

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PEDAGOGICKÁ FAKULTA

KATEDRA BIOLOGIE



**Vliv vybraných abiotických stresorů na klíčení semen
řepky olejky (*Brassica napus* L.)**

Bakalářská práce

Autor: Bc. Eva Jurníčková

Studijní obor:

1601R003/00 - BB14 - Ekologie a ochrana prostředí – Aplikovaná ekologie pro veřejný sektor

kombinované studium

Vedoucí práce: RNDr. Olga Vránová, PhD.

Olomouc, 2016

Čestné prohlášení:

Tuto bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně na základě řádně citovaných uvedených literárních zdrojů, dle metodických pokynů vedoucí práce RNDr. Olgy Vránové, PhD. a konzultanta Ing. Milana Oldřicha Urbana, DiS. Stejnou práci ani její část jsem nepoužila k získání jiného titulu.

V Olomouci 20. dubna 2016

.....
Bc. Eva Jurníčková

Motto:

„Na nižších úbočích pohoří jsem viděl políčka s ječmenem a ještě nezralým žitem. V pozadí v úzkých údolích se zelenaly louky. Stačilo jen osm let, dělicích nás od té doby, a celý kraj zářil zdravím a blahobytem. Na místě zbořeníšť, která jsem viděl v roce 1913, stojí nyní čisté a pečlivě omítnuté usedlosti, svědčící o šťastném a pohodlném životě. Začaly zase téct staré prameny, napájené dešti a sněhy, jež lesy zadržují. Vodní toky byly regulovány. Vedle každé usedlosti, obklopené javorovým hájem, voda přetékala z nádrží kašen na koberec svěží máty. Vesnice byly pohnáhu znovu vybudovány. Z rovin, kde je půda drahá, přišli lidé a usadili se zde. Přivedli i mládež, nastal ruch, probudil se smysl pro podnikání. Na cestách potkáváme dobře vypadající muže a ženy. Chlapci a děvčata se umějí smát a mají rádi venkovské slavnosti. Dřívější obyvatelstvo je k nepoznání změněné od té doby, co se tu žije příjemně. Připočteme-li je k novým obyvatelům, víc než deset tisíc osob vděčí za štěstí Elzéardu Bouffierovi.

Když uvážíme, že jediný člověk, odkázaný jen na prosté zdroje fyzické i duševní, dokázal, aby z pustiny vznikla země kananejská, zdá se mi, že člověk je přece jen obdivuhodný tvor. Ale když pomyslím, kolik bylo třeba vytrvalosti a ušlechtilého úsilí, aby se dosáhlo takového výsledku, cítím hlubokou úctu k tomu starému venkovanu bez jakéhokoliv vzdělání, který dokázal úspěšně dokončit dílo, hodné díla božího.“

Jean Giono - Muž, který sázel stromy

Napsal Jean Giono, 1980

Přeložila Zdeňka Stavinohová, 1997

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Olze Vránové, PhD., za ochotu a především trpělivost při vedení této práce. Chtěla bych jí také velmi poděkovat za pomoc při formulování cílů a hypotéz a také za podporu a zajištění technického zázemí na Lékařské fakultě UP v Olomouci, kde jsem získala většinu výsledků.

Ráda bych poděkovala i konzultantovi práce, Ing. Milanu Oldřichu Urbanovi, DiS., z Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze Ruzyni, který zajistil některé materiální a technické vybavení, nutné k vypracování výzkumné části této práce. Děkuji mu také za poskytnutí semen odrůd a křížence řepky olejky a za některá data, uvedená ve výsledcích (např. kvalita semen pomocí NIRS apod.). V neposlední řadě velké díky za trpělivé objasňování souvislostí týkající se výzkumné části a vstřícnost při konzultacích.

Chtěla bych také poděkovat své rodině za veškerou podporu.

Obsah:

1. ÚVOD	6
1.1 CÍL PRÁCE.....	7
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	8
2.1 ŘEPKA	8
2.1.1 Význam	8
2.1.2 Charakteristika, původ a rozšíření řepky.....	9
2.1.3 Životní cyklus	11
2.2 KLÍČENÍ SEMENE	13
2.3 STRES ROSTLIN	16
2.4 KLIMATICKÁ ZMĚNA V ČR.....	21
3. METODIKA	26
3.1 MATERIÁL	26
3.2 OBECNÉ ZÁSADY ZKOUŠEK KLÍČIVOSTI.....	27
3.3 TESTOVÁNÍ KLÍČIVOSTI (PRACOVNÍ POSTUP).....	30
3.4 POSTUP VÝPOČTU INDEXŮ KLÍČENÍ.....	33
4. VÝSLEDKY	35
4.1 PŮVOD MATERIÁLŮ A JEJICH VZNIK.....	35
4.2 MĚŘENÍ VYKLÍČENÝCH SEMEN	37
4.2.1 Parametry klíčivosti a jejich grafické výstupy.....	38
5. DISKUZE	43
6. ZÁVĚR	46
POUŽITÁ LITERATURA	48
SEZNAM TABULEK	51
SEZNAM OBRÁZKŮ	52
SEZNAM ZKRATEK	53
PŘÍLOHY.....	54

1. ÚVOD

Práce se soustředí na ozimou formu řepky olejky (*Brassica napus* L.), která splňuje požadavek klíčové plodiny pro české hospodářství, a to jak z hlediska domácí produkce, tak ve smyslu exportu.

V souvislosti s klimatickými změnami vyvstává naléhavější potřeba hledat taková opatření, která by pomohla čelit negativním dopadům těchto změn. Velmi zranitelnou složkou ekosystému je zejména zemědělství (Žalud 2009). Jednou z priorit zemědělského hospodaření v podmínkách změny klimatu, je zachování dobrého stavu životního prostředí, či jeho zlepšování (Bláha 2012). Tento požadavek koresponduje s orientací na využívání odolných odrůd významných kulturních plodin, které jsou lépe vybavené schopností čelit různým druhům stresu (sucho, nadměrné teploty apod.). Zejména ekologický pěstitel je vystaven vyšším nárokům na volbu vhodné odrůdy, schopné produkovat i v nepříznivých podmínkách uspokojivý výnos (Kuchtová *et al.* 2008).

Vzhledem k velkému množství odrůd řepky na českém zemědělském trhu je žádoucí tyto odrůdy roztrždit s ohledem na jejich odolnost (adaptabilitu). Vhodný, levný a rychlý způsob spočívá ve využití metod založených na klíčení semen v suboptimálních podmínkách.

1.1 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je experimentálně zjistit vliv vybraných abiotických stresorů (stres vysokou a nízkou teplotou, zasolením a imitace sucha) na klíčení semen tří zvolených genotypů řepky pomocí metody laboratorního klíčení v suboptimálních podmínkách.

Mezi dílčí cíle patří:

- stručně popsat, charakterizovat a diskutovat nejvýznamnější olejninu v ČR – řepku olejku
- stručně charakterizovat vliv očekávaných klimatických změn v podmínkách České republiky
- vyjmenovat a popsat dopady klimatických změn na zemědělství a zemědělskou produkci v ČR

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 ŘEPKA

2.1.1 Význam

Řepce olejce patří první místo mezi olejninami pěstovanými na území ČR (2. slunečnice, 3. mák) a zároveň je 3. nejrozšířenější plodinou u nás (1. pšenice ozimá, 2. ječmen jarní). Od 90. let začal význam řepky pro české hospodářství markantně stoupat. Svou úlohu v tom sehrála větší poptávka po využívání rostlinných olejů ve stravě. Nově zavedené odrůdy tzv. dvounulky (00; neobsahují kyselinu erukovou a mají velmi nízký obsah glukosinolátů - GSL), mohly nabídnout kvalitní zdroj nutričních látek (Klíma & Koprna 2008). V posledních letech vzrostl význam řepky jako hlavní suroviny při výrobě bionafty – zdroje obnovitelné energie. Dále najde řepka využití pro krmné účely, jako zelené hnojivo a v chemickém průmyslu (oleochemie) (Vašák *et al.* 2000).



Obrázek 1 Brassica napus L. - znázornění morfologie rostliny

(Zdroj: <http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/allgemei/koehler/koeh-167.jpg>)

Pro českou ekonomiku má pěstování řepky obrovský přínos, figuruje jako „nejvýznamnější exportní komodita z okruhu rostlinné výroby v ČR.“ (Vašák *et al.* 2000). Pro zemědělce je stále nejdůležitějším aspektem výnos plodin a jeho zpeněžení, které zároveň slouží jako signifikantní kritérium při porovnávání plodin a odrůd (Baranyk *et al.* 2005). Při nepříznivých klimatických podmínkách působí na plodinu stresové faktory, které většinou negativně ovlivní konečný výnos. Proto se šlechtitelské úsilí zaměřuje na selekci takových odrůd (genotypů), které vykazují vysokou míru adaptability (tolerance ke stresu) a v rizikových podmínkách stresu nabídnou stabilnější výnos než méně adaptabilní odrůdy. Používání plastičtějších (adaptabilních) odrůd omezuje nutnost chemických (pesticidy) a agrotechnických zásahů, což je nezanedbatelný přínos jak z hlediska ekonomického, tak z pohledu ochrany životního prostředí (Vyvadilová *et al.* 2007, Kuchtová *et al.* 2008). Plastičtější odrůdy také rychleji a lépe reagují na abiotické stresy (Urban, osobní sdělení 5. 4. 2015). Mezi plastické odrůdy patří i odrůda Cadeli (zkoumána empirické části této práce).

2.1.2 Charakteristika, původ a rozšíření řepky

Brukev řepka olejka (*Brassica napus* L.) patří mezi dvouděložné rostliny čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*), kde spadá také tuřín, vodnice nebo ketrán. Do stejné čeledi řadíme další zemědělsky významné plodiny počínaje zelím, květákem a kapustou přes ředkev, brokolici a v neposlední řadě pekingské zelí, křen atd. Většinu zástupců čeledi brukvovitých tvoří (jednoleté) byliny. Charakteristicky utvářené čtyřčetné květy, připomínající svou stavbou tvar kříže, dali této čeledi alternativní název křížaté (*Cruciferae*). Drobné květy bývají uspořádány v hroznech, popřípadě skládají latovité květenství. Nejčastějším plodem brukvovitých je šešule nebo šešulka, ale nalezneme zde i plody nepukavé (Kubát 2002). Brukvovité obsahují glukosinoláty, což jsou organické sloučeniny sekundárně produkované rostlinou při ochraně proti škůdcům. Tyto látky mají na svědomí štiplavou chuť rostlin, i to že po rozemnutí rostlina charakteristicky zapáchá. V posledních letech jsou brukvovité zeleniny (nejvíce brokolice) ceněny pro své protirakovinné účinky.

Do čeledi brukvovitých zahrnujeme 380 rodů s 3200 druhy, vyskytujících se převážně v mírném pásu severní polokoule. V České republice se můžeme setkat se 150 druhy, zařazených do 50 rodů. Celá řada zástupců brukvovitých slouží jako vyhledávaný zdroj potravy v podobě zeleniny či olejnatých semen. Málo se ví, že i přes velmi příznivou cenu je řepkový olej druhým nejhodnotnějším z hlediska složení po oleji olivovém. Olej získaný z řepky olejky slouží také k technickým účelům. Některé druhy z čeledi brukvovitých využíváme jako krmivo pro zvířata, najdeme zde významné medonosné i obtížné plevelné rostliny (Baranyk et al. 2005).

Rod *Brassica* tvoří několik druhů využívaných člověkem pro získání olejnatých semen. V této práci se zaměříme hlavně na brukev řepku olejku (*Brassica napus*) - dominantní olejnatou plodinu pro Evropu. Její pěstování převládá také v Číně a rovněž v Kanadě si vybudovala silné postavení vedle dalšího druhu brukve řepáku - řepice (*Brassica rapa*, syn. *campestris*). Jiným druhem rodu *Brassica*, rozšířeným hlavně v Číně a Indii, nicméně také v Severní Americe i Austrálii, je brukev sítinovitá (*Brassica juncea*). Brukev kýlnatá - hořčice habešská (*Brassica carinata*) se pěstuje výhradně v severovýchodní Africe (Vašák et al. 2000), má původ v Etiopii a je velmi odolná abiotickým i biotickým stresům (Urban, osobní sdělení).

Brukev řepka (*B. napus*) nepochází z jediného výhradního planého předka, nýbrž pravděpodobně vznikla spontánním křížením dvou druhů rodu *Brassica*. Mateřskou rostlinou se v tomto případě stala brukev zelná (*B. oleracea*), jejíž kultivary představují celou řadu košťálové zeleniny (zelí, kedluben, kapusta, květák, brokolice). Otcovskou rostlinou zastupuje brukev řepák (*B. rapa*). Tito rodiče svého potomka *B. napus* vybavili amfidiploidní sadou s 38 chromozomy v jádru (Baranyk et al. 2005).

Svůj původ má řepka olejka v středomořském genovém centru, odkud se postupně rozšířila do dalších oblastí. Nejpříznivější podmínky našla řepka v podnebí charakteristickém pro mírný pás, případně subtropickou oblast. Díky tomu se s ní můžeme setkat zejména na polích Evropy, Číny a Kanady. Pěstována je ve dvou formách a to jarní a ozimá, lišící se zejména délkou vegetační doby, potřebou jarovizace (ozimy), začátkem kvetení a hlavně i výnosem (vyšší u ozimé formy) (Baranyk et al. 2005). I když je jarní forma řepky světově rozšířenější, v oblasti střední a

západní Evropy se pěstuje převážně ozimá forma řepky, která v našich klimatických podmínkách lépe prosperuje. Výnosovost jarní formy na našem území je totiž až o polovinu slabší než je tomu u řepky ozimé (Klíma & Koprna 2008).

2.1.3 Životní cyklus

Řepka olejka je jednoletá bylina. Na podzim vytváří ozimá forma listovou růžici a takto přečkává zimu. Z mohutného kulovitého kořene na jaře vyrůstá 80 až 220 cm dlouhá lodyha, která nese listy lyrovitého tvaru a v době kvetení zpravidla sytě žluté malé květy tvořící hroznovité květenství. K opylení dochází nejčastěji samosprašnou cestou, příležitostně i cizosprašně. Řepka je vyhledávanou rostlinou včel, které se největší měrou podílejí na cizosprašném opylení (Baranyk *et al.* 2005). Opylování včelami zvyšuje výnos řepky až o 25 % (Urban, osobní sdělení). Opylené květy se přeměňují v pukavé plody šešule. Tyto asi 4 cm dlouhé plody obsahují zpravidla 15 – 50 drobných semen, v závislosti na odrůdě. Semeno řepky olejky můžeme charakterizovat jako drobné, kulovité, uložené v šešuli ve více sadách. Hmotnost tisíce semen (HTS) činí 3,8 – 5,8 g. Zralá semena jsou nejčastěji černě zbarvena, ale existují také žlutosemenné odrůdy (Vašák *et al.* 2000), které mají méně vlákniny v osemeni, a mají tedy vyšší olejnatost. Do této skupiny patří i čínský žlutosemenný genetický materiál (ČŽL).

Životní cyklus řepky ozimé v našich klimatických podmínkách trvá 11 až 12 měsíců. Jedná se o plodinu poměrně nenáročnou, pokud jde o přírodní podmínky, nicméně nejlépe prospívá v bramborářských a řepařských výrobních oblastech. Z pohledu půdní zásoby živin je ovšem řepka plodinou velmi náročnou a „hladovou“. Pro dobrou vzcháživost řepce vyhovuje dostatek srážek po zasetí, tj. přelom srpna a září. Při nadměrných srážkách, kdy je půda zamokřená déle než týden, však hrozí vyhnívání rostlin (Baranyk *et al.* 2005).

Další hrozbou negativně ovlivňující přezimování jsou déle trvající holomrazy (pod -20 °C), nadměrné sucho v období prodlužování lodyhy nebo vysoké teploty v období květu. Příliš řepce nesvědčí ani velké rozdíly teplot mezi dnem a nocí (kolísání o více než 20 °C) (Vašák *et al.* 2000). Klimatické změny kladou vyšší nároky na odolnost

plodiny vůči nepříznivým přírodním vlivům, zároveň nutí zemědělce přizpůsobit své zavedené výrobní postupy těmto novým podmínkám (Masarovičová *et al.* 2004). Doporučuje se například šlechtění odrůd s vyšší tolerancí k suchu nebo pozdější setí vhodných odrůd. Podle Makowského & Röhla (2013) se probíhající změny klimatu podepisují na vývojových fázích řepky. Více než třicetileté fenologické pozorování například odhalilo významně ranější nástup doby kvetení – průměrně o 19 dní dříve.

Jak zmiňuje Štranc *et al.* (2005) pro řepku je velmi zranitelným obdobím fáze klíčení. Obecně aby rostlina vůbec začala klíčit, potřebuje k tomu specifické podmínky. Pokud tyto podmínky nejsou optimální, dostává se do stresu. Jestliže není schopna se se stresovými podmínkami adekvátně vyrovnat (to závisí na vnitřních vlastnostech semene, tedy aktivitě enzymů v semeni), semeno nevyklíčí. Vyklíčí pouze kvalitní osivo, což se projeví i na celkových výnosech (Šerá 2014). Masarovičová *et al.* (2004) zdůrazňuje nutnost šlechtění plastičtějších odrůd a linií řepky olejky, které méně citlivě reagují na suchu a další suboptimální podmínky, zejména v období setby. Bláha & Vyvadilová (2012) zmiňují vliv kvalitního osiva řepky na následnou celkovou odolnost sledované populace v dalších fázích jejího vývoje a na výnos. Na základě výše zmíněných důvodů je v dalších částech práce věnována pozornost specifikům fáze klíčení a posléze rizikům v době klíčení.

2.2 KLÍČENÍ SEMENE

U krytosemenných rostlin dochází po oplození mateřské rostliny ke změnám transformující vajíčko v semeno se zárodkem nové generace. Semeno slouží jako spolehlivý prostředek k rozmnožení a rozšíření populace. Vnější obal semene tvoří osemení (testa). Uvnitř semene se nachází zárodek (embryo), který představuje základ budoucí rostliny (Štranc *et al.* 2005). Brukvovité rostliny nemají vyvinuté živné pletivo (endosperm) sloužící embryu jako zdroj zásobních látek. Vyživovací funkci zde přebírají dělohy. U řepky jakožto dvouděložné rostliny jsou součástí zárodku dvě dělohy dodávající embryu srdčitý tvar. Tyto dělohy obklopují plumulu – embryonální základ vzrostného vrcholu. Plumula přechází v hypokotyl (základ budoucího stonku) a na něj plynule navazuje radikula (kořínek – základ budoucího primárního kořene). Takto semeno přečkává v klidovém stavu jen s minimální aktivitou životních procesů (Procházka *et al.* 1998) až do doby, než nastanou příhodné podmínky pro klíčení.



Obrázek 2 Ukázka naklíčených semen hybrida ČŽLxCAD v 150 mM NaCl

(Zdroj: autor)

Procházka *et al.* (1998) charakterizuje klíčení jako „obnovení metabolické aktivity semen vedoucí k prodloužení buněk radikuly a hypokotylu embrya,“ (Procházka *et al.* 1998, s. 348). Dochází k němu v podmínkách, kdy je semeno schopno nasát potřebné množství vody. Pro semena řepky činí množství vody využívané ke klíčení asi 60 % hmotnosti semene (Čvančara 1962). Fáze nasávání vody se nazývá bobtnání (imbibice). Uvnitř semene dochází k čistě fyzikálnímu jevu - hydrataci protoplazmy a buněčných struktur, naředění inhibičních látek atd. (Štranc *et al.* 2005). K bobtnání (imbibici, hydrataci) a nabývání na objemu ale může docházet i v případě semen, která následně nevyklíčí (obsahují např. neživé embryo). Tato fáze může být anaerobní. Dormance a další růstové pochody jsou řízeny na základě informací přenášených fytohormony - kyselinou abscisovou a gibereliny (Pavlová 2005).

Teplota prostředí je dalším faktorem, který při klíčení hraje důležitou roli. Teplotní optimum se různí v závislosti na druhu, ale i odrůdě, provenienci a stáří osiva (Procházka 1998). Pro řepku olejku se udává optimální teplota klíčení na 15–20 °C, přičemž nejnižší teplota, při které je řepné semeno schopné klíčit, začíná na 1-2 °C (ovšem jen po omezenou dobu). Při teplotách nad 40 °C semeno řepky svou schopnost klíčit obvykle ztrácí a na těchto teplotách jsou založeny testy tzv. umělého stárnutí osiva (Štranc *et al.* 2005).

Po fázi bobtnání, která nevyžaduje přísun kyslíku (anaerobní fáze) dochází k samotnému fyziologickému klíčení, kdy jsou aktivovány metabolické procesy a dochází k růstu embrya. Narůstá enzymatická činnost a dýchání – tato fáze je již velmi citlivá na hypoxii či anoxii (nedostatek či sníženou koncentraci kyslíku; Míka 2002). Nároky na energii a stavební látky jsou stále vyšší, proto dochází k mobilizaci zásobních látek z rezervoárů semen, tj. z děloh. Semeno řepky obsahuje mnohem více tuků (45–50 %) než dalších zásobních látek ve formě sacharidů a bílkovin, tuk tak tvoří hlavní zdroj zásobních látek. V počáteční fázi klíčení je energie čerpána z malých zásob sacharidů, které jsou ale brzy spotřebovány (Štranc *et al.* 2005). Toto období však netrvá déle než 36 hodin, obvykle okolo 24 hodin. V dalším průběhu klíčení, dochází k mobilizaci tuků. Z nich semeno dokáže využít až 2x více energie než ze sacharidů (Štranc *et al.* 2005). Uvnitř semene probíhají procesy štěpení tuků a jejich následné

transformace v sacharidy. Množství sacharidů se zvětšuje a následně se využijí k prodlužovacímu růstu základů mladé rostlinky (Luštinec & Žárský 2003).

Pro vnějšího pozorovatele je klíčení patrné až když kořínek (radikula) prorazí osemení (testu). Tento moment je zásadní, jelikož se embryo poprvé dostává do kontaktu s vnějším prostředím (Pavlová 2005). Současně dochází k prodlužování hypokotylu, který nese dělohy a plumulu. U dvouděložných rostlin rozeznáváme klíčení nadzemní (epigeické) a podzemní (hypogeické) klíčení, podle toho zda dělohy zůstávají pod zemí nebo nad zemí. V případě řepky olejky dochází k epigeickému klíčení (Štranc *et al.* 2005). Hypokotyl s dělohami a plumulou roste a směřuje heliotropicky nad povrch půdy. Prasklé osemení, které tvořilo čepičku na dělohách, opadá a dělohy na slunci zezelenají. Tyto první lístky mladé rostlinky fungují jako fotosyntetický aparát k asimilaci organických látek. Ze vzrostného vrcholu (plumuly) vyrůstá prýt mladé rostliny (Procházka *et al.* 1998).

Jak bylo uvedeno výše, semeno vyžaduje ke klíčení určité příznivé podmínky, zejména dostatek vláhy, vhodnou teplotu a kyslík. Dokud se semeno nachází v klidovém (dormantním) stavu, jeho schopnost přečkat nepřízeň prostředí je značná. Období klíčení však patří k jedné z nejzranitelnějších etap v životě rostliny. Proměnlivé podmínky vnějšího prostředí mohou zpomalit či ohrozit zdárný vývoj a životní funkce klíčící nové generace, či dokonce rostlinu poškodit do té míry, která vede k úhynu jedince. Tyto potenciálně ohrožující vlivy označujeme jako stresové faktory (Procházka *et al.* 1998).

2.3 STRES ROSTLIN

Termín stres označuje stav, kdy je organismus vystaven vlivu stresových faktorů. V tomto stavu probíhá v organismu řada reakcí ve snaze opět nastolit rovnováhu (Kraner *et al.* 2010).

Navzdory tomu, že je problematika stresu rostlin intenzivně zkoumána na různých úrovních, stále toho víme poměrně málo o stresu semen (Kraner *et al.* 2010). Semeno v sobě ukrývá zárodek nové rostliny, jeho význam pro reprodukci rostlin je proto zcela zásadní. Působení stresových faktorů na semena rostlin se významně odráží na produkci a výnosu kulturních plodin. Negativní či pozitivní působení stresorů na semena může mít nezanedbatelný dopad na zemědělství i biodiverzitu rostlin (Kraner *et al.* 2010).

Díky klíčové roli v reprodukci rostlin se u semen vyvinuly jisté ochranné mechanismy, jako například stav dormance, které pomáhají budoucí generaci vyrovnat se s negativními dopady okolí. Dormanci označujeme klidové stádium, kdy jsou veškeré životní funkce semena utlumeny na minimum a takto je semeno schopné přečkat extrémní podmínky aniž by došlo k poškození jeho schopnosti klíčit, tedy neztrácí svou životnost (Gupta 2009). Životnost semen některých druhů rostlin je obdivuhodná. V optimálních skladovacích podmínkách může tato maximální doba klíčivosti činit až stovky let. V egyptských hrobkách byla nalezena zrna pšenice, schopná klíčení. U brukvovitých rostlin se setkáváme s maximální dobou klíčivosti semen kolem 10 let (Procházka *et al.* 1998). V kontrastu k tomuto stabilnímu období se fáze klíčení semene vyznačuje poměrně značnou citlivostí vůči stresorům.

Stresory se dělí na biotické a abiotické (Procházka *et al.* 1998) podle toho, zda je původce stresu živý organismus (patogenní organismy, herbivoři, vzájemný vliv rostlin) nebo se jedná o působení neživých (abiotických) složek prostředí (např. extrémní teploty, sucho, toxické kovy a plyny, nedostatek živin či nadbytek iontů solí, nadměrné záření).

V rámci této práce je posuzován vliv výhradně abiotickým stresových faktorů na vývoj rostlin, konkrétně na klíčení primárního kořene semen. Tento aspekt dosahuje klíčového významu v podmínkách globálních změn klimatického systému, kdy se stále častěji objevují extrémními meteorologické jevy a rostliny musí čelit značně proměnlivým podmínkám prostředí. Proto nabývá na významu studium stresových reakcí, adaptačních schopností rostlin – tedy geneticky podmíněnou odezvu na stresor a schopnost aklimace – přechodné zvýšení odolnosti vůči stresovému faktoru (Procházka *et al.* 1998). Jako jednou z cest, jak se vyrovnat s klimatickými změnami, které představují hrozbu pro sektor zemědělství a potravinovou zabezpečení lidstva, se jeví šlechtění rostlin odolných vůči abiotickým stresům. Mezi nejvýznamnější stresové patří:

Nedostatek vody. Procházka *et al.* (1998) uvádí nedostatek vody jako klíčový abiotický faktor, který globálně nejvíce negativně ovlivňuje růst a produktivitu rostlinstva. Voda tvoří hlavní složku těl rostlinných organismů (listy mohou obsahovat 95 % a dužnaté plody až 99 % vody), hraje nezastupitelnou roli při transportu látek (živin), uplatňuje se při fotosyntéze a transpiraci. Většina vyšších rostlin se jen těžko vyrovnává s nedostatkem vody, jímž je neustále ohrožena. Vodní stres má za následek zpomalení či zastavení růstu buněk rostliny, způsobeného poklesem turgoru v buňce. Dále dochází k ovlivnění hlavních metabolických procesů (klesá rychlost fotosyntézy) a mění se aktivita enzymů. V těle rostliny dochází ke hromadění toxinů, mění se stavba kutikuly a počet průduchů (Bláha *et al.* 2002). Navenek se vodní stres projevuje vadnutím, žloutnutím a následně opadáním listů. Při špatném přístupu k vodě reaguje kořenový systém rostliny prodloužením ve snaze získat vodu z hlubších vlhčích vrstev půdy. Plody rostlin stresovaných suchem bývají malé, sraštělé a snadno dochází k jejich opadání, taktéž květy mají tendenci opadávat. U kulturních plodin mají výše uvedené skutečnosti za následek nižší výnos a při dlouho trvajícím suchu může být ohrožena potravinová bezpečnost lidské populace.

Ačkoliv semena obsahují pouze 5–15 % vody a v klidovém stádiu vykazují značnou odolnost vůči nedostatku vody, jinak je tomu u klíčících semen. Pro semena je dostatek vody nezbytným předpokladem klíčení a růstu mladé rostliny. Klíčící semena, u kterých se projevuje vodní stres, nedávají dobrý základ pro kvalitní vegetaci, jež se

bude schopná vyrovnat se zvýšenými nároky prostředí. V klimaticky nestálých podmínkách vyvstává požadavek na plasticitu odrůd kulturních plodin, které mají větší šanci čelit stresorům a zajistit stabilní výnos. Ceněny jsou zejména takové fyziologické vlastnosti semen, které souvisí s efektivním využitím vody během klíčení, rychlostí startu enzymatických reakcí při klíčení semen a v neposlední řadě vitalitou semen. Vitalitu semen lze chápat jako odolnost vůči stresorům během období klíčení (Bláha & Pazderů 2011). Takováto vitální osiva dávají vyrůst rostlinám s kvalitnějším kořenovým systémem a celkově odolnějším k nedostatku vody a dalším stresovým faktorům. Šlechtění kvalitních vitálních semen schopných klíčit v menším množství vody je důležitým faktorem přispívajícím k trvale udržitelnému zemědělství (Bláha & Pazderů 2011). Vyvadilová & Klíma (2012) uvádějí odolnost odrůd vůči nepříznivým podmínkám prostředí, zejména nedostatku vody, jako jeden z cílů při šlechtění řepky olejky.

Extrémní teploty vysoká a nízká. Teplota spolu s dalšími faktory prostředí významně ovlivňuje růst a vývoj rostliny. Optimální teplota, tedy teplota, která umožňuje nejrychlejší růst rostlinného organismu, se druhově liší. Nicméně teplotní rozmezí pro zdárný růst a vývoj většiny rostlinných druhů se udává okolo 5–35 °C. Minimální teplota označuje hranici, při které růst už začíná a maximální teplota naopak teplotní podmínky, za kterých růst už ustává.

Optimální a maximální teplota pro klíčení dosahuje většinou o něco nižších hodnot než teplota vhodná pro růst rostliny. Kardinální body (minimum, optimum, maximum) ve vztahu ke klíčení mohou být mírně odlišné nejen podle rostlinného druhu, ale překvapivě i odrůdy, provenience a stáří osiva (Bláhy *et al.* 2012). U řepky olejky začíná klíčení při 1–2 °C, přičemž nejlepší klíčivost dosahuje při teplotě 20 °C. Překročí-li teplota okolního prostředí hranici 40 °C, dosáhla bodu maxima, při kterém se semeni již nedaří klíčit (dochází k denaturaci bílkovin, plazmatických membrán a snižuje se stabilita enzymů; Vašák *et al.* 2000).

Rostlina vystavená teplotnímu stresu tedy vykazuje zpomalený růst, a pokud teplota přesáhne 40 °C, odehrávají se zásadní změny hlavně na buněčných membránách i proteinech. To jak dalece bude rostlina teplotním stresem postižena,

závisí na kombinaci dané teploty a doby expozice teplotnímu stresu. V odezvě na přehřátí začíná rostlinný organismus rychle syntetizovat množství stresových proteinů (např. heat-shock proteins HSP, nebo tzv. dehydriny), které slouží jako nástroj aklimace (Procházka *et al.* 1998). Množství stresových hormonů indukovaných chladem je daleko nižší. Většina rostlinné vegetace se jen těžko vyrovnává s teplotami pod bodem mrazu, jelikož při takto nízkých teplotách se v rostlinných strukturách bohatých na vodu tvoří krystalický led a v podstatě dochází k dehydrataci buněk. Chladová/mrazová dehydratace je způsobena únikem vody z buňky do protoplastu i díky poškozené buněčné stěně. Některé teplomilné rostliny však „prožívají“ teplotní stres i při poklesu teploty pod +10 °C. Opět zde významně záleží na délce doby, po kterou chlad na rostlinu působí.

Rostliny reagují na teplo citlivě, o čemž svědčí i pásmovité uspořádání vegetačního pokryvu Země, úzce souvisejícího právě s rozvrstvením teplot při zemském povrchu. Současný trend zvyšování globální teploty provázeného teplotními výkyvy a extrémy (vysoká i nízká teplota) klade nároky na výběr nových vhodných plodin a odrůd pro regiony obzvláště zasažené změnou klimatu. Pro střední Evropu se do budoucna uvažuje o pěstování takových plodin, které jsou nyní typické spíše pro jih Evropy.

Vliv zasolení. Posledním abiotickým faktorem, na který se tato práce zaměřuje (nikoliv však posledním abiotickým stresorem působícím na rostliny v jejich přirozeném prostředí) je stres vzniklý nadměrným působením iontů solí. Zasolené půdy se zdaleka netýkají pouze regionů v blízkosti moře a slaných jezer, ale mohou být vážným problémem všude tam, kde dochází k nadměrnému výparu a současně nedostatečnému přísunu srážek. Zde opět narážíme na souvislost s klimatickými změnami, jelikož se předpokládá rapidně zvýšená evapotranspirace (tj. ztráta vody výparem a transpirací rostlinami) způsobená nárůstem globálního oteplení a současně nerovnoměrné zásobení srážkovou vodou (vlny sucha střídají přívalové deště). K zasolení však dochází rovněž nadměrnou aplikací průmyslových hnojiv nebo např. v zimním období kolem rychlostních komunikací ošetřených posypovou solí či dlouhodobým nevhodným zavlažováním (např. vodou bohatou na soli či přílišným promyvem profilu závlahovou vodou; Holubec & Štolcová 2002). Bláha (2011) zmiňuje

fakt, že v současnosti se téměř polovina světové produkce potravin pěstuje na zavlažovaných plochách.

Zasolené půdy mají menší úrodnost, nemohou tudíž dostatečně zásobit rostliny potřebnými živinami. Nadměrná koncentrace iontů sodíku a chlóru poškozuje rostlinné tkáně, působí toxicky. Sůl působí v rostlinném organismu také osmoticky, vede ke zvyšování (do záporných hodnot) osmotického tlaku. Z rostlinných buněk uniká voda a ztrácí turgor. Jelikož se v podmínkách zvýšené salinity nedostává rostlinnému organismu dostatek vody – o to více poté rostlina musí vynaložit energii na její získání, bývá tento faktor výrazně limitní zvláště v období klíčení, kdy je dostatečný přísun vody nezbytný (Holubec & Štolcová 2002).

Rostliny byly vystavovány nepříznivým vlivům prostředí již odedávna. Následkem delšího vlivu stresorů se mohou vyvíjet rozmanité adaptační mechanismy rostlin, které pomohou rostlině do jisté míry tolerovat sub-optimální podmínky. Zvýšená variabilita počasí, která je podle Bláhy (2011) hlavním negativním faktorem pro zemědělskou produkci, přispěla k zvýšenému úsilí šlechtitelského výzkumu selektovat genetický materiál s širokou plasticitou (adaptabilitou), schopným čelit těmto podmínkám.

2.4 KLIMATICKÁ ZMĚNA V ČR

Příznivé podnebí, tedy takové dlouhodobé atmosférické podmínky charakteristické pro určitou oblast, vhodné mj. pro pěstování důležitých kulturních plodin, působilo v historii lidstva jako jeden z významných faktorů pro velký rozmach civilizací.

Vědecko-technický pokrok dává nové možnosti v oblasti produkce a zpracování potravin. Potravinářský průmysl nabízí nepřeborné množství polotovarů a produktů s dlouhou trvanlivostí. Rovněž intenzivní způsob zemědělského hospodaření usiluje o hojně vynosy plodin s minimálními vstupy, díky čemuž obyvatelé tzv. vyspělých ekonomik (zemí) netrpí nedostatkem potravin. Může se pak lehce zdát, že *lidé přírodu přelstili, že už na ní nejsou bezpodmínečně závislí*. Mluví se o odcizení moderního člověka přírodě. Nicméně tato iluze nezávislosti mizí, jakmile se příroda projeví v plné síle v podobě ničivé přírodní katastrofy nebo dlouhodobého sucha. Produkty zemědělské výroby zůstávají a nikdy nepřestanou být stále primárním zdrojem potravy pro většinu obyvatel naší planety a možnosti zemědělské produkce konkrétní oblasti jsou limitovány přírodními podmínkami a klimatem, charakteristickým pro danou oblast. V posledních letech se klima stalo často skloňovaným pojmem, zejména v souvislosti s *globální změnou klimatu*.

Podle pravidelných hodnotících zpráv vydaných Mezivládním panelem pro změnu klimatu (Intergovernmental Panel on Climate Change, zkr. IPCC) jsme svědky již probíhajících změn klimatu. IPCC vznikl v roce 1988 z potřeby posoudit nejnovější výzkumy v oblasti změny klimatu a vyhodnotit socio-ekonomický dopad těchto změn a rovněž navrhnout opatření, jak se s těmito změnami vyrovnat. V historii Země nejsou změny klimatických podmínek ničím novým, avšak tyto změny se povětšinou děly pomalým tempem ve velkém časovém horizontu. Za takové změny klimatu se dá považovat například střídání dob ledových a meziledových v souvislosti s vychýlením zemské osy (Žalud 2009). Nastupující globální změny podnebí však nabírají rychlejší průběh, s převážně negativními důsledky na zemědělství a další oblasti lidské činnosti vázané na podnebí. V současnosti se také většina odborníků z oblasti klimatologie a příbuzných oborů shoduje na historicky výjimečném vlivu člověka na klimatickou změnu. Podle zatím poslední hodnotící zprávy IPCC, vydané v průběhu roku 2013 a

2014, je téměř jisté, že lidé svou činností, zejména spalováním fosilních paliv, přispívají ke změně klimatu více jak z 50 % (IPCC 2014).

Žalud (2009) rozlišuje pojmy kolísání klimatu a změna klimatu: „Pojmem kolísání klimatu se rozumí klimatické výkyvy s nejasným dlouhodobým trendem v časovém intervalu 10^0 - 10^2 roků, které jsou podmíněny vnitřní variabilitou klimatického systému a kolísáním klimatotvorných faktorů. V případě změn klimatu jde o klimatické výkyvy se zřetelně vyjádřeným dlouhodobým trendem (ochlazování, oteplování) v časovém intervalu 10^3 roků a více, které jsou následkem změny základních klimatotvorných faktorů.“

Podle stanoviska odborníku z IPCC se dají pozorovat změny v atmosférickém složení zapříčiněné člověkem. S nástupem průmyslové revoluce se začaly spalovat fosilní zásoby, dříve po staletí uložené pod zemským povrchem. Masovým spalováním fosilních paliv se do atmosféry dostává velké množství skleníkových plynů, zejména oxidu uhličitého (CO_2).

Podle 5. hodnotící zprávy (IPCC 2014) se současná klimatická změna projevuje v přírodních ekosystémech i v člověkem řízených ekosystémech, přitom nejmarkantnější důsledky klimatické změny můžeme pozorovat právě v přírodních ekosystémech. V druhé polovině 20. století byl pozorován zrychlený nárůst průměrné teploty spodních vrstev atmosféry, oteplování oceánů. Zvýšená míra tání sněhu a ledu vedou ke změnám v hydrologických systémech. Výkyvy srážkových režimů a větší frekvence extrémně teplých dnů a období sucha pravděpodobně zvýší riziko nedostatku vody v mnoha regionech. Klimatická změna, ač se v některých oblastech může projevit pozitivně (například očekávaným rozšířením zemědělských výrobních oblastí v severní a západní Evropě), přináší pro mnohé země spíše rizika a výzvy spojené s přizpůsobením se novým podmínkám. IPCC varuje proti nynějšímu tempu emisí skleníkových plynů, jež bude mít za následek závažné a nevratné změny ve všech ekosystémech (IPCC 2014). Ve snaze zmírnit dopady těchto změn odborníci apelují na zavedení konkrétních opatření, které můžeme rozdělit do dvou základních směrů, na mitigační a adaptační opatření. Mitigace, neboli zmírnění, počítá s razantním snížením emisí skleníkových plynů (Žalud 2009). Podle Žaluda (2009) však „nelze předpokládat,

že se nám v nejbližší době podaří pouhým snižováním emisí rizika dopadů probíhajících změn zcela odvrátit“, proto se stále častěji zdůrazňuje implementace adaptačních opatření, která mají zmírnit negativní dopady změny podnebí.

Pokud jde o produkční funkci - „vyšší teplota vzduchu, ale i půdy přináší celý komplex vlivů na agroklimatologické podmínky. Průběh teplot určuje vývoj plodin a tím i načasování většiny agrotechnických operací. Nárůst teploty přináší jak nové možnosti, tak rizika pro určité skupiny plodin. Vyšší teploty vyvolávají rychlejší vývoj plodin, který též ovlivní organizace práce, například výsev řepky je limitován včasnou sklizní předplodiny (Pretel *et al.* 2011).“ Podle Kanga *et al.* (2009) klimatické změny ovlivní obsah vody v půdě, což povede ke změnám evaporace z půdního povrchu a zvýšení transpirace u rostlin. Následně změny evapotranspirace mohou vést ke zkrácení vegetační doby rostlin – dojde totiž k rychlému odčerpání využitelné vodní zásoby z půdního profilu (Kang *et al.* 2009). I když se předpokládá, že dopad globálních klimatických změn bude odlišný v různých částech planety – v některých oblastech dokonce můžeme počítat s kladným vlivem na růst zemědělské produkce (např. Rusko) – budou výše zmíněné změny spolu s očekávaným nárůstem extrémních projevů počasí představovat velkou výzvu ohledně udržení takových výnosů plodin, které by neohrozily potravinovou bezpečnost stále početnější světové populace (Kang *et al.* 2009, Tirado *et al.* 2010).

Environmentální funkce zemědělství spočívá ve významném krajinnotvorném vlivu. Způsob jakým se hospodaří na zemědělské půdě a prostředky k podpoření větších výnosů plodin (intenzifikační prostředky) zásadně ovlivňují kvalitu půdy, vody a biodiverzitu blízkého okolí (Penk 2001). V Evropě připadá až 1/3 spotřeby vody právě na zemědělství a zároveň tvoří zemědělsky obdělávaná půda obrovský retenční prostor pro vodu v krajině. Způsob zemědělského hospodaření se citelně podepisuje na retenční kapacitě krajiny (Pretel *et al.* 2011). Vzájemný vztah dopadu zemědělství na kvalitu povrchových a podzemních vod a nároku na velkou spotřebu vody zemědělskou produkcí, klade v podmínkách měnícího se klimatu velké výzvy na efektivnější hospodaření s vodou v krajině. Nutné budoucí změny v hydrologické praxi a managementu vody se následně odrazí také na adaptačních postupech v zemědělství (Tirado *et al.* 2010). V současné době se již i Vláda ČR analyticky zabývá materiály

k omezení dopadu sucha, otevírá grantové a investiční záměry, které danou problematiku budou řešit (Urban, osobní sdělení 15. 4. 2015). K dalším rizikům spojeným se suchem se řadí zvýšení nároků na ochranu rostlin (vyšší spotřeba pesticidů díky většímu biotickému tlaku a novým teplomilným predátorům), vyplavování živin, změna dynamiky organické složky půdy a zhoršující se problém větrné eroze (Žalud 2009, Falloon & Betts 2009). Žalud (2009) vyzdvihuje významnou roli vědy a výzkumu při řešení specifických potřeb v nově vzniklých podmínkách (Žalud 2009) a potřebu vytvoření takové struktury, která by umožnila šířit nové poznatky a zavádět je do zemědělské praxe (Pretel *et al.* 2011). Na poli adaptačních opatření má nezanedbatelnou úlohu také šlechtění plastičtějších odrůd, lépe odolných vůči stresorům vnějšího prostředí i vůči biotickým faktorům (Žalud 2009). Mnozí jiní autoři publikují v tomto smyslu také. Např. Vyvadilová *et al.* (2007) poukazuje kromě produkčního přínosu také na ekonomické výhody a pozitivní dopad na okolní ekosystém při využívání odolnějších odrůd v zemědělské praxi.

Očekává se, že projevy globální změny klimatu se budou v různých částech světa lišit a mohou zesílit lokálně specifické charakteristiky podnebí pro daný region, např. v suchých oblastech se bude ještě více projevovat sucho, v oblastech bohatých na srážky očekáváme častější přísun srážek (Žalud 2009). S tím souvisí i rozdílný dopad na pěstované plodiny, kdy některé druhy budou v nových podmínkách více prospívat, zatímco jiné druhy (zvláště citlivé na stres suchem) budou těmito podmínkami limitovány (Žalud 2009). Na rozdíl od snižování emisí skleníkových plynů je tedy zřejmé, že adaptační opatření mají spíše regionální a lokální charakter a pro zavádění adaptačních strategií je nezbytná znalost lokálních specifik, jakož i prognóz, vypovídajících o vývoji klimatu dané oblasti (Pretel *et al.* 2011; Obr 1).

Na základě výše uvedených informací bychom nyní stručně popsali možné scénáře změny klimatu pro Českou republiku, s důrazem na potenciální dopady na zemědělství. Pro území České republiky je charakteristické vlhké kontinentální klima (s určitým vlivem klimatu přímořského), s převahou studených zim a teplých lét. Nejsilnější deště obvykle přicházejí v létě, přičemž průměrný roční úhrn srážek pro Prahu činí 530 mm. Podle ACCRETe (2007) nevykazuje podnebí ČR žádné statisticky významné hodnoty, které by svědčily o klimatické změně. Pozorovaný charakter počasí

během posledních desetiletí (podle údajů k roku 2007) je stále v rámci klimatické variability. Ovšem Pretel *et al.* (2011) poukazuje na nepřesnost používání globálních klimatických modelů (GCM) pro tak malé území, jako je ČR, které se zde do roku 2007 používaly pro odhad dopadů klimatických změn. Proto byl vyvinut nový regionální model, momentálně provozovaný ČHMÚ (Pretel *et al.* 2011). Podle Pretela *et al.* (2011) se klimatická změna nejvýrazněji projevuje na nárůstu průměrných ročních teplot a dokládá, že mezi obdobími 1961–1980 a 1981–2005 vzrostly v ročním průměru o cca 0,6–1,2 °C. Spolu s posuny v režimu srážek má nárůst teplot vliv na změny v hydrologické bilanci a evapotranspiraci (Pretel *et al.* 2011). Podle scénářů pro střední a východní Evropu očekáváme pokles množství srážek v letních měsících. V zimních měsících by naopak mělo srážek přibývat (ACCRETe 2007, Žalud 2009). Z toho vyplývá, že roční úhrn srážek zůstane podobný, nicméně dojde ke změnám v sezónním srážkovém režimu. Do letních měsíců spadá významné vegetační období většiny kulturních plodin a méně srážek v této fázi může vyvolat zápornou vodní bilanci a následně slabší výnosy plodin. Velmi pravděpodobně se také zvýší frekvence a intenzita letních horkých vln (heat-waves), stejně jako sucha a dalších extrémních projevů počasí (krupobití, přívalové deště, záplavy atd.; viz Obr. 3; ACCRETe 2007, Žalud 2009).

„Tyto krátkodobé projevy počasí spolu s dlouhodobými trendy změn v klimatickém systému se budou na zemědělské výrobě projevovat nepříznivě, a to ať již náhlou přemírou vody, nebo naopak jejím relativně krátkodobým, ale dosti zásadním nedostatkem (Žalud 2009).“ V odpověď na probíhající a dále očekávané klimatické změny schválila vláda České republiky dne 3. března 2004 Národnímu programu zmírnění dopadů změny klimatu v České republice. V tomto programu podtrhuje důležitost zavedení náležitých adaptačních procesů a opatření také v sektoru zemědělství, které by pomohly českému zemědělství se s nastupujícími změnami podnebí co nejlépe vyrovnat. Mimo jiné se doporučuje zavádět nové odolnější a výkonnější odrůdy (genotypy), které efektivněji využívají podmínky prostředí. V hledáčku zemědělského výzkumu, který usiluje o selekci odolnějších genetických genotypů, pochopitelně figurují kulturní plodiny, jež jsou pro daný region významné. Význam řepky olejky pro Českou republiku byl zdůrazněn hned na začátku této práce.

3. METODIKA

3.1 MATERIÁL

Ke zkouškám klíčivosti byla použita semena řepky olejky známého stáří a původu, získané ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze Ruzyni (VÚRV). Jedná se o liniovou odrůdu Cadeli (původně vyšlechtěna ve Francii), dále čínský žlutosemenný genotyp¹ (ČŽL) a jejich křížence (hybrida) ČŽLxCadeli, který byl vytvořen v laboratoři Biologie stresu a biotechnologie ve šlechtění ve VÚRV. Vybrané materiály jsou dostatečně rozdílné z pohledu jejich ranosti, habitu, fenotypu apod. a jsou vhodné pro splnění cílů této BP (Urban, osobní sdělení 2. 7. 2015). Použité genotypy jsou podrobněji popsány v Tab. 1 (Urban, osobní sdělení, 2. 7. 2015).

Tabulka 1 Obecný popis použitých genetických zdrojů

Genotyp	Původ semen	Původ genotypu	Poznámka
Cadeli	Chlumec	Francie Monsanto SAS Monsanto Technology LLC (2008)	ozimá odrůda se střední mrazuvzdorností středně raná odrůda s vysokým výnosovým potenciálem vysoký obsah oleje rostlina středně vysoká s velkými listy dlouhá doba kvetení, vhodná do všech oblastí pěstování výborná pokrývnost na podzim dobrý zdravotní stav a předpokládaná suchovzdornost vyhovující obsah GSL
ČŽL 20/1	VÚRV	Čína Šlechtitelský materiál Norhtwest A F University, Yangling	polo-ozimý charakter habitu s velmi nízkou mrazuvzdorností donor odolnosti k chorobám a světlé barvy osemení velmi raný genotyp rostlina nižší s menšími listy nevyhovující obsah GSL
ČŽLxCAD	VÚRV	hybrid (matka ČŽL), vzniklý ve VÚRV	spíše ozimý charakter s nižší mrazuvzdorností spíše vyšší odolnost k chorobám střední doba kvetení, výborná pokrývnost na podzim spíše vyhovující obsah GSL

Rozdílnost genotypů a jejich hybrida také dokládají tabulky 2 a 3 v části Výsledky.

¹ Genotyp (nebo také genetický, příp. šlechtitelský materiál) používáme jako označení (konkrétního druhu osiva), které je nadřazené pojmu odrůda. Název odrůda se používá pouze v případě genetického materiálu, který byl schválen úřadem ÚKZÚS¹. V našem případě je schválenou odrůdou pouze Cadeli. V případě ČŽL se jedná o šlechtitelský materiál, který zatím není oficiálně schválenou odrůdou v ČR. Kříženec ČŽLxCadeli rovněž není zařazen do Českého katalogu odrůd a proto pro jeho popis nemůžeme použít označení odrůda.

3.2 OBECNÉ ZÁSADY ZKOUŠEK KLÍČIVOSTI

Při sestavování technického postupu klíčení se vycházelo z překladu metodiky klíčení ISTA, která vyšla v českém překladu jako edukativní materiál Ministerstva zemědělství (MZe), odboru rostlinných komodit, čj.: 34349/04-17220 v Praze 13. září 2004 a s názvem „Metodika zkoušení osiva a sadby“ (Trnka 2004). Nicméně tato metodika určuje podmínky pro optimální klíčení ve vodě. Proto bylo dále pro sestavování metodiky klíčení řepky využito zkušeností Ing. Bláhy (osobní sdělení 5. 7. 2016) a také jeho publikované metodiky (Bláha & Vyvadilová 2012).

Z materiálu ISTA (2011) byla stanovena teplota klíčení semen řepky na 20 °C ve tmě. Kromě vysokých teplot a teplot nízkých, se všechny varianty řídily tímto pravidlem teploty a tmy. V případě teplotních stresů byla nastavena teplota podle Bláhovy metodiky (Bláha & Vyvadilová 2012), avšak došlo k modifikaci v případě nízkých teplot, z doporučených 0 až -1 °C na 5 °C. Také režim střídání teplot byl volen po 12 hodinách. Tyto změny proběhly limitům dostupného vybavení (starší typy termoboxů) a až po konzultaci s Ing. Urbanem a Ing. Bláhou. Omezené vybavení (počet Petriho misek) a časové možnosti byly také důvodem menšího množství sledovaných semen (50 semen ve třech opakováních pro jednu pokusnou variantu). Koncentrace jednotlivých stresových variant (klíčení v roztoku PEG 4000 a roztoku NaCl) byly voleny na základě krátkého předvýzkumu (viz poznámka 5). Doba pro trvání zkoušky byla podle doporučení Ing. Urbana stanovena na 21 dní. Metodika ISTA (2011) doporučuje u řepky olejky 7 dní jako dobu trvání testu klíčivosti, pokud však semena začnou klíčit až před koncem této doby, lze ji prodloužit ještě o dalších 7 dní. Jelikož bylo při testování použito poměrně vysokých koncentrací PEG a NaCl roztoků, bylo potřeba provádět zkoušku v delším časovém měřítku.

Na základě materiálu Mze (Trnka 2004) a ISTA (2011) měla výzkumné práce následující charakteristiky:

- metoda s použitím filtračního papíru (tzv. na FP, v mezinárodních certifikátech označení TP – top of paper)
- hlavní část klíčící rostliny v našem případě tvoří primární kořen semene
- normální klíčenec má tyto parametry:
 - vykazuje schopnost trvale se vyvíjet – v našem případě růst primárního kořene $\geq 2\text{mm}$ (tzn. semeno NENÍ považováno za naklíčené, pokud kořen nedosáhnul tohoto rozměru²)
 - klíčenec může projevit slabou nekrózu špičky kořene v případě, že splní podmínku č. 1 a v případě, že jeho vývoj je uspokojivý, vyvážená, a srovnatelný s vývojem neporušených klíčenců v téže zkoušce
 - primární kořen musí být dobře vyvinutý a přiměřeně velký, velikost ani přítomnost kořenového vlášení nehraje roli
- abnormální klíčenec má tyto parametry:
 - jde o klíčence, který není schopen naklíčit primární kořen $\geq 2\text{mm}$
 - primární kořen je silně deformovaný, nekrotický či jinak poškozený I V PŘÍPADĚ, že splnil podmínku č. 1
 - klíčenec s primární vnitřní infekcí (tyto klíčence jsme průběžně odstraňovali a nebyli započítáváni do počtu normálně naklíčených semen, pokud nesplnili podmínku č. 1)
 - radikula nebo primární kořen nejsou vůbec vyvinuty, vyvinuty jsou jen děložní lístky (semeno je viabilní = životné, ale morfologicky abnormální)

² Podle Pazderů & Visingerová (2009) jde v případě klíčení semen v osmoticky aktivních roztocích o důležitý předpoklad viability semen. Semeno může naklíčit, ovšem v případě polních podmínek je nutné, aby také dále rostlo. Min. délka kořenů zajistí, že semeno je schopno klíčit a dále se normálně vyvíjet a minimalizujeme tím negativní vliv změn koncentrace osmotických roztoků.

- primární kořen je zlomený, od špičky rozštěpený či zaškracený, nitkovitý anebo uvízlý v osemeni
- je vytvořena více než jedna radikula
- tzv. tvrdá semena (zůstala tvrdá až do konce zkušebního období, protože nepřijala vodu)
- tzv. svěží nevyklíčená semena (semena imbibovala vodou, zůstala zdravá a pevná, ale nevyklíčila)
- tzv. mrtvá semena (na konci zkušebního období nezůstala ani tvrdá ani svěží nevyklíčená, tj. semena se silně narušeným zárodkem nebo bez zárodku a semena shnilá)

Do vyklíčených semen se započítávají pouze normální klíčenci s délkou kořínku $\geq 2\text{mm}$. Filtrační papír se zvolí podle struktury (porézní, ale kořeny by jím neměly prorůst), pevný (aby se netrhal během klíčení), s dostatečnou vodní kapacitou (papír musí být schopen udržet po dobu trvání zkoušky dostatek vody tak, aby jí semena byla neustále zásobována; semena ovšem nesmí stát „ve vodě“), pH papíru je v rozmezí pH 6,0-7,5.

3.3 TESTOVÁNÍ KLÍČIVOSTI (PRACOVNÍ POSTUP)

Na jednu Petriho misku bylo použito 50 semen zkušební vzorku zvoleného genotypu řepky olejky, přičemž u každé varianty pokusu (např. nízká teplota, sucho atd.) se prováděla 3 opakování. Zkušební vzorek byl připraven z dobře promíchaného podílu čistých semen o známém původu. Všechna semena byla získána z VÚRV, kde byla namnožena v izolátorech, což zaručuje jejich genetickou čistotu. Na jeden genotyp u daného treatmentu³ tedy byly nachystány 3 Petriho misky a celkem 150 semen. Se semeny bylo manipulováno pinzetou, přičemž se dbalo na výběr kvalitních, nepoškozených semen, podobné barvy i velikosti.

Semena byla sterilizovat 5% roztokem sava (účinná látka chlornan sodný) po dobu 5 minut. Poté řádně propláchnuta sterilní destilovanou vodu a nakonec nechána volně proschnout na filtračním papíře, který vsákne přebytečnou vlhkost a zamezí hydrataci semen (to je zvláště nutné pro pokusy s osmotickým stresem).

Petriho misky byly před každým použitím rovněž sterilizovány roztokem sava. Do středu spodní části větší misky o průměru 15 mm byl vložen vrchní díl menší Petriho misky o průměru 12 mm dnem vzhůru. Menší miska tedy uvnitř větší misky tvořila jakýsi „ostrůvek“, na který se kladla semena, aby nedošlo ponoření semen do vody či roztoku. Do takto připravené misky byly vloženy 2 velké filtrační papíry o průměru 15 mm a 2 menší filtrační papíry o průměru 12 mm. Podle zkušeností Ing. Pazderů (osobní sdělení konzultantovi) onen „ostrůvek“ ze dvou vrstev filtračního papíru na menší Petriho misce, která byla vložena do větší, plní roli zásobárny klíčícího roztoku (destilovaná voda, roztok NaCl atd.), tudíž se tento roztok nemusí po celou dobu zkoušení doplňovat (což je důrazně nedoporučováno) a neovlivní výsledek klíčení.

Petriho miska byla naplněna 50 ml destilované vody (stanoveno pokusně), případně stejným množstvím konkrétního roztoku, v závislosti na typu treatmentu. Při vkládání filtračního papíru byly použity sterilní rukavice (70% ethanolem), aby se

³ V odborné literatuře se běžně nahrazuje české sousloví „varianta pokusu“ za slovo „treatment“ (ang. pokus). Na následujících stránkách je tedy používán také tento jednoslovný pojem.

zabránilo kontaminaci vnitřního prostoru misky nečistotou. Papír byl vyhlazen tupým rovným předmětem, nejlépe se osvědčila zdesinfikovaná spona na uzavírání sáčků.

Semen byla rovnoměrně rozložena v dostatečné vzdálenosti do sebe. Zabránilo se tak proplétání kořenů do sebe a umožnilo dostatečný přísunu roztoku. Horní díl Petriho misky byl označen lihovým fixem (genotyp, typ treatmentu a datum).

Petriho miska byla vložena do mikroténového sáčku, řádně uzavřeného sponou, aby se zabránilo ředění osmotických roztoků vzdušnou vlhkostí. Semena byla odečítána⁴ každý den. Naklíčená semena byla odstraňována, a tudíž docházelo k výměně vzduchu v Petriho misce.

Petriho misky v mikroténových sáčcích byly uchovávány v termostatu při teplotě podle typu treatmentu. Pro kontrolní klíčení v destilované vodě, stejně tak pro klíčení v roztocích, které simulují prostředí nedostatku vody a zasolení, byla teplota nastavena na 20 ± 2 °C, u treatmentů s vysokou teplotou klíčí semena při $41 \pm 2 / 20 \pm 2$ °C, po 12 hodinách a při klíčení v podmínkách chladu při $5 \pm 2 / 20 \pm 2$ °C po 12 hodinách. Byly použity termostatické boxy (inkubátory) s topným i chladicím systémem s možností nastavení teplot a teplot kritických (při kterých se spustí rezervní chlazení). Teplota byla vyrovnána ve všech místech boxu a případné kolísání nebylo větší než ± 2 °C.

Do pokusného deníku byl zapisován typ varianty, počet opakování, typ odrůdy, datum a čas a údaje z pozorování. Semena v termostatu byla kontrolována každých 24 hodin po dobu 21 dnů. Pro měření délky klíčků semínek se v praxi se nejlépe osvědčil tenký drátek pokrytý vrstvou umělé hmoty, na kterém byla lihovým fixem zaznačena ryska ve vzdálenosti 2 mm od okraje drátku. Vyklíčená semena s kořínkem o délce 2 mm a více byla zapsána do tabulky a odstraněna z Petriho misky. Všechna nenaklíčená semena, abnormální či nedostatečně vyvinutá semena byla ponechána na lůžku, ale shnilá bylo nutné z lůžka odstranit při každém počítání, aby se snížilo nebezpečí sekundární infekce zbylých klíčcích rostlin.

⁴ Odečítáním (příp. měřením) se rozumí zaznamenávání počtu semen, která splňují parametry normálních klíčenců s klíčkem o délce 2mm a více. Odečítání probíhá v intervalu 24 hodin.

Zvolené pokusné varianty (treatmenty):

Kontrolní: Nejprve se provádělo klíčení semen v destilované vodě. Kontrolní klíčení probíhalo v optimálních podmínkách pro klíčení řepky, při teplotě 20°C v termoboxu.

V roztoku NaCl: Pro simulaci stresového faktoru zasolení klíčila semena v roztocích chloridu sodného o třech koncentracích⁵: **150 mM** roztok NaCl, **200 mM** roztok NaCl, **250 mM** roztok NaCl. Koncentrace roztoků se udává v milimolech (mM). Teplota 20 °C byla zajištěna použitím termoboxu.

V roztoku PEG: Klíčení semen v roztoku polyethylenglykolu (PEG) imituje stresové podmínky sucha. Byl použit polyethylenglykol o molekulové hmotnosti 4000. Rozpuštěním příslušného množství v destilované vodě vznikl roztok požadované koncentrace (udávané v procentech). Zkoušky klíčivosti byly prováděny v třech variantách roztoků⁶: **15%** roztok PEG, **18%** roztok PEG, **22%** roztok PEG. Stálá teplota prostředí (20 °C) byla zajištěna tak jako ve všech ostatních případech vložením vzorků do termoboxu.

Vysoká teplota: Klíčení semen v destilované vodě probíhalo v střídavém režimu 41 °C a 20 °C po 12hodinových intervalech (zajištěno termoboxem).

Nízká teplota: Semena klíčila v destilované vodě v termoboxu, kde se každých 12 hodin střídali nízké teploty (5 °C) s optimálními 20 °C.

V případě klíčení semen v roztocích soli a PEGu se považuje za jeden treatment jedna konkrétní koncentrace. Celkově tedy probíhalo devět variantami treatmentů ve třech opakováních.

⁵ Koncentrace roztoků byla orientačně konzultována s Ing. Urbanem z VÚRV. Nejprve se tedy zkušebně nechalo klíčit vždy cca 20 semen v roztocích o koncentraci 50 mM, 100 mM, 150 mM a 200 mM. Konečné koncentrace použité v samotném pokusu jsou vybrány tak, aby byl zřetelný přechod mezi tím, kdy semena dobře klíčí a kdy se (rychlost) klíčení zpomaluje.

⁶ V případě roztoku PEGu byly nejprve testovány roztoky o koncentraci 5 %, 10 %, 15 % a 22 %. Pro výzkum klíčení semen v režimu nedostatku vody se nakonec jako vhodnější ukázaly varianty o koncentracích 15 %, 18 % a 22 %.

3.4 POSTUP VÝPOČTU INDEXŮ KLÍČENÍ

Klíčivost vzorků byla hodnocena jako fyziologická. Celková klíčivost byla stanovena jako suma denních klíčivostí. Semena byla z Petriho misek odečítána v pravidelných intervalech 24 hodin. Většina výsledků je pro přehlednost zpracována do tabulek, grafů a obrázků.

Mezi tyto indexy patří zejména **index klíčivosti** (germination index – **GI**) a **koeficient rychlosti klíčení** (coefficient of velocity of germination – **CVG**). V textu a v popisících grafů používáme tyto mezinárodní anglické zkratky.

Tyto indexy byly vypočteny takto (Ashkan & Jalal 2013):

$$GI = \frac{\text{počet vyklíčených semen druhý den po začátku pokusu}}{2} + \frac{\text{počet vyklíčených semen třetí den}}{3} + \dots + \frac{\text{počet vyklíčených semen 21. den (poslední den klíčení)}}{21}$$

$$CVG = \frac{G_2 + G_3 + G_4 + \dots + G_{21}}{(G_2 \times 2) + (G_3 \times 3) + (G_4 \times 4) + \dots + (G_{21} \times 21)}$$

kde G_2 – je součet semen, které byly vyklíčené druhý den (48 hodin) po začátku pokusu, G_3 – počet semen, které byly vyklíčené 3. den po začátku pokusu atd. Konec odečtů naklíčených semen proběhl podle metodiky až 21. den po začátku pokusu.

Tyto indexy vypovídají o rychlosti (příp. tempu) klíčení.

Další použité indexy (Šerá, 2014):

Klíčivost semen (SEED GERMINATION) celkový počet vyklíčených semen

V užším slova smyslu: Procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku za optimálních podmínek v čase vymezeném pro klíčení (tedy v období, kdy je klíčení ukončeno).

Klíčivost semen (%): $SG = Gf / S * 100$

Gf ... počet vyklíčených semen na konci kultivace, S ... celkový počet testovaných semen

Energie klíčení (GERMINATION ENERGY)

Procentuální množství vyklíčených semen daného vzorku v daném čase (v období před ukončením procesu klíčení; ISTA (2011) udává pro řepku 5. den). Energie klíčení vypovídá o intenzitě a vyrovnanosti klíčení.

Energie klíčení (%): $GE = Gt / S * 100$

Gt ... počet vyklíčených semen ve dne t^7

Rychlost klíčení (SPEED OF GERMINATION)

Poměr počtu vyklíčených semen na začátku a na konci stanovené doby, který se zpravidla vyjadřuje v %. K porovnání vzorku ošetřených semen se semeny neošetřenými (kontrolní vzorek) můžeme použít tzv. relativní rychlost klíčení. Relativní rychlost klíčení (relative speed of germination) Rychlost klíčení vypovídá především o celkové vitalitě testovaných semen.

Rychlost klíčení (%): $SG = Gt/Gf * 100$

Relativní rychlost klíčení (%): $RSG = SGtr/SGco * 100$

SGtr ... rychlost klíčení ošetřeného vzorku, SGco ... rychlost klíčení kontrolního vzorku

⁷ Pazderů & Visingerová (2009) uvádějí, že energie klíčení se počítá v době prvního odečtu stanoveného podle metodiky ISTA (řepka olejka – 5. den; ISTA 2011). Nicméně zdá se, že podle zaměření výzkumu se dá tento den modifikovat. Potyšová (nedatováno) uvádí, že termín prvního odečtu se může posunout dle úsudku laborantky (o 1 až 3 dny) a den uváděný v ISTA metodice pro první odečet platí pro nejvyšší teploty uvedené v ISTA pro danou plodinu. Rovněž Ing. Bláha (osobní sdělení, 18.4.2016) stanovuje čas odečtu na 1. a 2. den, kdy první semena naklíčila do požadovaných parametrů (2mm radikula u řepky olejky). Pod vlivem různých stresorů se tato doba může měnit.

4. VÝSLEDKY

4.1 PŮVOD MATERIÁLŮ A JEJICH VZNIK

V rámci Česko-čínského projektu byly ze souboru genetických zdrojů řepky z ČR a ČLR vybraného oběma partnery na základě stanovených genetických vzdáleností vybrány rodičovské komponenty pro křížení. U F1 hybridů byl na základě hodnocení znaků produktivity v polních pokusech zjišťován projev heterózního efektu k lepšímu rodiči. Z osiva hybridů a rodičovských komponent byl v srpnu 2012 založen ve VÚRV Ruzyně polní srovnávací pokus ve třech opakováních s velikostí parcel 10 m². Pokus byl sklizen 6. srpna 2013. Hodnocení pokusu v průběhu vegetace a výnos semen viz tabulka níže. V bakalářské práci byly zkoumány tři genetické materiály: Cadeli, ČŽL 20/1 a jejich kříženec (hybrid) ČŽL 20/1xCadeli.

Tabulka 2 Hodnocení hospodářských znaků použitých materiálů a hybridů

Varianta	Opakování	Výnos t/ha	% výnosu kontrol	% k lepšímu rodiči	Přezimování %	Odolnost proti					Začátek kvetení	Konec kvetení	Výška cm	HTS (g)	Výnos při 100% přezimování	
						Foma	Hlízenka	Padlí	Černí	Poléhání						
ČŽL 20/1	A	2,02			57						2.5.	23.5.				3,54
	B	1,65			42						2.5.	23.5.				3,93
	C	1,34			28						2.5.	23.5.				4,79
	Průměr	1,67	44,53		42	7	8	7	8	8	2.5.	23.5.	118	6,21		4,09
ČŽL x Cadeli	A	2,66			73						3.5.	25.5.				3,64
	B	2,17			53						3.5.	25.5.				4,09
	C	3,24			48						3.5.	25.5.				6,75
	Průměr	2,69	71,73	77,30	58	7	8	6	8	8	3.5.	25.5.	130	6,22		4,83
Cadeli - K	A	3,64			65						7.5.	24.5.				5,60
	B	3,39			73						7.5.	24.5.				4,64
	C	3,42			75						7.5.	24.5.				4,56
	Průměr	3,48	92,80		71	6	7	5	7	8	7.5.	24.5.	138	6,22		4,93

(Zdroj: Urban, osobní sdělení, 2. 7. 2015)

V **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** jsou obsaženy informace, které rozdělují oba rodičovské komponenty následného hybridu zcela jasně. Hlavně průběh vegetace, úroveň mrazuvzdornosti a odolnosti k chorobám, jakožto i další parametry odrůdy Cadeli oproti ČŽL dokazují, že pravděpodobnost heterózního efektu bude vysoká a že tento efekt bude výrazný, vzhledem k odlišnostem mateřských komponent.

V **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** a Tabulka 2 můžeme sledovat vliv heterózního efektu na základní agronomické vlastnosti hybridu v porovnání k jeho „horšímu“ (ČŽL) rodiči. U hybridu se zvýšila mrazuvzdornost, výnos, také výška. Odolnost proti fomě, hlízence, padlí, a černi stonků byla zase zvýšena oproti „lepšímu“ rodiči, odrůdě Cadeli.

Tabulka 3 odkazuje na kvalitu semen odrůd a jejich hybridů. Za povšimnutí stojí poměrně vysoký obsah glukosinolátů (GSL) v hybridovi, což sice nenahrává jeho kvalitě, za to ovšem odpovídá na odolnost hybridu proti nepříznivým biotickým vlivům okolí (viz. **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** a Tabulka 2). Heterózní efekt se bohužel neprojevil v kvalitě oleje, protože kyseliny nebyly výrazně zvýšeny, naopak, nežádoucí kyselina eruková přítomna byla.

Tabulka 3 Hodnocení kvality hybridů a rodičovských komponent metodou NIRS⁸

Poř. č.	Varianta	Vlhkost (%)	Olej v sušině	Olej při 8 % vlhk.	GSL při 9% vlhk.	Kys. olejová	Kys. linolová	Kys. linolenov	Kys. eruková	NL (%)
2	ČŽL 20/1	5,37	43,66	40,17	21,01	61,29	22,37	9,71	0,94	25,55
3	ČŽL x Cadeli	5,59	42,59	39,18	22,17	62,52	21,78	8,82	0,32	25,89
4	Cadeli	5,64	42,65	39,24	16,96	67,33	21,87	8,28	stopy	25,09

Poř. č.	Varianta	Vlhkost (%)	Olej v sušině	Olej při 8 % vlhk.	GSL při 9% vlhk.	Kys. olejová	Kys. linolová	Kys. linolenov	Kys. eruková	NL (%)
2	ČŽL 20/1	5,37	43,66	40,17	21,01	61,29	22,37	9,71	0,94	25,55
3	ČŽL x Cadeli	5,59	42,59	39,18	22,17	62,52	21,78	8,82	0,32	25,89
4	Cadeli	5,64	42,65	39,24	16,96	67,33	21,87	8,28	stopy	25,09

(Zdroj: Urban, osobní sdělení 20. 5. 2015)

⁸ NIRS – Near-infrared spectroscopy – Blízká infračervená spektroskopie

4.2 MĚŘENÍ VYKLÍČENÝCH SEMEN

V Příloze 1 až 4 jsou zaznamenány počty semen, která byla naklíčena jako „normální klíčenci“ v jednotlivých časových úsecích (vždy po 24 hodinách) od začátku klíčení (den 0). V těchto tabulkách vidíme, kolik semen naklíčilo v přesně stanovených úsecích a můžeme vypočítat např. energii klíčení (GE), koeficient rychlosti klíčení (CVG) apod. Jsou zde také uvedena čísla celkového počtu vyklíčených semen (většinou 50) a počet zbylých, tj. nenaklíčených semen. Pokusy byly ukončeny 21. den po začátku klíčení. Sloupce označené čísly 1, 2 a 3 označují počet opakování treatmentů.

Z Přílohy 1, která zachycuje kontrolní měření všech tří genotypů, je patrné, že odrůda Cadeli klíčila poněkud pomaleji a měla i nižší klíčivost. Z dat klíčení v kontrolních podmínkách bychom tedy genotypy podle jejich potenciální adaptability tolerance ke stresu během klíčení nerozdělili.

V Příloze 2 jsou uvedena data klíčení semen v podmínkách solného stresu. Oproti kontrolním podmínkám (2. den) se maximum klíčení semen posouvá se vzrůstajícím osmotickým potenciálem roztoku a to od 2. do 4. dne po začátku klíčení pro Cadeli a hybrida. ČŽL v nejvyšší koncentraci (250 mM) vykazuje jakýsi vrchol až 8. den po začátku klíčení. U této odrůdy se také výrazně snížil celkový počet naklíčených semen v této koncentraci soli, což je jasně patrné i z Obrázek 3 (str. 38). Tento výsledek odkazuje na zvýšenou senzitivitu ČŽL při klíčení v zasolených půdách a relativně vyšší odolnost Cadeli a hybrida.

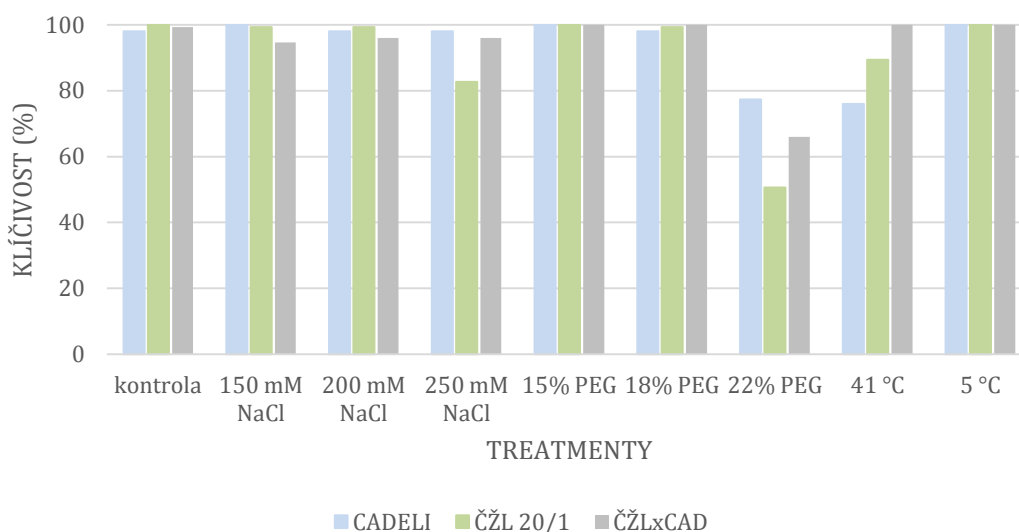
Na celkový počet vyklíčených semen (a další vypočítané indexy) měl podle očekávání největší vliv hlavně polyethylenglykol (PEG; Příloha 3), jehož vodný roztok působí jako nepermeabilní (neprostupné do buněk) osmotikum, které simuluje klíčení v suché půdě. Největší počet semen, která nevyklíčila, se ukázal až v nejvyšší tzn. 22% koncentraci PEG. Tato koncentrace se ukázala být zásadní, protože výrazně snížila klíčivost i rychlost klíčení. Největší pokles klíčivosti a dalších indexů opět prokázal genetický materiál ČŽL.

Vliv vysokých a nízkých teplot je ukázán v Příloze 4. Již na první pohled je patrné, že vysoké teploty (41 °C/20 °C) měly velmi výrazný vliv na celkovou klíčivost (viz Obrázek 3 Průměrná klíčivost jednotlivých genotypů v různých variantách kultivace),

kteřá byla oproti kultivaci v nízké teplotě a kontrolním podmínkám snížena až o 20 % pro odrůdu Cadeli a o cca 10 % pro ČŽL. Odrůda Cadeli ukázala i nižší rychlost klíčení v obou variantách. Hybrid sníženi klíčivosti ve vysoké teplotě neprojevil.

4.2.1 Parametry klíčivosti a jejich grafické výstupy

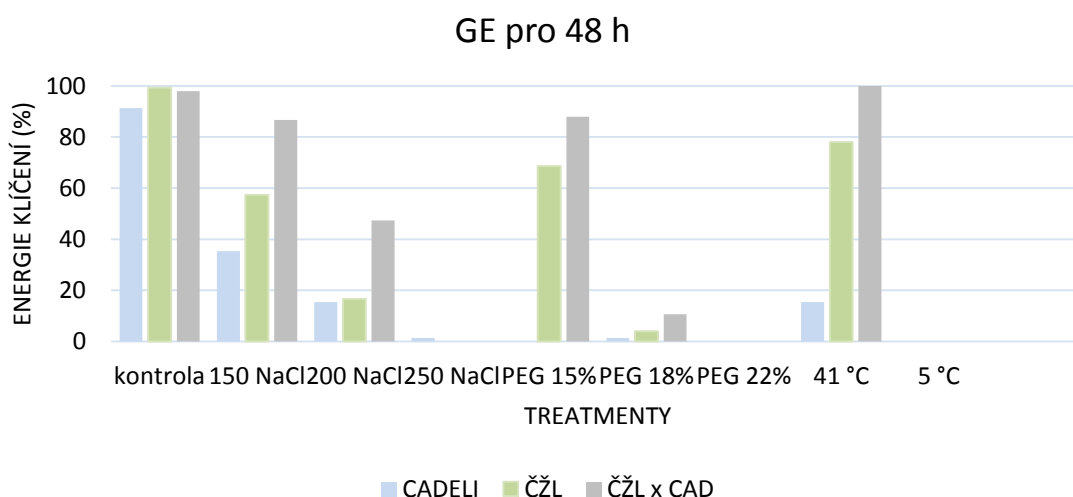
Klíčivost osiva stanovená laboratorní zkouškou je schopnost semen poskytnout v optimálních podmínkách za stanovenou dobu maximální počet normálně vyvinutých klíčících rostlin, u nichž je předpoklad, že v příznivých podmínkách v půdě se vyvinou v normální rostliny. Klíčivost semen znázorněná grafem na Obrázek 3 byla v kontrolních (K) podmínkách výborná a uniformní u všech genotypů. Kvalita osiva se tedy mezi genotypy nelišila. Na obrázku 3 ovšem vidíme, jak byla klíčivost mezi genotypy ovlivněna pokusnými variantami a snižovala se se vzrůstajícím osmotickým tlakem roztoku (aktivitou osmoticky aktivních částic v roztoku – PEG nebo sůl). Největší rozdíl mezi genotypy je patrný v koncentracích 250 mM roztoku kuchyňské soli a 22% roztoku PEG. Nejnižších hodnot klíčivosti v těchto roztocích prokázala odrůda ČŽL. Zajímavé je i snížení klíčivosti (které také rozděluje genotypy) ve variantě klíčení ve vysoké teplotě. Ve stresovém prostředí za vysoké teploty došlo ke snížení klíčivosti nejvíce u odrůdy Cadeli.



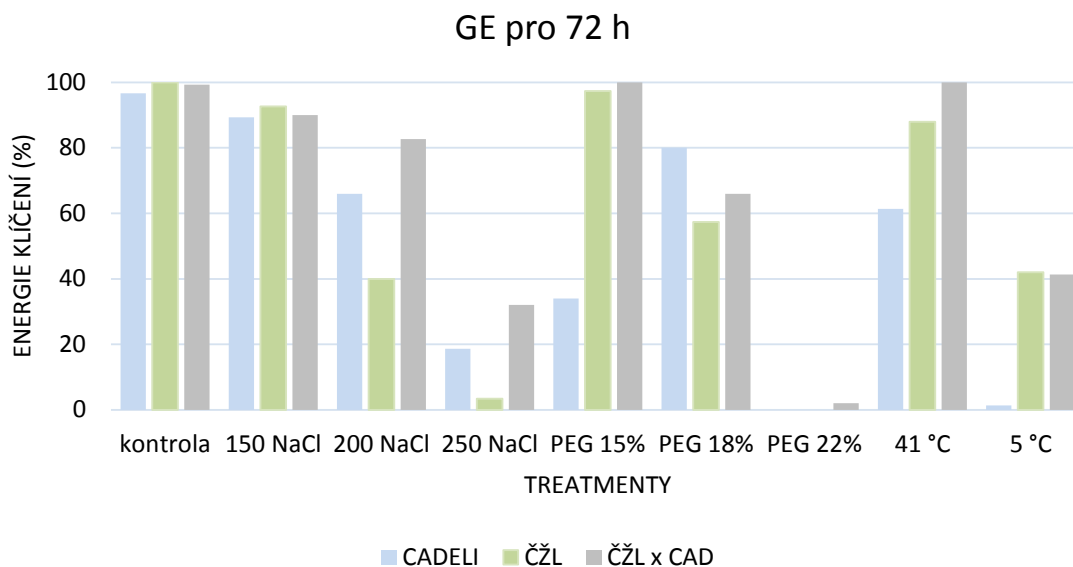
Obrázek 3 Průměrná klíčivost jednotlivých genotypů v různých variantách kultivace k 21. dni

Z těchto výsledků je patrné, že ČŽL je z pohledu celkové klíčivosti semen nejvíce senzitivní ze všech genetických materiálů na zasolení a simulovaný stres suchem. Cadeli a hybrid velmi dobře snáší zasolení, dále Cadeli nejlépe reaguje v simulovaných podmínkách sucha, protože jeho klíčivost je snížena nejméně. Hybrid své rodiče překonal hlavně v klíčivosti ve vysoké teplotě. Obecněji můžeme říci, že v porovnání s horším rodičem (ČŽL) se heterózní efekt hybridu výrazně projevil v jeho vyšší odolnosti klíčivosti semen v sub-optimálních a stresových podmínkách.

Obrázky Obrázek 4 a Obrázek 5 graficky znázorňují hodnoty dalšího parametru - energii klíčení (GE) po 48 a 72 hodinách od založení treatmentu. Druhý až čtvrtý den došlo k největšímu nárůstu klíčení semen v převážné většině variant. Druhý den se ukázal být velmi vhodným ukazatelem vlivu sub-optimálních podmínek na klíčení vybraných odrůd zejména v nižších koncentracích a u vysoké teploty. Nicméně v nejvyšších koncentracích solného roztoku, střední a vysoké koncentraci PEGu a v nízké teplotě druhý den vyklíčilo nepatrné množství semen. U těchto treatmentů se nejvyšší energie klíčení pozorovaných vzorků patrná spíše 72 hodin po založení pokusu, u 18% roztoku PEGu dokonce ještě později (viz Příloha 7).

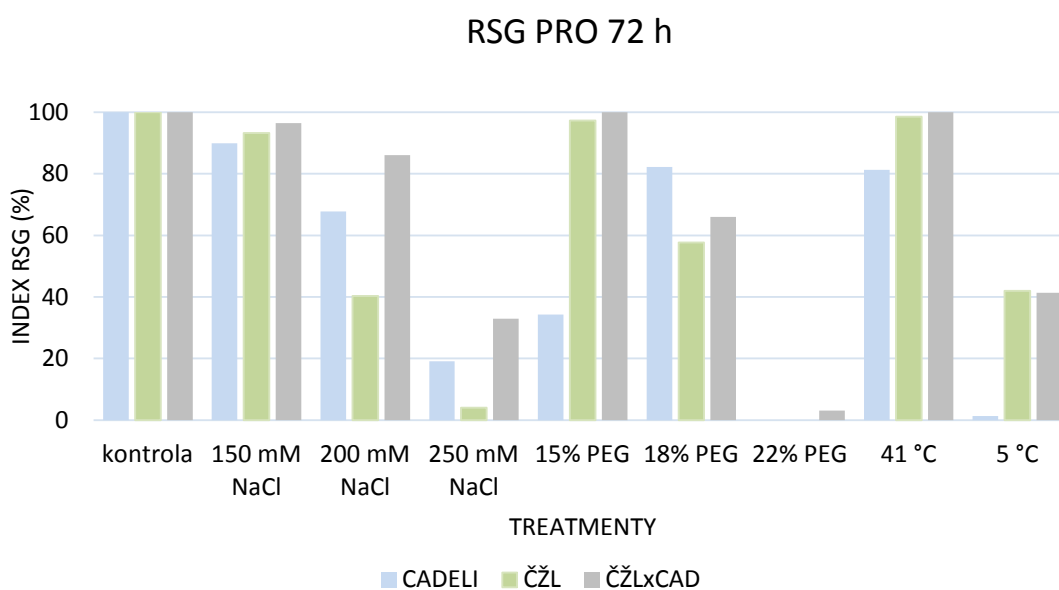


Obrázek 4 Energie klíčení (GE) pro jednotlivé genotypy po 48 hodinách



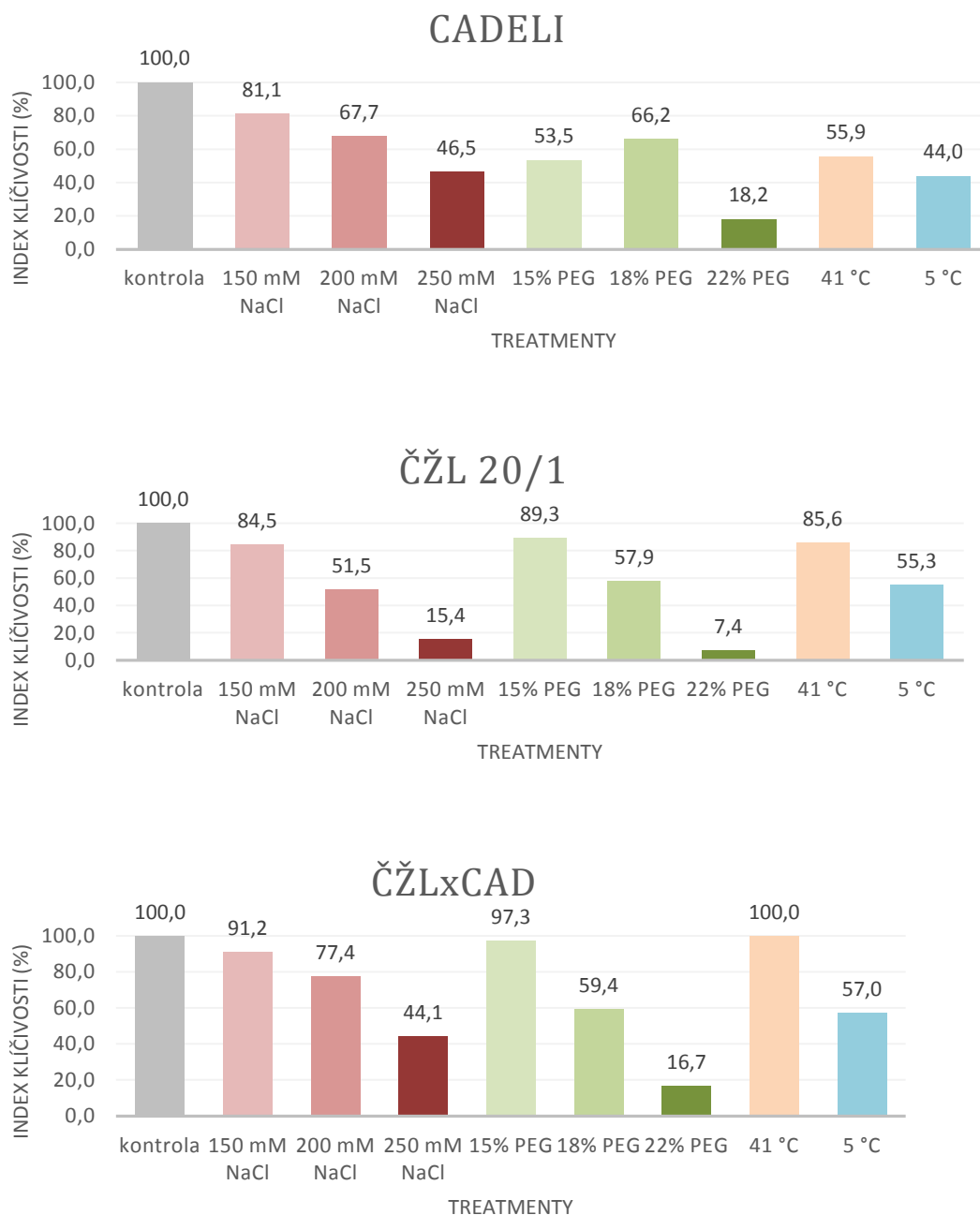
Obrázek 5 Energie klíčení (GE) pro jednotlivé genotypy po 72 hodinách

Hodnoty energie klíčení (GE) a relativní rychlosti klíčivosti (RSG) – ačkoliv počítány z jiných dat – ukazují na velmi podobný trend mezi genotypy. U indexu RSG byla porovnána rychlost klíčení ošetřeného vzorku (sub-optimální prostředí) ke kontrolnímu vzorku daného genotypu pro 3. den měření. Oba indexy GE i RSG potvrzují vysokou výkonnost hybridu ČŽLxCAD.



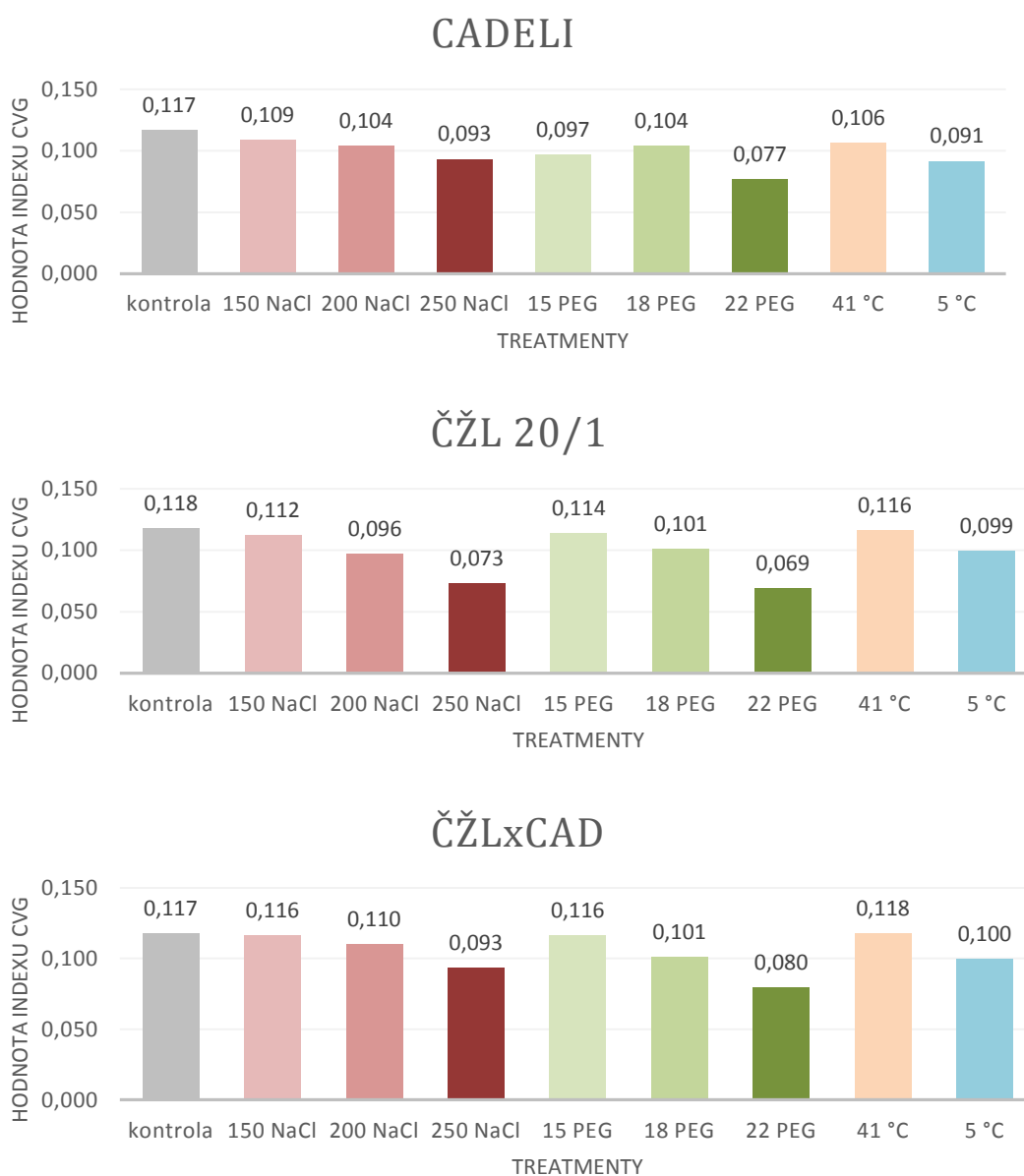
Obrázek 6 Relativní rychlost klíčení (RSG) pro jednotlivé genotypy po 72 hodinách

Na souhrnných obrázcích 7 a 8 lze porovnávat index klíčivosti (GI) a koeficient rychlosti klíčení (CVG) v rámci jednotlivých genotypů napříč sledovanými variantami pokusu. Vzrůstající stresové podmínky (vyšší koncentrace NaCl či PEG) snižovaly oba indexy, i když pokles indexu GI byl výraznější než CVG. Při porovnání hodnot mezi genotypy také můžeme vidět, že hybrid prokázal nejvyšší GI při klíčení v teplotních stresech, v nižší a střední koncentraci soli a také v nejnižší koncentraci roztoku PEGu.



Obrázek 7 index klíčivosti (GI) u jednotlivých genotypů napříč treatmenty

Na obrázku 8 je vidět vliv variant na jednotlivé genotypy. Koeficient rychlosti klíčení (CVG) vyjadřující tempo klíčení v průběhu pokusu byl u stresových variant nejméně snížen pro hybrida ČŽLxCAD. Odrůda Cadeli dosáhla relativně vyšších hodnot koeficientu při silnějším působení stresoru (200 a 250 mM NaCl a 18 a 22 % PEG), ovšem v nižších koncentracích (150 mM a 15 % PEG) byly tyto hodnoty nižší v porovnání s ostatním genetickým materiálem.



Obrázek 8 Hodnoty indexu CVG jednotlivých genotypů napříč treatmenty

5. DISKUZE

Zkoumání klíčivosti semen řepky předcházelo předvýzkum, za účelem zjištění vhodného rozmezí koncentrací NaCl a PEG. Na tomto základě byly vybrány koncentrace PEG a NaCl tak, aby semena ještě klíčila a přitom došlo ke snížení rychlosti klíčení bez nekrotických kořenových špiček.

Klíčivost semen bývá nejčastěji hodnocena v optimálních podmínkách, podle metodiky ISTA. Nicméně klíčení ve stresových podmínkách lépe zachycuje vitalitu osiva. Vitalita je síla zdravých semen, zabezpečující rychlé a homogenní klíčení i v nepříznivých podmínkách, které byly v této práci simulovány osmotickými a teplotními stresy.

Na základě výsledků klíčících indexů (index klíčení GI a koeficient rychlosti klíčení CVG), počítaných z dat pro solný stres, je patrné, že s vyšší koncentrací NaCl klesá tempo klíčení. Nejnižší koncentrace 150 mM NaCl byla zvolena správně, jelikož mírně snižuje tempo klíčení a lze předpokládat, že ve více naředěném roztoku NaCl by semena klíčila obdobně jako v kontrole (což signalizoval již předvýzkumný pokus). Efekt solného stresu na klíčení semen sledovali Ashkan & Jalal (2013), kteří použili jako zkoumaný vzorek semena halofytů. Pokusy probíhaly v roztoku NaCl ve třech koncentracích – 50 mM, 100 mM a 200 mM. Autoři našli těsný a signifikantní vztah mezi koncentrací solného roztoku a CVG a potvrdili, že tempo klíčení vyjádřené koeficientem CVG s vyšší koncentrací NaCl převážně klesá. U Indexu klíčení (GI) je tato tendence obdobná, ale rozdíly mezi jednotlivými koncentracemi jsou zřetelnější. Zajímavé jsou jejich pozorování ohledně nižších koncentrací NaCl, kdy některé ekotypy dosahovali nejvyšší tempo klíčivosti v 50mM a 150mM roztoku a klíčili tak lépe než v kontrolním treatmentu (ve vodě).

U řepky a dalších brukvovitých rostlin sledoval toleranci k solnému stresu v období klíčení Jamil *et al.* (2005) a došel k závěru, že vyšší koncentrace soli snižují významně celkovou klíčivost semen u všech pozorovaných vzorků, což se shoduje s výsledky pro treatment 250 mM NaCl, kdy se významněji snížila celková klíčivost u všech tří genotypů. Jamil si také všímá větší míry tolerance ke stresu suchem u řepky

v porovnání s dalšími sledovanými zástupci čeledi brukvovitých, zejména u nízkých koncentrací soli.

Je nutné zmínit, že solný stres působí stejně jako roztok PEG osmoticky, ovšem navíc i toxicky (ionty Na^+ a Cl^-). Při srovnání dat v Příloze 2 a 3 si lze všimnout jasného rozdílu v počtu celkově naklíčených semen, který je v NaCl přes jeho toxicitu vysoký. To bylo pravděpodobně způsobeno faktem, že v roztoku PEG semena sice imbibovala, radikula prorazila osemení a semena začala klíčit, kořínek ovšem nedorostl na stanovenou délku 2 mm nebo nekrotizoval. I na základě těchto výsledků můžeme prohlásit, že čistě osmotický (PEG) a kombinovaný osmotický a toxický stres (NaCl) nejsou podobné a oba hrají významnou roli při porovnávání adaptace odrůd na očekávané klimatické změny. Toxicitu solného stresu zdůrazňují také Ashkan & Jalal (2013) a uvádějí, že nižší klíčivost ve vyšších koncentracích roztoku NaCl působí osmotický stres, toxický vliv iontů soli, ale také nutriční nerovnováha, do které se semena dostávají vlivem zasolení.

U treatmentů prováděných v roztoku PEGu 4000 o 3 různých koncentracích byla pozorována imitace vlivu sucha na klíčení semen. V nejvyšší koncentraci roztoku (22% PEG) došlo k největšímu snížení celkové klíčivosti u všech tří genotypů v rámci variant pokusu v PEGu i v rámci všech sledovaných treatmentů. Vyšší koncentrace PEGu rovněž opoždí nástup klíčení ve srovnání s kontrolním treatmentem. Podobný vliv pozoroval např. Toosi *et al.* (2014) na brukev sítinovitou (*Brassica juncea*).

Také výsledky celkové klíčivosti (seed germination SG), uváděné v této bakalářské práci, potvrzují schopnost osmotického stresu v PEGu (zejména 22% roztoku PEG) rozlišit tři, byť blízké příbuzné, genetické materiály. Vliv PEG na 10 odrůd řepky sledovali Shahverdikandi *et al.* (2011). Odrůdy s vysokou mírou klíčivosti a dalších indexů byly označeny jako odolné k suchu. Shahverdikandi použil dvě koncentrace PEGu 6000 a na základě testů klíčivosti se mu podařilo roztřídit sledované odrůdy do čtyř skupin podle míry odolnosti k suchu.

Při porovnání vlivu PEGu o 15% a 18% koncentraci (podobně v NaCl) v souvislosti s intenzitou klíčení (index GE) je patrné, že odrůda Cadeli lépe reaguje na větší osmotický stres než na 15% koncentraci PEGu. Pro vysvětlení této skutečnosti nemám dostatek dalších informací, ale může to být způsobeno nižší celkovou klíčivostí Cadeli v kontrolních podmínkách a naopak lepší adaptabilitou semen této odrůdy v

prostředí silnějšího stresu. Pazdera (2004) zmiňuje, že v prostředí osmotika dochází k pomalejší imbibici (nabobtnání) semen, a to je spojeno s vyšší aktivitou reparačních enzymů v semenech. Odrůda, která tak hůře klíčí v kontrolních podmínkách, může po částečné imbibici (vlastně se jedná o „priming“ semen) vykazat lepší schopnosti klíčit.

U teplotního treatmentu - klíčení za vysoké teploty (41 °C), se projevila jako nejslabší odrůda Cadeli a to jak z pohledu celkové klíčivosti, tak z pohledu intenzity a rychlosti klíčení. Naopak relativně méně výkonný genotyp ČŽL projevoval oproti Cadeli větší energii klíčení už 48 hodin po založení pokusu, což může být způsobeno větší odolností čínského materiálu (v Číně se tyto materiály sejí v brzkém jaru do vyhřáté půdy). Azharudheen *et al.* (2013) nechal klíčit semena brukve sítinovité (*Brassica juncea*) v teplotním stresu uvádí, a potvrzuje, že vysoká teplota drasticky snižuje klíčivost semen.

U testů odolnosti vůči nízkým teplotám jsem volila teplotu o 5 °C vyšší, než je doporučováno u Bláhy (Bláha & Vyvadilová 2012) z důvodu nedostatečného vybavení (starší termostaty), což se patrně projevilo také na výsledcích celkové klíčivosti, které jsou srovnatelné s kontrolními treatmenty. Nicméně výsledky indexů CVG a GI odhalují snížené tempo klíčení u všech tří genotypů už při této teplotě.

Z hlediska celkového časového intervalu zvoleného pro jeden treatment (21 dní) výsledky odečtů ukazují, že semena ve vyšších koncentracích PEGu a nejvyšší koncentraci NaCl klíčí ještě v průběhu třetího týdne, i když už jen s nepatrnou intenzitou. Předpoklad, že vysoké osmotické koncentrace významně prodlouží celkovou dobu, kdy jsou ještě semena schopna klíčit, byl tedy správný. Nicméně na základě výpočtů různých klíčících indexů a při porovnání celkové klíčivosti počítané k 7. dni (Příloha 5) versus klíčivosti k 21. dni (Obrázek 3, str. 38) vyplývá, že podobnou výpovědní hodnotu mají i data zpracovaná za mnohem kratší interval, což je i žádoucí z hlediska časové efektivity této metody.

Limity provedeného výzkumu spatřuji v menším počtu pozorovaných semen (50 semen) ve třech opakováních, kdy významnější odchylka v klíčení u třech opakování dovede narušit přesnost vypovídající hodnoty výsledků testování. Nicméně kvůli omezenému vybavení i časovým a prostorovým možnostem byl experimentu prováděn na (početně) menším pozorovaném vzorku.

6. ZÁVĚR

Na základě dosažených výsledků je možné prohlásit, že laboratorní metoda klíčení semen řepky v suboptimálních podmínkách prokázala, že pozorované genotypy reagují na stresové podmínky převážně snížením intenzity klíčení.

V jediném případě stresového pokusu došlo k situaci, že genotyp vyklíčil s téměř totožnou intenzitou i ve stejném časovém intervalu jako v kontrolním treatmentu vedeném v optimálních podmínkách. Tímto „šampiónem“ se stal kříženec ČŽLxCAD v teplotním treatmentu, kdy se zkoumal vliv vysokých teplot na klíčení semen. Také v dalších treatmentech se potvrdila relativně vysoká odolnost tohoto genetického materiálu, což je pravděpodobně spojeno s heterózním efektem křížení, kdy hybrid získává kvalitní vlastnosti od rodičovských genetických materiálů. Tyto výsledky nasvědčují, že v případě ČŽLxCAD by mohlo jít o plastický genotyp, s převážně vyrovnanou reakcí - bez výraznějších výkyvů – na většinu prováděných stresových pokusů.

Výkonná francouzská odrůda Cadeli projevila nejvyšší odolnost, v porovnání s dalšími dvěma genotypy, zejména v nejvyšších koncentracích osmotických prostředí (imitace sucha a zasolení), nicméně na při vysokých teplotách klíčila nejhůře ze všech sledovaných komponent, a to jak z hlediska intenzity a opožděného nástupu klíčení, tak na základě výsledků celkové klíčivosti. Překvapivým momentem byla větší intenzita i rychlost klíčení ve střední 18% koncentraci PEG (imitující sucho), kde projevila nejvyšší odolnost ze všech tří genotypů versus nejslabší hodnoty zmíněných parametrů v nižší 15% koncentraci PEG. Tuto skutečnost by bylo potřeba ověřit na větším množství semen, aby se potvrdilo, zda je to obecná tendence této odrůdy nebo například chyba v testování.

Citlivý čínský materiál ČŽL vykázal ve středních a vysokých koncentracích osmotických stresů (sucho, zasolení) snížení sledovaných indexů a zejména v nejvyšších osmotických koncentracích PEGu a soli dopadl nejhůře ze sledovaných genotypů. Nicméně v nejnižších osmotických koncentracích a při teplotních stresech (zejména při

vysoké teplotě) dokonce intenzitou klíčení předčil odrůdu Cadeli, avšak nikdy nepřekonal svého hybridního potomka.

Testy klíčivosti v stresových podmínkách jsou obecně doporučovány pro selekci odrůd. V této bakalářské práci se na základě této metody projevila rozdílnost i mezi úzce příbuznými materiály. V souvislosti s klimatickými změnami (zmiňované v první části bakalářské práce) a naléhavější potřebou odhalit šlechtitelské materiály odolné vůči větší míře se tato metoda stává velmi aktuální. Pro budoucí screening genotypů bych navrhovala využití kombinace stresorů (např. zasolení a teplotní stres nebo osmotický a teplotní stres) pro reálnější simulaci stresového prostředí a zajištění komplexnějších výsledků z hlediska odolnosti odrůd.

POUŽITÁ LITERATURA

ACCRETe 2007: Agriculture and Climate Change in Europe: Regional Facts and Challenges. University of Rostock, Germany, 82 s.

Ashkan A. & Jalal M. 2013: Effect of salinity Stress on seed germination and seedling vigor indices of two Halophytic Plant Species (*Agropyronelongatum* and *A. pectiniforme*). In International Journal of Agriculture and Crop Sciences: 2669 – 2676, ISSN 2227 – 670X, [online] Citace 4. 2. 2015. Dostupné na: <http://ijagcs.com/wp-content/uploads/2013/09/2669-2676.pdf>

Azharudheen T. P. M. Yadava D. K. Singh N. Vasudev S. Singh R. Prabhu K. V. 2013: A Study on the Thermo-tolerance at Germination and Seedling Stage in Indian Mustard [*Brassica Juncea* (L.) Czern & Coss]. International Journal of Agriculture and Food Science Technology, Volume 4, Number 6: 589-594, ISSN 2249-3050

Baranyk P. Kazda J. Škeřík J. Volf M. et al. 2005: Řepka olejka v českém zemědělství: komplexní pěstitelská technologie. Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, Praha, 161 s. ISBN 80-903464-3-X

Bláha L. & Pazderů K. 2011: Poznámky z konferencí ESA a ISTA z hlediska semenářského výzkumu. Osivo a sadba: 214 – 218.

Bláha L. 2011: Znaky adaptability k podmínkám stresu u zemědělských rostlin. In Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu: 726 – 735, ISSN 0139 – 6013.

Bláha L. & Vyvadilová M. 2012: Metodika testování vlastností semen a klíčnicích rostlin na odolnost vůči fyzikálním stresorům pro selekci genetických zdrojů řepky ozimé. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, ISBN 978-80-7427-130-4

Bláha L. Kadlec P. Skulinová M. Hnilička F. 2002: Vliv abiotických stresorů na chemické složení obilok pšenice. In Vliv abiotických a biotických stresů na vlastnosti rostlin 2002: 23 – 26, Praha, ISBN 80-213-0949-0.

Bláha L. 2012: Zamyšlení nad současným stavem výzkumu aplikované fyziologie rostlin In: Vybrané kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výzkumu: 6-12. VÚRV, Praha, ISBN: 978-80-7427-087-1.

Čvančara F. 1962: Zemědělská výroba v číslech. 1. díl, SZN, Praha

Falloon P. & Betts R. 2009: Climate impacts on European agriculture and water management in the context of adaptation and mitigation – The importance of an integrated approach. Science of the Total Environment 408: 5667 – 5687.

Gupta S. K. (ed.) 2009: Biology and Breeding of Crucifers. CRC Press, 385 p. ISBN 978-1-4200-8608-9.

Holubec V. & Štolcová J. 2002: Stres a adaptace rostlin v přírodních ekosystémech. In: Vliv abiotických a biotických stresů na vlastnosti rostlin 2002: 13 – 22, Praha, ISBN 80-213-0949-0.

IPCC 2014: Summary for Policymakers, In: Climate Change 2014, Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R. K. Pachauri and L.

A. Meyer (eds.)). IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp., ISBN: 80-86555-20-8

Jamil M. Lee C. C. Rehman S. U. Lee D. B. Ashraf M. Rha E. S. 2005: Salinity (NaCl) tolerance of brassica species at germination and early seedling growth. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry: 970-976, ISSN 1579-4377 [online] citace 11. 4. 2016 dostupné na https://www.researchgate.net/publication/237844782_Salinity_NaCl_Tolerance_of_Brassica_Species_at_Germination_and_Early_Seedling_Growth

Kang Y. Khan S. Ma X. 2009: Climate change impacts on crop yield, crop water produktivity and food security. Progress in Natural Science 19: 1665 – 1674.

Klíma M. & Koprna R. 2008: Novinky ve šlechtění řepky olejky. Zemědělský týdeník 11: 4 – 7.

ISTA 2011: International Rules for Seed Testing – Edition 2011, Germany. ISBN-13978-3-906549-63-7

Kranner I. Minibayeva F. V. Beckett R. P. Seal C. E. 2010: What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. New Phytologist 188: 655 – 673.

Kubát K. (ed.) 2002: Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha, 927 s. ISBN 80-200-0836-5.

Kuchtová P. Nerad D. Škekř J. Kazda J. Káš M. Mičák L. Baranyk P. 2008: Možnosti intenzifikace v ekologické pěstitecké technologii ozimé řepky. Prosperující olejny 2008 Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN 978-80-213-1860-1.

Luštinec J. & Žárský V. 2003: Úvod do fyziologie vyšších rostlin. Nakladatelství Karolinum, Praha, 261 s. ISBN 80-246-0563-5.

Makowski N. & Röhl W. 2013: Reakce řepky na začínající klimatické změny. Prosperující olejny 2013: 10 – 12. Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN 978-80-213-2420-6.

Masarovičová E. Malovcová Ľ. Sekerková M. Babulicová M. 2004: Charakteristika repky olejky z hradiska pestovateľských a klimatických podmienok, In Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví, VÚRV, v.v.i., Praha, ISBN 978-80-7427-153-3, s. 71 – 99

Míka V. 2002: Morfogeneze trav. VÚRV, Praha, ISBN: 80-86555-20-8.

Národní program na zmírnění dopadů změny klimatu na ČR. 2014. [online] Dostupné na: http://www.mzp.cz/cz/narodni_program_zmirneni_dopadu. Citováno: 8. 6. 2015

Pavlová L. 2005: Fyziologie rostlin, Nakladatelství Karolinum, 253 stran, ISBN 80-246-0985-1, Vydala univerzita Karlova v Praze

Pazdera J. 2004: Předsetové úpravy osiv zelenin pro zvýšení jejich kvality. [online] Citace 1. 4. 2016. Dostupné na: <http://zahradaweb.cz/predsetove-upravy-osiv-zelenin-pro-zvyseni-jejich-kvality/>

Pazderů K. & Visingerová D. 2009: Klíčivost a vitalita osiva aster. [online] Citace 15. 6. 2015. Dostupné na <http://zahradaweb.cz/klicivost-a-vitalita-osiva-aster/>

Penk J. 2001: Mimoprodukční funkce zemědělství a ochrana krajiny. Institut výchovy a vzdělání MZČR, Praha, 64s. ISBN80-7105-224-8.

Potyšová H. nedatováno: Vyhodnocení zkoušky klíčivosti. [online] Citace 20. 4. 2016

http://eagri.cz/public/web/file/216379/Vyhodnoceni_zkousky_klicivosti.pdf

Pretel J. Metelka L. Novický O. Daňhelka J. Rožnovský J. Janouš D. 2011: Zpřesnění dosavadních odhadů dopadů klimatické změny v sektorech vodního hospodářství, zemědělství a lesnictví a návrhy adaptačních opatření (Technické shrnutí výsledků řešení projektu VaV SP/1a6/108/07 v letech 2007–2011). Český hydrometeorologický ústav, Praha

Procházka S. Macháčková I. Krekule J. Šebánek J. et al. 1998: Fyziologie rostlin. Academia, Praha, 484 s. ISBN 80-200-0586-2.

Shahverdikandi M. A. Tobeh A. Godehkahriz S. J. Rastegar Z. 2011: The study of germination index of canola cultivars for drought resistance. International journal of Agronomy and Plant Production. Vol., 2 (3): 89-95, ISSN 2051-1914.

Šerá B. 2014: Klíčivost semen jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech, In Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, ISBN 978-80-7427-153-3, s. 9 – 17.

Štranc J. Štranc P. Štranc D. 2005: Klíčení řepky ozimé. Agro 10: 54 – 55

Tirado M. C. Clarke R. Jaykus L. A. McQuatters – Gollop A. Frank J. M. 2010: Climate change and food safety. Food Research International 43: 1745 – 1765.

Toosi A. F. Bakar B. B. Azizi M 2014: Effect of drough stress by using PEG 6000 on germination and early seedling growth of *Brassica juncea* Var. Ensabi. Scientific Papers. Series A. Agronomy, Vol. LVII: 360-363, SSN 2285-5785

Trnka Z. 2004: Metodika zkoušení osiva a sadby, Ministerstvo zemědělství, odbor rostlinných komodit, Praha, Čj.:34349/04 – 17220

Vašák J. et al. 2000: Řepka. Agrospoj, Praha

Vyvadilová M. & Klíma M. 2012: Současné cíle a metody ve šlechtění řepky olejky. In: Vybrané kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výzkumu. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 146 - 159. ISBN 978-80-7427-087-1.

Vyvadilová M. Klíma M. Kučera V. Prášilová P. Prášil I. Koprna R. 2007: Šlechtění řepky ozimé na toleranci ke stresovým faktorům vnějšího prostředí. Systém výroby řepky, Systém výroby slunečnice: 127-133

Žalud Z. (ed.) 2009: Změna klimatu a české zemědělství – dopady a adaptace. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 154 s. ISBN 978-80-7375-369-6.

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Obecný popis použitých genetických zdrojů	26
Tabulka 2 Hodnocení hospodářských znaků použitých materiálů a hybridů	35
Tabulka 3 Hodnocení kvality hybridů a rodičovských komponent metodou NIRS	36

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Brassica napus L. - znázornění morfologie rostliny.....	8
Obrázek 2 Ukázka naklíčených semen hybridu ČŽLxCAD v 150 mM NaCl	13
Obrázek 3 Průměrná klíčivost jednotlivých genotypů v různých variantách kultivace k 21. dni	38
Obrázek 4 Energie klíčení (GE) pro jednotlivé genotypy po 48 hodinách.....	39
Obrázek 5 Energie klíčení (GE) pro jednotlivé genotypy po 72 hodinách.....	40
Obrázek 6 Relativní rychlost klíčení (RSG) pro jednotlivé genotypy po 72 hodinách	40
Obrázek 7 index klíčivosti (GI) u jednotlivých genotypů napříč treatmenty.....	41
Obrázek 8 Hodnoty indexu CVG jednotlivých genotypů napříč treatmenty.....	42

SEZNAM ZKRATEK

ACCRETe	Agricultural and Climate Changes: How to Reduce Human Effects and Threats
CVG	coefficient of velocity of germination – koeficient rychlosti klíčení
GE	germination energy – energie klíčení
GI	germination index – index klíčení
GSL	glukosinoláty
HSP	Heat Shock Protein – proteiny teplotního šoku
HTS	hmotnost tisíce semen
ISTA	International Seed Testing Association - Mezinárodní asociace testování semen
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change - Mezivládní panel klimatické změny
mM	milimol
NIRS	Near-infrared spectroscopy – Blízká infračervená spektroskopie
PEG	polyethylenglykol
RSG	relativní rychlost klíčení ve stresu, vztažená ke kontrolám
SG	speed of germination - rychlost klíčení, klíčivost
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
VÚRV	Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha - Ruzyn

PŘÍLOHY

PŘÍLOHA 1

Počty vyklíčených semen v kontrolním vzorku

PŘÍLOHA 2

Počty vyklíčených semen v roztoku NaCl o koncentraci 150, 200 a 250 %

PŘÍLOHA 3

Počty vyklíčených semen v roztoku PEG 4000 o koncentraci 15, 18 a 22 %

PŘÍLOHA 4

Počty vyklíčených semen ve vysoké (41 °C) a nízké (5 °C) teplotě

PŘÍLOHA 5

Energie klíčení pro 5. den a Celková klíčivost k 7. dni

PŘÍLOHA 6

Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení ve třech koncentracích NaCl.

PŘÍLOHA 7

Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení v třech koncentracích PEG

PŘÍLOHA 8

Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení u dvou teplotních stresů

PŘÍLOHA 9

Termostatický box

PŘÍLOHA 1

Počty vyklíčených semen v kontrolním vzorku

CADELI	KONTROLA		
den	1	2	3
0	z	z	z
1	0	0	0
2	47	45	45
3	1	4	3
4	1	x	x
5	x	x	x
6	x	x	x
7	x	x	x
8	x	x	x
9	x	x	x
10	x	x	x
11	x	x	x
12	x	x	x
13	x	x	x
14	x	x	x
15	x	x	x
16	x	x	x
17	x	x	x
18	x	x	x
19	x	x	x
20	x	x	x
21	x	x	x
Suma	49	49	48
Zbylo	1	1	2

ČZL	KONTROLA		
den	1	2	3
0	z	z	z
1	0	1	0
2	50	48	50
3	x	1	x
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0
21	0	0	0
Suma	50	50	50
Zbylo	0	0	0

ČZLxCAD	KONTROLA		
den	1	2	3
0	z	z	z
1	0	0	0
2	47	50	50
3	2	0	0
4	x	0	0
5	x	0	0
6	x	0	0
7	x	0	0
8	x	0	0
9	x	0	0
10	x	0	0
11	x	0	0
12	x	0	0
13	x	0	0
14	x	0	0
15	x	0	0
16	x	0	0
17	x	0	0
18	x	0	0
19	x	0	0
20	x	0	0
21	x	0	0
Suma	49	50	50
Zbylo	1	0	0

PŘÍLOHA 2

Počty vyklíčených semen v roztoku NaCl o koncentraci 150, 200 a 250 mM

CADELI	NaCl									ČŽL 20/1	NaCl									ČŽLxCAD	NaCl								
	150 mM			200 mM			250 mM				den	150 mM			200 mM			250 mM			den	150 mM			200 mM			250 mM	
den	1	2	3	1	2	3	1	2	3	den		1	2	3	1	2	3	1	2	3		den	1	2	3	1	2	3	1
0	z	z	z	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z	z	z	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	9	22	22	8	11	4	0	2	0	2	25	29	32	6	9	10	0	0	0	2	46	40	44	28	20	23	0	0	0
3	33	25	23	25	27	24	12	6	8	3	18	18	17	10	15	10	5	0	0	3	2	1	2	14	20	19	14	18	16
4	8	3	4	10	11	20	28	16	27	4	3	2	1	9	10	7	1	2	1	4	0	2	0	2	4	5	12	20	20
5	x	x	0	4	0	0	2	9	6	5	2	0	x	4	5	19	2	2	0	5	0	1	1	0	2	1	4	3	2
6	x	x	0	0	0	2	4	8	3	6	1	1	x	7	2	2	3	7	2	6	0	0	0	3	0	0	4	0	0
7	x	x	0	0	0	x	0	2	2	7	0	x	x	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	x	x	0	0	0	x	2	1	1	8	0	x	x	5	0	2	12	9	10	8	0	1	0	0	1	0	3	4	3
9	x	x	0	0	0	x	1	0	0	9	0	x	x	3	2	x	4	3	6	9	0	0	0	0	0	0	2	1	2
10	x	x	1	0	0	x	0	0	2	10	0	x	x	3	1	x	6	2	5	10	x	0	0	0	0	0	1	2	1
11	x	x	x	0	0	x	0	0	0	11	0	x	x	1	1	x	0	5	3	11	x	0	0	1	0	0	1	1	1
12	x	x	x	0	0	x	1	1	0	12	0	x	x	0	0	x	2	3	4	12	x	0	0	0	0	0	3	0	3
13	x	x	x	1	0	x	x	1	0	13	0	x	x	0	0	x	0	1	1	13	x	0	0	0	0	0	0	1	0
14	x	x	x	0	0	x	x	1	1	14	0	x	x	0	1	x	1	1	2	14	x	0	0	0	0	0	1	0	1
15	x	x	x	0	0	x	x	0	x	15	0	x	x	1	1	x	2	2	0	15	x	0	0	0	0	1	0	0	0
16	x	x	x	0	0	x	x	0	x	16	0	x	x	0	0	x	2	0	2	16	x	0	0	0	0	0	0	0	0
17	x	x	x	0	0	x	x	0	x	17	0	x	x	0	0	x	3	2	1	17	x	0	0	0	0	0	0	0	0
18	x	x	x	0	0	x	x	0	x	18	0	x	x	1	0	x	1	0	1	18	x	0	0	0	0	0	0	0	0
19	x	x	x	0	0	x	x	0	x	19	0	x	x	0	1	x	0	1	0	19	x	0	0	0	0	0	0	0	0
20	x	x	x	0	0	x	x	0	x	20	0	x	x	0	1	x	0	1	1	20	x	0	0	0	0	0	1	0	1
21	x	x	x	0	0	x	x	0	x	21	0	x	x	0	0	x	0	0	0	21	x	0	0	0	0	0	0	0	0
Suma	50	50	50	48	49	50	50	47	50	Suma	49	50	50	50	49	50	44	41	39	Suma	48	45	47	48	47	49	46	50	50
Zbylo	0	0	0	2	1	0	0	3	0	Zbylo	1	0	0	0	1	0	6	9	11	Zbylo	0	5	1	2	3	1	2	0	0

PŘÍLOHA 3

Počty vyklíčených semen v roztoku PEG 4000 o koncentraci 15, 18 a 22 %

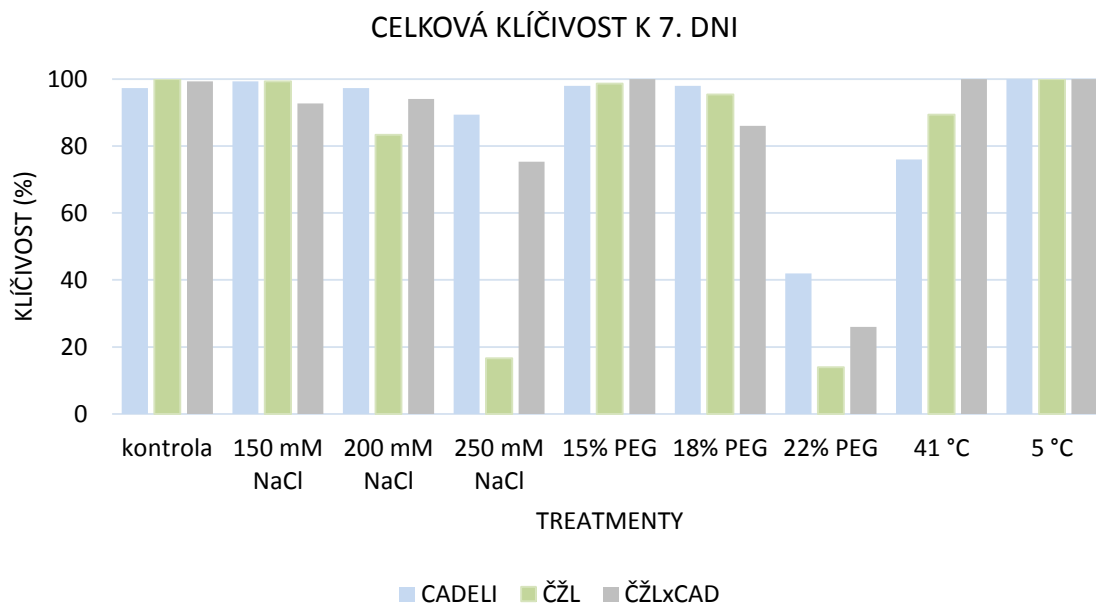
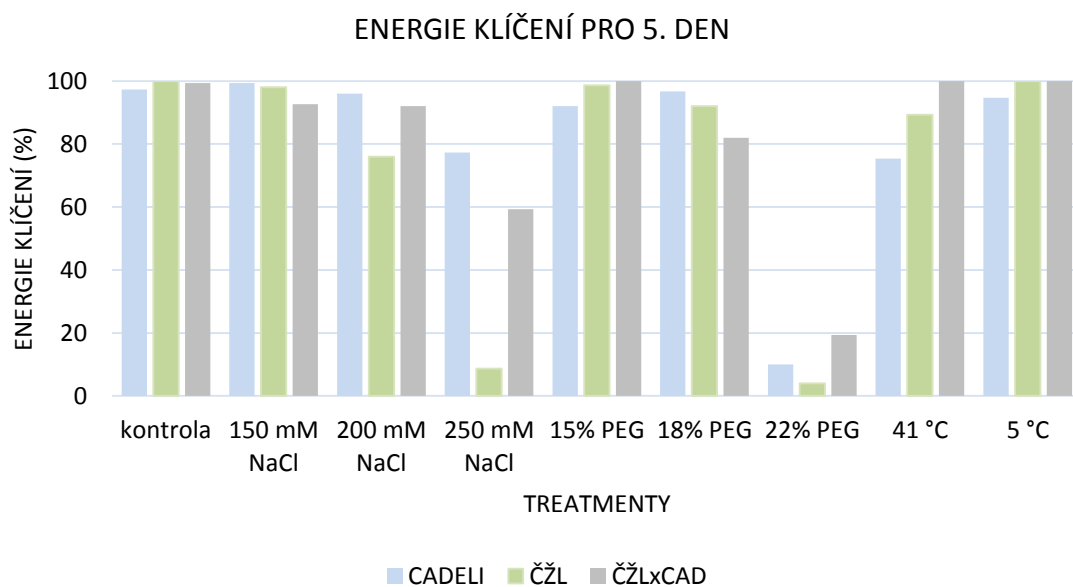
CADELI	PEG 4000									ČŽL 20/1	PEG 4000									ČŽLxCAD	PEG 4000								
	15%			18%			22%				15%			18%			22%				15%			18%			22%		
den	1	2	3	1	2	3	1	2	3	den	1	2	3	1	2	3	1	2	3	den	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	z	z	z	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z	z	z	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	35	38	30	0	5	1	0	0	0	2	39	49	44	5	8	3	0	0	0
3	17	18	16	44	41	33	0	0	0	3	13	11	19	28	26	26	0	0	0	3	11	1	6	34	26	23	0	2	1
4	22	24	21	4	5	11	0	2	1	4	0	0	1	12	18	15	0	1	1	4	x	x	x	4	5	9	6	6	7
5	8	3	9	2	0	3	5	4	3	5	1	0	x	4	0	3	1	1	2	5	x	x	x	3	1	2	3	2	2
6	1	4	2	x	0	1	7	11	4	6	0	0	x	4	0	0	3	1	2	6	x	x	x	0	3	3	2	5	3
7	1	0	1	x	1	0	8	11	7	7	0	0	x	0	0	1	3	4	2	7	x	x	x	1	3	1	2	6	3
8	0	1	0	x	0	0	10	5	8	8	1	0	x	0	0	0	2	2	1	8	x	x	x	2	0	1	6	3	4
9	0	x	1	x	0	0	0	7	4	9	x	0	x	0	1	1	1	1	1	9	x	x	x	0	0	1	0	2	2
10	0	x	x	x	0	0	4	1	0	10	x	1	x	0	x	0	3	0	4	10	x	x	x	0	1	2	4	2	2
11	1	x	x	x	0	0	0	1	0	11	x	x	x	0	x	0	5	4	6	11	x	x	x	0	0	0	5	3	0
12	x	x	x	x	0	0	0	0	0	12	x	x	x	0	x	1	3	2	1	12	x	x	x	0	0	1	0	1	0
13	x	x	x	x	0	0	2	0	3	13	x	x	x	1	x	0	2	1	2	13	x	x	x	1	1	1	2	1	1
14	x	x	x	x	0	0	1	1	3	14	x	x	x	0	x	0	1	1	2	14	x	x	x	x	0	0	2	1	0
15	x	x	x	x	0	0	0	1	0	15	x	x	x	0	x	0	0	2	2	15	x	x	x	x	1	1	0	1	0
16	x	x	x	x	0	0	1	0	0	16	x	x	x	1	x	1	3	0	0	16	x	x	x	x	1	2	1	1	1
17	x	x	x	x	0	0	1	0	0	17	x	x	x	x	x	0	0	2	0	17	x	x	x	x	x	x	1	1	1
18	x	x	x	x	0	0	0	0	0	18	x	x	x	x	x	0	0	1	0	18	x	x	x	x	x	x	0	0	0
19	x	x	x	x	0	0	0	0	0	19	x	x	x	x	x	0	0	0	0	19	x	x	x	x	x	x	0	1	0
20	x	x	x	x	0	0	0	0	0	20	x	x	x	x	x	0	0	0	0	20	x	x	x	x	x	x	0	0	0
21	x	x	x	x	0	0	0	0	0	21	x	x	x	x	x	0	0	0	0	21	x	x	x	x	x	x	0	0	0
Suma	50	50	50	50	48	49	39	44	33	Suma	50	50	50	50	50	49	27	23	26	Suma	50	50	50	50	50	50	34	38	27
Zbylo	0	0	0	0	2	1	11	6	17	Zbývá	0	0	0	0	0	1	23	27	37	Zbylo	0	0	0	0	0	0	16	12	23

PŘÍLOHA 4

Počty vyklíčených semen ve vysoké (41 °C) a nízké (5 °C) teplotě

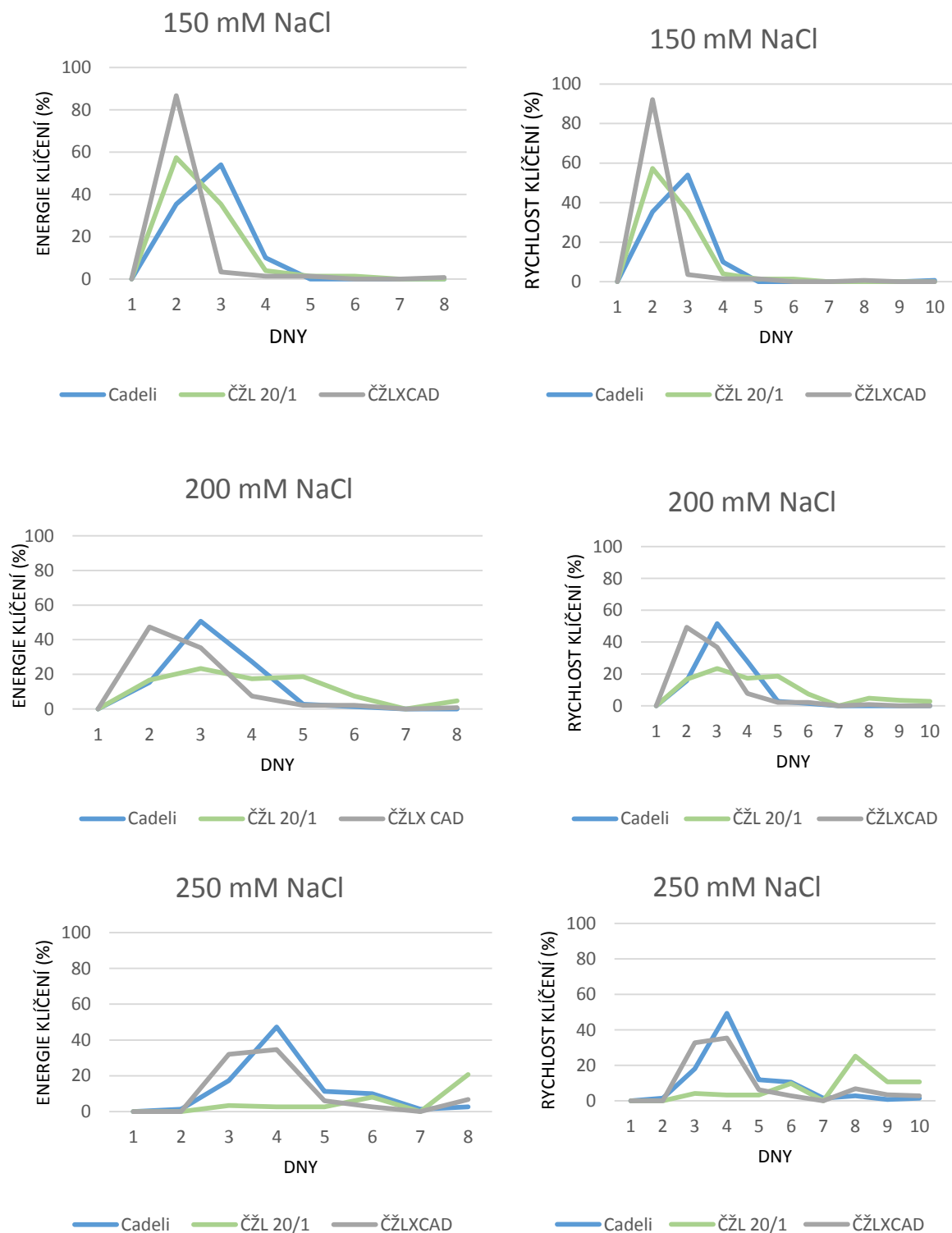
CADELI	Vysoká teplota			Nízká teplota			ČŽL 20/1	Vysoká teplota			Nízká teplota			ČŽLxCAD	Vysoká teplota			Nízká teplota		
	den	1	2	3	1	2		3	den	1	2	3	1		2	3	den	1	2	3
0	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z	0	z	z	z	z	z	z
1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0
2	6	9	8	0	0	0	2	36	42	38	0	0	0	2	50	47	49	0	0	0
3	24	21	24	2	0	0	3	7	3	5	24	16	23	3	x	x	x	21	19	22
4	10	2	4	34	28	28	4	0	1	0	24	28	22	4	x	x	x	29	31	28
5	3	0	2	12	21	17	5	0	0	1	2	6	5	5	x	x	x	x	x	x
6	1	0	0	2	1	5	6	0	0	0	x	x	x	6	x	x	x	x	x	x
7	x	x	x	0	0	0	7	x	x	x	x	x	x	7	x	x	x	x	x	x
8	x	x	x	0	0	0	8	x	x	x	x	x	x	8	x	x	x	x	x	x
9	x	x	x	0	0	0	9	x	x	x	x	x	x	9	x	x	x	x	x	x
10	x	x	x	0	0	0	10	x	x	x	x	x	x	10	x	x	x	x	x	x
11	x	x	x	0	0	0	11	x	x	x	x	x	x	11	x	x	x	x	x	x
12	x	x	x	0	0	0	12	x	x	x	x	x	x	12	x	x	x	x	x	x
13	x	x	x	0	0	0	13	x	x	x	x	x	x	13	x	x	x	x	x	x
14	x	x	x	0	0	0	14	x	x	x	x	x	x	14	x	x	x	x	x	x
15	x	x	x	0	0	0	15	x	x	x	x	x	x	15	x	x	x	x	x	x
16	x	x	x	0	0	0	16	x	x	x	x	x	x	16	x	x	x	x	x	x
17	x	x	x	0	0	0	17	x	x	x	x	x	x	17	x	x	x	x	x	x
18	x	x	x	0	0	0	18	x	x	x	x	x	x	18	x	x	x	x	x	x
19	x	x	x	0	0	0	19	x	x	x	x	x	x	19	x	x	x	x	x	x
20	x	x	x	0	0	0	20	x	x	x	x	x	x	20	x	x	x	x	x	x
21	x	x	x	0	0	0	21	x	x	x	x	x	x	21	x	x	x	x	x	x
Suma	44	32	38	50	50	50	Suma	43	47	44	50	50	50	Suma	50	50	50	50	50	50
Zbylo	6	18	12	0	0	0	Zbylo	7	3	6	0	0	0	Zbylo	0	0	0	0	0	0

PŘÍLOHA 5



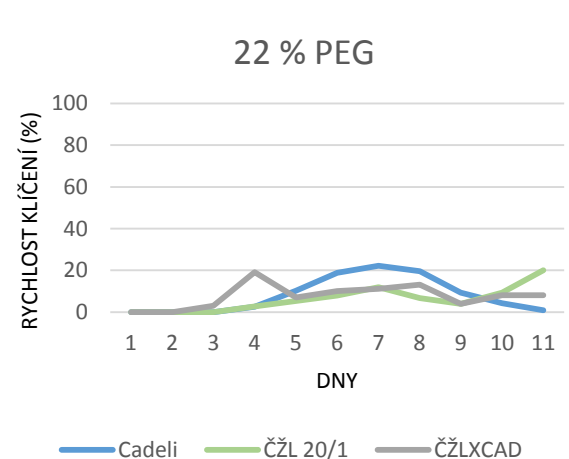
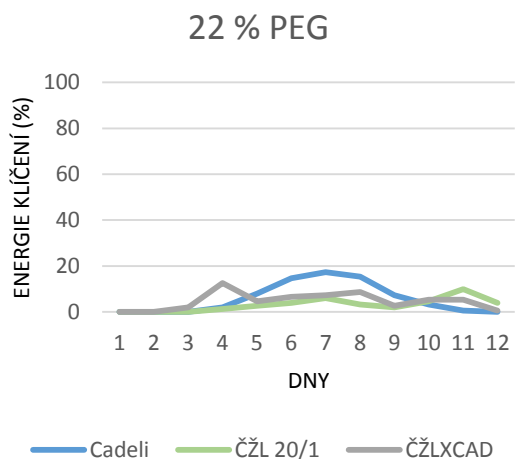
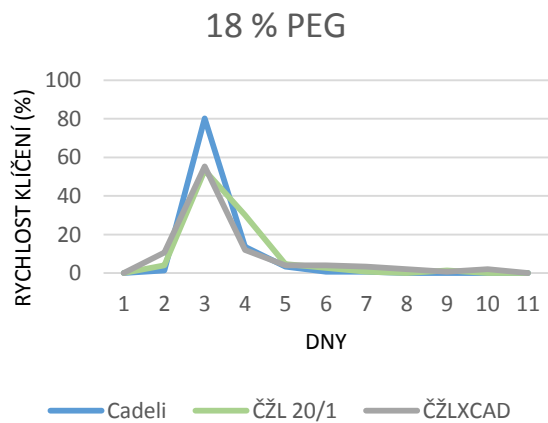
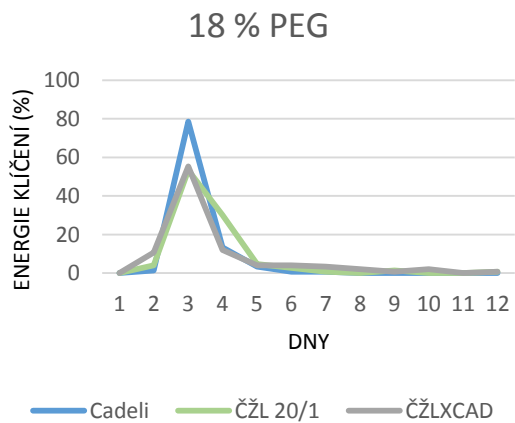
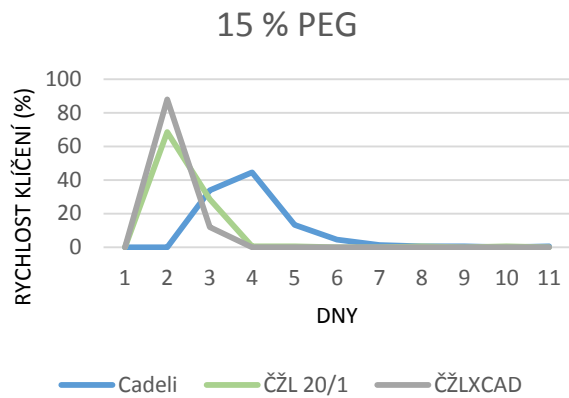
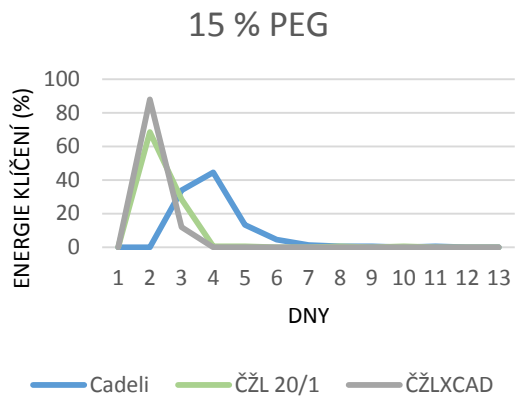
Energie klíčení pro 5. den a Celková klíčivost k 7. dni 5. A 7. Den pro výpočet indexů EG a SG zvoleny podle ISTA (2001). Porovnáváme všechny tři sledované genotypy

PŘÍLOHA 6



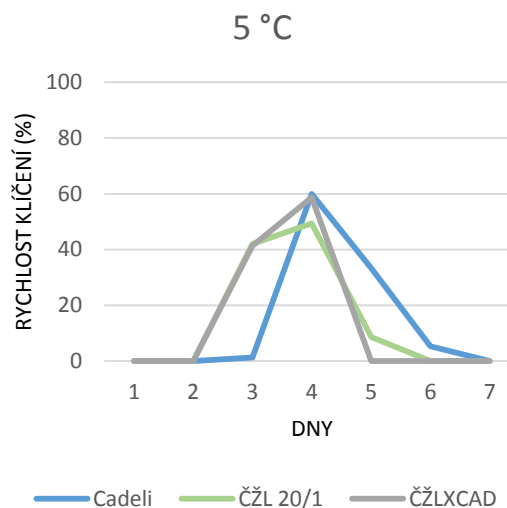
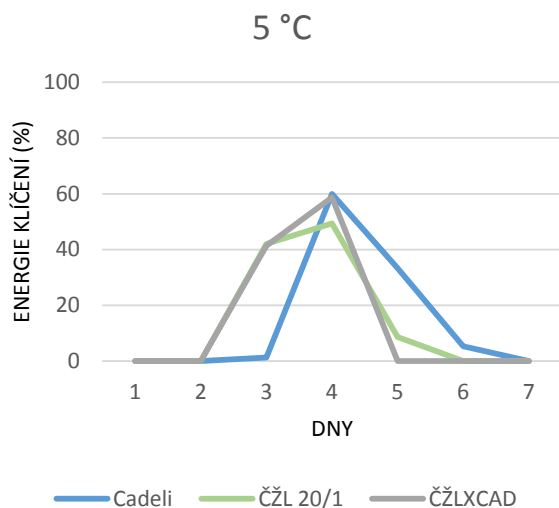
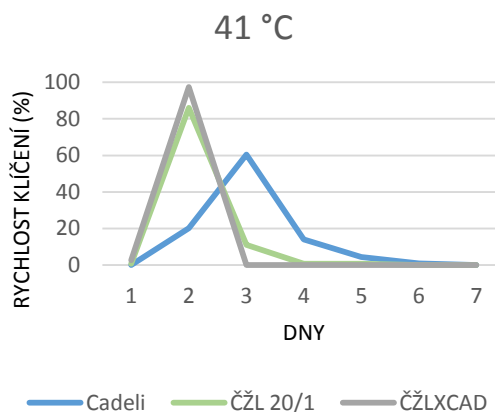
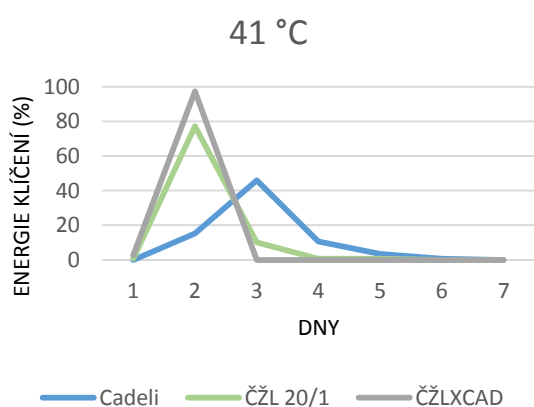
Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení ve třech koncentracích NaCl. Indexy byly počítány v průběhu počátečních dnů pokusu u všech sledovaných genotypů při koncentracích 150, 200 a 250 mM NaCl.

PŘÍLOHA 7



Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení v třech koncentracích PEG Indexy byly počítány v průběhu počátečních dnů pokusu u všech sledovaných genotypů při koncentracích 15, 18 a 22 % roztoku PEG 4000.

PŘÍLOHA 8



Průběh Energie klíčení a Rychlosti klíčení u dvou teplotních stresů. Indexy byly počítány v průběhu počátečních dnů pokusu u všech sledovaných genotypů. Stres vysokou teplotou. Stresor vysoké teploty probíhal v režimu 41 °C/20 °C. Stresor nízké teploty při 5 °C/20 °C.

PŘÍLOHA 9



Termostatický box

ANOTACE

Jméno a příjmení: Bc. Eva Jurníčková

Katedra nebo ústav: Katedra pedagogiky, UP

Vedoucí práce: RNDr. Olga Vránová, PhD.

Rok obhajoby: 2016

Název práce: Vliv vybraných abiotických stresorů na klíčení semen řepky olejky (*Brassica napus* L.)

Název v angličtině: The influence of abiotic stress treatments on rapeseed germination (*Brassica napus* L.)

Anotace práce: Tato bakalářská práce se zabývá vlivem abiotických stresorů na genotypy řepky olejky v době klíčení. Větší tolerance ke stresu ve fázi klíčení svědčí o odolnosti rostlinného organismu i v dalších fázích růstu. Adaptabilní genotypy získávají velký význam v podmínkách větší variability počasí a změny klimatu. Různé indexy klíčení jsou jednou z možností jak sledovat vitalitu a odolnost semen. V práci jsme prokázali, že tyto laboratorní metody jsou schopné postihnout jemné rozdíly mezi zvolenými genotypy řepky olejky.

Klíčová slova: Řepka olejka, klimatická změna, plasticita, klíčivost, vitalita semen, indexy klíčení, abiotické stresory

Anotace v angličtině: This bachelor thesis deals with an abiotic stress impact on oilseed rape genotypes while germinating. A plant organism more tolerant to abiotic stress during the germination is supposed to be more resistant in subsequent vegetative phases. Genotypes with high adaptability is getting to be more important in the term of current climate change. We use several indices to study germination to observe the seed viability and seed tolerance to stress conditions. It has been proved the efficacy of these indices to capture slight nuance between selected genotypes.

Klíčová slova v angličtině: oilseed rape, climatic change, genotype plasticity, germination ability, viability, germination indices, abiotic stress

Přílohy vázané v práci: ano, 9 stran

Rozsah práce: 54 stran

Jazyk práce: česky