhům. Jediná odrůda TERNO, která měla největší, tj. nejhmotnější semena má status kulturní druh, jinak všechny ostatní druhy mající největší semena (vyznačeny červeně) z tohoto výzkumu, jsou plané formy. Nejmenší semena která byla zjištěna, měly položky W6 19256 a P014 (viz foto v příloze), patřící mezi kulturní formy.

Číslo	Počet testovaných semen	BEZ SKARIFIKACE					PO SKARIFIKACI			
		Počet klíčivých semen	Procenta klíčení	Bobtnání	Neklíčí (po 5 dnech)	Procenta dormance	Klíčení	Procenta životaschopných semen	Neklíčivá semena	
713	15		0		15	100	15	100		
W6 20025	14		0	2	12	100	14	100		
PIS 2850	14		0	1	13	100	14	100		
IG 52220	12		0		12	100	12	100		
PI 344013	15		0	3	12	100	15	100		
PI 344010	15		0	1	14	100	13	87	2	
W6 2107	18		0		18	100	18	100		
PI 639964	25		0		25	100	25	100		
W6 20026	15		0		15	100	15	100		
PI 344011	20	1	5		19	95	19	100		
W6 10925	20	1	5	1	18	95	17	90	2	
VIR 320	18	2	11		16	89	16	100		
W6 26109	21	3	14	1	17	86	16	90	1	
IG 52508	14	2	14	9	3	86	12	100		
PIS 2845	16	3	19	4	9	81	13	100		
L 100	31	6	19	2	23	81	25	100		
PIS 7475	15	3	20	1	11	80	6	60	6	
JI 3149	17	4	24	3	10	76	13	100		
W6 2101	24	8	33		16	67	8	67	8	
JI 1794	22	9	41		13	59	13	100		
W6 19256	21	9	43	1	11	57	12	100		
PI 347464	20	9	45	3	8	55	11	100		
W6 26112	21	11	52	1	9	48	9	95	1	
JI 1010	25	14	56		11	44	10	96	1	
PI 347466	17	11	65	1	5	35	1	71		
WL 2140	36	27	75		9	25	9	100		
IG 52520	13	11	85	2		15	2	100		
PI 347467	21	18	86	2	1	14	3	100		
PI 358608	16	14	88		2	13	2	100		
721	18	17	94		1	6	1	100		
CGN 3319	29	28	97		1	3		97	1	
CGN 3311	23	23	100			0		100		
JI 2517	26	26	100			0		100		
PI 193835	11	11	100			0		100		
PI 269818	15	15	100			0		100		
P014	27	27	100			0		100		
ATFC 08	33	33	100			0		100		
JI 1267	23	23	100			0		100		
JI 1974	22	22	100			0		100		
TERNO	17	17	100			0		100		

Tab. 8. Výsledky testování dormance

Výsledky zaznamenané během 5-ti dnů seřazené od 100% dormance až po nedormantní semena. Barevně rozlišeny buňky pro lepší přehlednost a viditelnost důležitých zjištěných údajů.

100% dormanci mělo 9 položek semene hrachu pocházející především z Řecka, Turecka, Francie, Itálie, Bulharska, ale také z Israele a Armenie. Tato semena nevyklíčila po 5-ti dnech vůbec, až po následné skarifikaci dokázala vyklíčit, a proto se u těchto semen prokázala dormance životaschopných semen.

U 8 druhů se objevila semena, která ani po skarifikaci nevyklíčila. Tato semena mohla být buď odumřelá, nebo neměla dokonale vyvinutou dělohu.

U převážné většiny položek se prokázala životaschopnost semen. 100% klíčení semen bez skarifikace byla zjištěna u 9-ti položek semene hrachu (viz tab. 8), mezi kterými byla i naše odrůda TERNO, která měla 0% dormanci, a proto má velmi dobré předpoklady klíčivosti semen. Mezi těmito semeny byla převážně semena bez pigmentace – světle zbarvena. Naopak při 100% dormanci se vyskytovala semena převážně kropenatá.

Je proto pravděpodobné, že by mohl být možný vztah mezi dormancí a pigmentací (viz obr. 17).

Ze všech 22 druhů, které měly dormanci nad 50% byla převážná většina 19 druhů planých, zbytek (3 druhy) byly kulturní. U těch druhů, které měly dormanci nízkou (do 50%), bylo z 18-ti druhů jen 6 planých forem a zbytek (12 druhů) kulturních, krajových forem a odrůd.

Z tabulky 8 lze také vyčíst, že u všech druhů (až na jedinou kulturní formu PI 639964), které měly 100% dormanci se vyskytovaly plané formy. Naopak druhy s 0% dormancí (a tedy se 100% klíčivostí), byly až na jediný planý druh JI 2517 (viz foto v příloze), všechny kulturní. U semen planých druhů se nejvíce dormance pohybovala v rozmezí od cca 50 – 100% a u semen kulturních druhů byla dormance zastoupena cca od 0 – 50%.



Obr. 14. Semena odrůdy TERNO – 1. fáze (1. den)

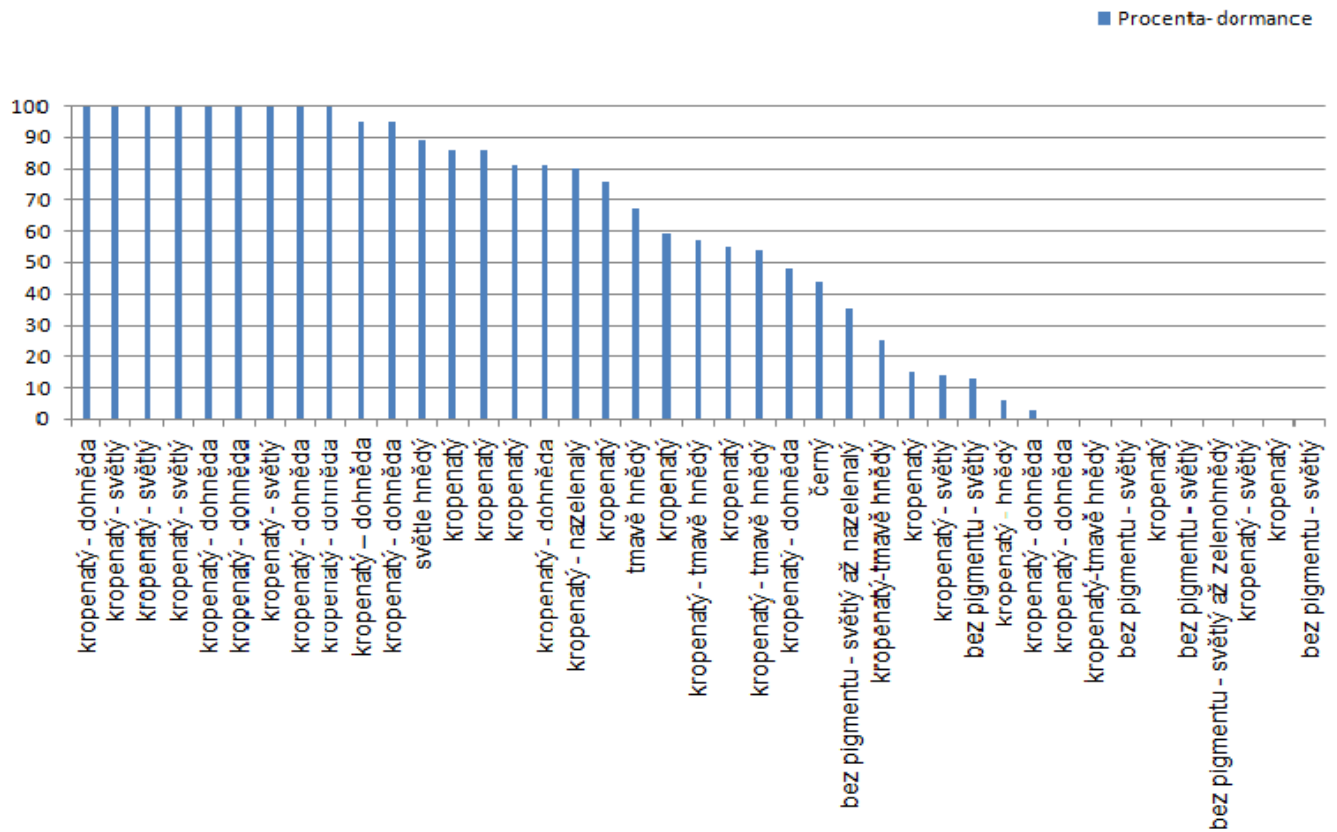


Obr. 15. Semena odrůdy TERNO – 2. fáze bobtnání (3. den) semena přijímají vodu, zvětšují svůj objem



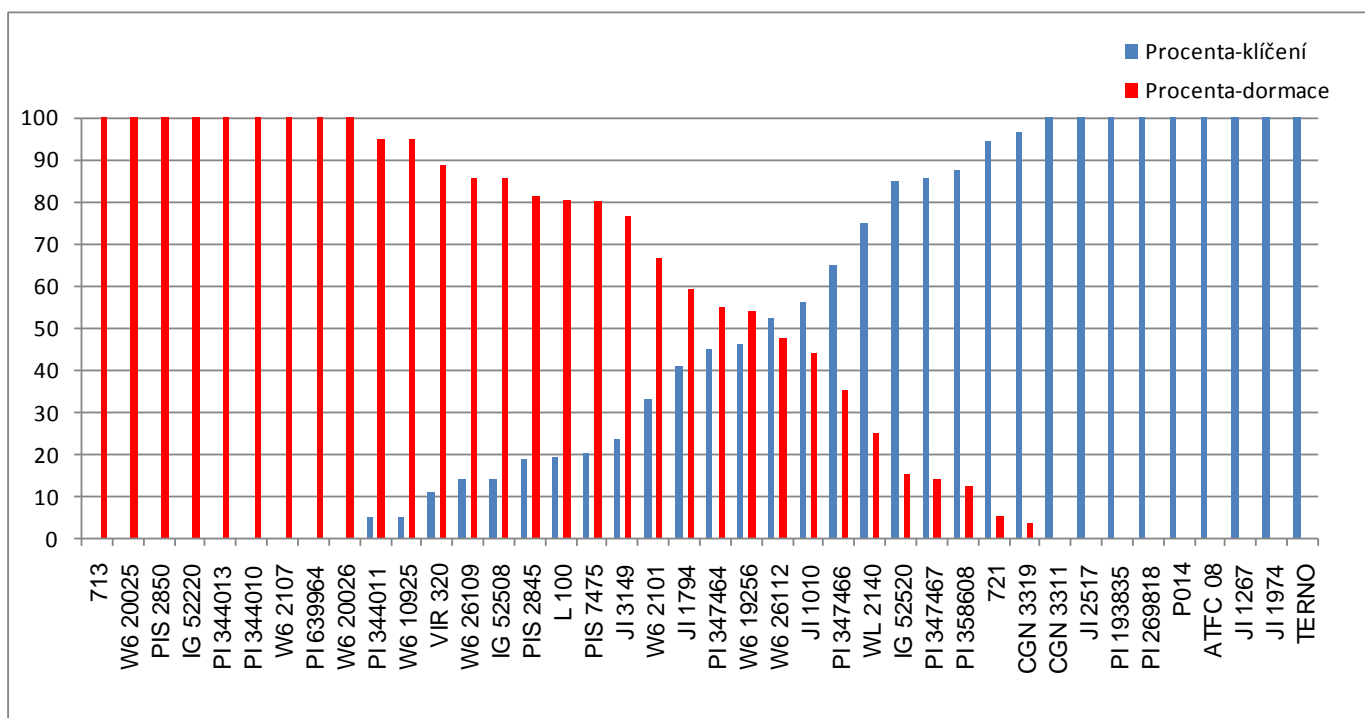
Obr. 16. Semena odrůdy TERNO – 3. fáze klíčení (4. den) semena s kořínkem

Dormance vs. pigmentace



Obr. 17. Graf zobrazující porovnání závislosti barevnosti semen a dormanci

Z grafu můžeme vyčíst, že převážná většina semen, která měla dormanci alespoň nad 50%, byla pigmentovaná – kropenatá, kropenatá-dohněda až kropenatá-světlá. Naopak s 0% dormancí, byla zjištěna semena bez pigmentu. Bylo by možné tvrdit, že se zde prokázala částečná závislost pigmentace na dormanci.



Obr. 18. Graf znázorňující vzájemný vztah procenta klíčení s procenty dormance

Z grafu lze jasně vyčíst, kolik druhů se prokázalo se 100% dormancí a kolik druhů se 100% klíčením. Tyto dva navzájem si korelující procesy se prokázaly u převážné většiny položek.

Nejpřibližnější shoda a taky podobné procento dormance (54%) a klíčení (46%), se objevovalo nejvíce u položky W6 19256. Tento kulturní druh má semena schopná jak klíčit, tak i zůstat nějakou dobu v dormančním stavu.

Číslo	Kruhovitost Průměr	Velikost - Průměr	Dormance (%)
713	0,865	82,93	100
PI 344013	0,955	88,03	100
PI 344010	0,876	71,21	100
W6 2107	0,942	106,08	100
PI 639964	0,952	70,85	100
W6 20026	0,939	80,23	100
PI 344011	0,923	74,64	95
W6 10925	0,844	82,92	95
W6 26109	0,919	85,15	86
IG 52508	0,931	79,73	86
PIS 2845	0,953	97,95	81
L 100	0,936	92,29	81
JI 3149	0,943	67,92	76
W6 2101	0,953	96,41	67
JI 1794	0,96	89,6	59
PI 347464	0,94	81,55	55
W6 19256	0,885	33,29	54
W6 26112	0,934	68,62	48
JI 1010	0,946	60,3	44
PI 347466	0,942	76,44	35
WL 2140	0,928	81,66	25
IG 52520	0,962	82,36	15
721	0,738	112,9	6
CGN 3319	0,919	73,31	3
CGN 3311	0,917	75,95	0
JI 2517	0,948	82,64	0
PI 193835	0,953	64,03	0
PI 269818	0,941	92,75	0
P014	0,962	56,88	0
ATFC 08	0,945	62,03	0
JI 1267	0,963	85,38	0
JI 1974	0,931	90,69	0
TERNO	0,965	199,43	0

Tab. 9. Vybrané druhy odrůd v tabulce v porovnání ve velikosti a kruhovitosti DIA analýzy a zjištěné dormanci (Hodnoty průměru v mm 0.02 mm/px kalibrace).

V tabulce jsou vyznačena barevně čísla, která byla v průměru největší a nebo měla v průměru největší kruhovitost.

Zde byly barevně rozlišeny také buňky s nejnižší a nejvyšší hodnotou v každém sloupci, pro lepší porovnávání mezi sebou. Hodnoty zjištěné dormance u těchto položek byly označeny nad 50% modrými buňkami. V závislosti na dormanci se v tabulce objevovaly největší velikosti a kruhovitosti spíše do 50% dormance, ale nebylo to u všech druhů. Byly vidět druhy větších rozměrů a kruhovitostí, které měly dormanci i nad 50%. Opět největšímu rozměru zde jasně odpovídala kulturní odrůda TERNO. Tato odrůda měla největší rozměr, nejdokonalejší kruhovitost (0,965), osemení bez pigmentace, ale také nejnižší procento dormance, tudíž nejlepší klíčivost (100%) z těchto sledovaných druhů. Srovnávání velikosti, kruhovitosti semen a dormance se neprokázala žádná významná korelace.

5 DISKUZE

Proces domestikace plodin u luštěnin, úzce souvisí se zvýšením hmotnosti semen a snížením tloušťky osemení, a tím souvisejícím snížením nepropustnosti u semen (Plitmann a Kislev 1989). Gepts a Debouck (1991) zjistili, že hmotnost semen u kulturních druhů byla až 10 krát větší než u planých. Tyto nálezy byly shodné i u planých a kulturních druhů fazole. Ve své vlastní práci jsem rovněž zaznamenala semena s největší hmotností u kulturních forem. Semena planých druhů měla variabilní procenta dormance, nejčastější dormance se pohybovala v rozmezí 50 – 100%, ale byla zde i semena planého druhu JI 2517, který měl 0% dormance. Tedy velmi dobrou propustnost osemení. Je však také možné, že vzhledem k dostupným pasportním datům se může jednat o chybně identifikovanou kulturní formu popř. zplaněnou.

Brigitte L. Maass (2005) ve své publikaci uvádí, jak morfologie semen může určovat rozdíly u planých a kulturních druhů. Byly zkoumány morfologické a fyziologické vlastnosti semen bobu egyptského v souboru 18-ti různých druhů – z planých přes částečně domestikované, až po současné kultivary. Cílem studie bylo celkově objasnit domestikaci luskovin. Plané druhy byly snadno rozlišitelné vzhledem k jejich morfologickým znakům – jako jsou malá, mramorovaná (šedohnědá) semena. Semena domestikovaných forem ukázala mnohem větší variace semen ve velikosti, barvy a tvaru.

Na základě srovnání vlastní práce jsem zjistila, že všechna semena bez pigmentace patřila mezi kulturní druhy a naopak plané druhy byly většinou pigmentované. Celkově bylo více pigmentovaných semen. Co by se ale s autory nedalo srovnat, je velikost semen. Ve vlastních výsledcích dle obrazované analýzy, měly jedny z největších semen právě plané druhy.

Variabilita zjištěná u planých druhů a forem hrachu, odpovídá výsledkům Maas (2005), která zjistila variabilitu dormance u *Lablab purpureus*. Plané druhy měly také variabilitu vlastností jako je právě tvrdosemennost, kde semena planých druhů vykazovala až o 70% podíl tvrdších semen než jak tomu bylo u kulturních a tzv. polodomestikovaných forem. Právě této variability se mohlo využít během domestikace.

Spurný (1954) předpokládal, že v integumentárním systému semen existují místa různého stupně permeability pro vodu i roztoky solí. Autor prokázal přítomnost kutinových struktur v horní polovině blány palisádových buněk, což umožňuje vyřešit problém podstaty fyziologických pochodů při bobtnání semene. U pomaleji bobtnajících semen byla přítomnost těchto lišt až dvakrát větší, než u semen normálně bobtnajících. Tím se lišila rychlost bobtnání mezi semeny. Na základě výsledků bylo tedy prokázáno, že jediná těžce propustná vrstva pro vodu v osemení hrachu je kutikula a pod ní uložena vnější blána palisádových buněk (Spurný 1954). I přesto, že jsem netestovala strukturální aspekty, v porovnání u zjištěných výsledků bylo vidět, že se tato propustnost u různých položek semen hrachu značně lišila. Rychlost pronikání vody u jednotlivých semen kolísala, u některých tvrdosemenných odrůd byla potřeba mechanické skarifikace, aby voda mohla projít osemením. Při testování klíčivosti jsem pozorovala, že některá semena bobtnala rychleji než jiná a to může mít za následek právě přítomnost těch kutinových struktur, o jakých se autoři ve svých pracích zmiňovali. Zhou et al. (2010) popisovali přítomnost hlavní fenolické látky epikatechinu v osemení u plané sóji, která je pravděpodobně zodpovědná za tvrdosemennost. Hraje tak významnou roli také při klíčivosti semen. Obsah fenolických látek v osemení jako hlavní příčinu nepropustnosti uvádějí i autoři (Mayer et al. 1979). Anatomická struktura vrstev semen a umístění fenolických látek v buňkách slouží jako překážky v pronikání vody. Semena se stávají trvale nepropustná pro vodu a mají velmi tlustou vrstvu palisádových buněk, které způsobují zhoršené pronikání vody do semene.

Rozdílný obsah fenolických látek u tří druhů rodu *Pisum* byl popsán autory (Mayer, Marbach 1974). Zde autoři srovnávali množství fenolických látek v osemení a v dělohách u *P. sativum* subsp. *elatius*, *P. fulvum* a *P. sativum*. Z jejich výsledků vyplynulo, že u planých druhů *P. sativum* subsp. *elatius* a *P. fulvum* byl mnohem vyšší obsah fenolických látek, než u kulturního *P. sativum*. Totéž platilo i pro celkový fenolický obsah v osemení. Značně nejvyšší fenolický obsah byl pozorován u *P. sativum* subsp. *elatius*, i přesto že barva semen u *P. fulvum* byla mnohem tmavší. Propustnost se vztahovala k obsahu fenolických látek v osemení a jejich oxidací – ta mohla způsobit strukturální změny. Skutečnost, že obsah kyslíku během sušení ovlivňuje propustnost osemení, by nám také mohlo vysvětlovat rozdíly

v propustnosti v závislosti na poloze semene na matečné rostlině a ekologických podmínkách při zrání semene.

Vzhledem k vlastním výsledkům, semena bez pigmentace se vyskytovala převážně u *P. sativum*, což nám potvrzují i autoři, že u této taxonomické skupiny jsou semena světleji zbarvená a tím mají i menší obsah fenolických látek.

Z 9-ti testovaných položek (genotypů) se 100% dormancí, se *P. sativum* subsp. *elatius* vyskytoval nejvíc, z nich jen 2 položky (W6 2107 a PI 639964) byly taxonomicky řazeny k *P. sativum*. To by také souhlasilo s tvrzením, že čím více obsahu fenolických látek, tím je také vyšší nepropustnost osemení a proto u této taxonomické skupiny docházelo častěji k dormanci semen. Na základě výsledků byl zjištěn možný vztah mezi dormancí a pigmentací, který tudíž opět souhlasí s daty (Mayer et al. 1979).

Autoři Abbo et al. (2011) testovali klíčivost domestikovaných planých hrachů (*P. fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatius* a *P. sativum*) neporušených (bez skarifikace) a skarifikovaných. Tyto výsledky byly zaznamenány v roce 2007, 2008 a 2009. V roce 2007 měl nejlepší klíčení domestikovaný hrách bez skarifikace (až 89.1%), *P. sativum* subsp. *elatius* skarifikovaný (83.9%) a *P. fulvum* skarifikovaný (76.3%). *P. fulvum* a *P. sativum* subsp. *elatius* bez skarifikace měli pouhých (35-1%) klíčivosti. Jejich výsledky v dalších letech (2008 a 2009) byly u testovaných hrachů jiné. Nejlepší klíčení měl hrách domestikovaný se skarifikací (81.4%), domestikovaný neporušený (78.7%), *P. sativum* subsp. *elatius* skarifikovaný (77.4%), *P. fulvum* skarifikovaný (73.7%), *P. sativum* skarifikovaný (71%). Další semena těchto tří hrachů bez skarifikace měla pouze do 20% klíčivosti. Na základě mých výsledků měla taktéž nejlepší klíčivost bez skarifikace (až 100%) domestikované krajové odrůdy *P. sativum*, na rozdíl od planých druhů *P. sativum* subsp. *elatius*, kde bez skarifikace byla klíčivost 0%.

6 ZÁVĚR

Všechny formy/ druhy hrachu, které byly v práci analyzovány, vykazovaly mezi sebou značné rozdíly. Hlavními výsledky bylo testování dormance semen u planých a kulturních forem.

Nejvýznamnější zjištěné hodnoty suchých semen hrachu, v nenaklíčené formě:

Největší semena v průměru na jejich plochu zjištěné pomocí analýzy obrazu (DIA), měly plané druhy, jen na jednu výjimku a to odrůdu TERNO, která patří mezi kulturní-moderní odrůdu. Naopak nejmenší semena se objevovala spíše u kulturních forem. Při vážení největších a nejmenších semen jsem zjistila, že nehraje žádnou roli velikost semen na hmotnosti. Např. ta semena, která měla nejnižší hmotnost, nebyla po změření u DIA analýzy nejmenší. Bylo by proto možné v pozdější práci zjistit procentuální zastoupení všech látek v semeni a jejich významu a ovlivňování při dormanci semene.

Nejvýznamnější zjištěné hodnoty semen hrachu, po několika dnech testování ve vodním prostředí:

Z výsledků určení dormance semen měřených během několika dnů, se prokázala semena se 100% až 0% dormancí u planých druhů, 55% až 0% u krajových primitivních domestikovaných forem a její úplnou absenci i u moderních odrůd hrachu. Např. u kulturního druhu W6 19256 byla zjištěna semena, která měla 54% dormanci a 46% klíčivost. Tudíž se zde objevila i taková semena, která měla nejvíc shodných semen schopných jak dormance, tak i klíčivosti. U převážné většiny druhů se prokázala životaschopnost semen. Ale mohla jsem také pozorovat druhy, které ani po skarifikaci nevyklíčily – mohly mít buď odumřelá semena, nebo nemusela mít dokonale vyvinutou dělohu. To by bylo možné zjistit při další práci, zda byla semena skutečně odumřelá, nebo proč zde ani po skarifikaci klíčení neproběhlo.

Zjistila jsem, že velikost semene a ideálně kruhovitý tvar - vše zjištěné z digitální analýzy obrazu, neměli žádný vliv na schopnost dormance. Byla zjištěna částečná spojitost mezi pigmentací a dormancí. Čím větší bylo

procento dormance, tím více se objevovaly semena druhů s pigmentací a naopak. Pigmentace se prokázala v největším počtu u semen planých druhů. Semena, která neměla žádnou pigmentaci, byla zaznamenána jen u kulturních forem. Bylo by dobré v další práci zjistit i celkový obsah fenolických látek v osemení, které hraje jak velký význam při tvrdosemennosti a s tím spojená nepropustnost osemení, ale také při sledování změn obsahu látek u více nebo méně pigmentovaných semen.

Kontrastní plané formy/druhy mohou sloužit ke genetickému mapování a identifikaci genů zodpovědných za dané vlastnosti.

7 LITERATURA

- ABBO, S., RACHAMIM, E., ZEHAVI, Y., ZEZAKI, I., LEV-YADUN, S., GOPHER, A. (2011): Experimental growing of wild pea in Israel and its bearing on Near Eastern plant domestication. *Annals of Botany* 107, Israel, 1399-1404s
- BASKIN, J.M., BASKIN, C.C., LI, X. (2000): Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology* 15, United States Department of Agriculture, USA, 139–152s
- BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. (2004): Determining dormancy – breaking and germination requirements from the fewest seeds. Washington, 162-179s
- BHATTACHARYYA, M.K., SMITH, A.M., ELLIS, T.H.N., HEDLEY, C., MARTIN, C. (1999): The wrinkled-seed character of pea described by mendel is caused by a transposon-like insertion in a gene encoding starch-branching enzyme. *CELL* 60: 115-122s
- BOHÁČ, J. (1990): Špeciálne šľachtenie poľnohospodárskych plodín. 2. vydání. VŠP Nitra , 270s
- DEBOUCK, D., GEPTS, P. (1991): Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris L.*). Wallingford, UK, 1–53s
- DOEBLEY, J., STEC, A., WENDEL, J., EDWARDS, M. (1990): Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87: 9888–9892s
- ELLIS, T.H.N. (2011): Pisum. In C. Kole (Ed.) *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Berlin-Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 237-248s

- FINCH-SAVAGE, W.E., LEUBNER-METZGER, G. (2006): Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523s
- GRAMAN, J., ČURN, V. (1997): Šlechtění rostlin (obecná část). *Učební texty*. JČU České Budějovice, 133s
- HAMMER, K. (1984): The domestication syndrome. *Kulturpflanze* 32, Germany, 11-34s
- HAMMER, K., SONNANTE, G., PIGNONE, D. (2009): From the Cradle of agriculture a handful of lentils: history of domestication. *Rendiconti Lincei*, 21-37s
- HARLAN, J.R. (1992): *Crops and Man, second edition* American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, WI USA, 284s
- HELLENS, R.P., MOREAU, C., LIN-WANG, K., SCHWINN, K.E., THOMSON, S.J., FIERS, M.W.E.J., FREW, T.J., MURRAY, S.R., HOFER, J.M.I., JACOBS, J.M.E., DAVIES, K.M., ALLAN, A.C., BENDAHMANE, A., COYNE, C.J., TIMMERMAN-VAUGHAN, G.M., & ELLIS, T.H.N. (2010): Identification of Mendel's white flower character. *PLOS ONE*, 5, e13230.
- HOUBA, M., HOCHMAN, M., HOSNEDL, V. (2009): Luskoviny - pěstování a užití. *Kurent*, České Budějovice, 133s
- CHLOUPEK, O. (1995): Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. *Academia Praha*, 186s
- CHLOUPEK, O. (2008): Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. 3. vydání. *Academia Praha*, 307s
- KOINANGE, E.M.K., SINGH, S.P., GEPTS, P. (1996): Genetic control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Science* 36, 1037–1045s

- KUCERA, B., COHN, M.A., LEUBNER-METZGER G. (2005): Plant hormone interactions during seed dormancy and release and germination. – *Seed Science Research* 15, 281-307s
- LADIZINSKI, G. (1979):: Seed Dispersal in Relation to the Domestication of Middle East Legumes¹, *Economic botany*, New York Botanical Garden, 284-289s
- LAHOLA, J. (1990): Luskoviny, pěstování a využití. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 224s
- LERSTEN, N.R., GUNN, C.R. (1982): Testa characters in tribe Viciae, with notes about tribes Abreae, Cicereae and Trifoliae (*Fabaceae*), US Department of Agriculture, Technical Bulletin No. 1667, 40s
- LEWIS, G., SCHRIRER, B., MACKINDER, B AND LOCK M. (2005): Legumes of the World. Kew: Royal Botanical Gardens, UK, 577s
- MAASS, B.L. (2005): Changes in seed morphology, dormancy and germination from wild to cultivated hyacinth bean germplasm (*Lablab purpureus*: *Papilionoideae*) *Genetic Resources and Crop Evolution* 53, Germany, 1127–1135s
- MAYER, A.M., MARBACH, I. (1974): Permeability of Seed Coats to Water as Related to Drying Conditions and Metabolism of Phenolics. *Plant Physiol.* 54, 817-820s
- MAYER, A.M., MARBACH, I., WERKER, E. (1979): Relation between the anatomy of the testa, water permeability and the presence of phenolics in the genus *Pisum*. Department of botany, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel, 765-771s
- PAVLOVÁ, L. (2005): Fyziologie rostlin. 1. vydání, *Učební texty* Univerzita Karlova v Praze, Praha, 253s

- PETR, J. (1973): Hrách a bob. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 169s
- PLITMANN, U., KISLEV, M.E. (1989): Reproductive changes induced by domestication. In: Stirton C.H. and Zarucchi J.L.(eds), Advances in Legume Biology, Missouri Bot. Gard 29, 487–503s
- QUINLIVAN, B.J. (1971): Seed coat impermeability in legumes. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science 37, 283–295s
- REPINSKI, S.L., KWAK, M., GEPTS, P. (2012): The common bean growth habit gene PvTFL1y is a functional homolog of Arabidopsis TFL1. Theoretical and Applied Genetics 124: 1539-1547s
- ROD J. (1982): Šlechtění rostlin. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 354s
- SMÝKAL, P. (2009): Domestikace rostlin z pohledu současné genetiky. *Časopis Živa 1*, 6-9s
- SMÝKAL, P. (2011): Fylogeneze, biogeografie a genetická diverzita rodu hrách. *Časopis Živa 4*, 151-154s
- SMÝKAL P. (2012): Genetické aspekty domestikace rostlin. *Učební prezentace*. UP Olomouc, 91s
- SMÝKAL, P., KENICER, G., FLAVELL, AJ., CORANDER, J., KOSTERIN, O., REDDEN, RJ., FORD, R., COYNE, CJ., MAXTED, N., AMBROSE, MJ., ELLIS, THN. (2011): Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genet Res* 9: 4 – 18s
- SMÝKALOVÁ, I., VINKLÁRKOVÁ, P. (2011): Charakterizace odrůdy/položky v kolekcích genových zdrojů rostlin na základě obrazové analýzy korunních lístků a semen. 1. vydání, AGRITEC, Šumperk, 22s

SMYKALOVA, I., HORACEK, J., HYBL, M., BJELKOVA, M., PAVELEK, M., KRULIKOVSKA, T., HAMPEL, D. (2011): Seed type Identification by image analysis - Correlation of nutrients with size, shape and colour characteristics of seeds. Chemical letter 105, Issue 2, 138-145s

SPURNÝ, M. (1954): Struktura blány palisádových buněk testy semena hrachu (*Pisum sativum*), Světelná zóna epidermálních buněk testy semena hrachu (*Pisum sativum*), Propustnost testy pro vodu a otázka nerovnoměrnosti bobtnání semen hrachu (*Pisum sativum*). Brno, Preslia 26, 79-88; 139-142; 239-262s

ŠETLÍK, I., SEIDLOVÁ, F., ŠANTRŮČEK, J. (2004): Fyziologie rostlin. JČU, České Budějovice, 331s

VAVILOV, N.I. (1950): The phylogeographic basis of plant breeding. In K. S. Chester (Trans.), The origin, variation, immunity, and breeding of cultivated plants (pp. 13-54). Waltham, MA: Chronica Botanica.

WEEDEN, N.F. (2007): Genetic changes accompanying the domestication of *Pisum sativum*: Is there a common genetic basis to the 'domestication syndrome' for legumes? Annals of Botany 100, 1017-1025s

ZHOU, S., SEKIZAKI, H., YANG, Z., SAWA, S., PAN, J. (2010): Phenolics in the seed coat of wild Soybean (*Glycine soja*) and their significance for seed hardness and seed germination. J. Agric. Food Chem., China, 10972-10978s

ŽUKOVSKIJ, P.M. (1967): The nature and the span of species in cultivated plants. Bot. Zurn. SSSR 52, 1530-1539s

Webové stránky:

<http://agritec.cz>, <http://cernabizule.chytrak.cz>, <http://genbank.vurv.cz>
<http://oregonstate.edu>, <http://seedbiology.de>

Seznam použitých zkratk:

ABA	kyselina abscisová
DIA	digital image analysis
FAR	fotosynteticky aktivní záření
g	gram
GA	gibereliny
ha	hektar
mm	milimetr
mg	miligram
nm	nanometr
px	pixel
SDO	seznam doporučených odrůd
subsp. (=ssp)	subspecie
syn	synonymum
Tb	teosinte branched
Tga	teosinte glume architecture
var	varieta

8 PŘÍLOHY

Obrázky vybraných genotypů hrachů:

P014

Původ: Turecko

Taxonomie: *P. sativum* var. *arvense*

Status: kulturní

Pigmentace: bez pigmentu-světlý



JI 2517

Původ: Sýrie

Taxonomie: *P. fulvum*

Status: planý

Pigmentace: kropenatý – tmavě
hnědý



W6 19256

Původ: Bulharsko

Taxonomie: *P. sativum*

Status: pravděpodobně kulturní

Pigmentace: kropenatý – tmavě
hnědý

