

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

# **Význam kryokonzervace semen pro jejich klíčivost na příkladu terestrických a vodních rostlin**

Diplomová práce

Autor: Bc. Ivona Špringrová  
Studijní program: N1501 Biologie  
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie  
Vedoucí práce: RNDr. Romana Prausová, Ph.D.



## Zadání diplomové práce

**Autor:** Bc. Ivona Špringrová

**Studium:** S16BI017NP

**Studijní program:** N1501 Biologie

**Studijní obor:** Systematická biologie a ekologie

**Název diplomové práce:** **Význam kryokonzervace semen pro jejich klíčivost na příkladu terestrických a vodních rostlin**

**Název diplomové práce AJ:** The importance of seed cryopreservation for seeds germination on the examples of terrestrial and aquatic plants

### Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Diplomová práce se zabývá studiem významu zamrazení semen terestrických a vodních rostlin pro uchování schopnosti klíčivosti a snížení nebezpečí kontaminace při jejich kultivaci v laboratorních podmínkách. Současné studie dokládají význam včasného a správného uložení semen nebo plodů cévnatých rostlin pro jejich následné úspěšné klíčení. Významné zpomalení fyziologických procesů v semenech a plodech udržuje vyšší vitalitu a oddaluje ztrátu schopnosti klíčení. Ke kryokonzervaci se používají různé metody zmrazení při teplotách  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-80^{\circ}\text{C}$  nebo v tekutém dusíku při teplotě  $-180^{\circ}\text{C}$  (které se nejčastěji používá při manipulaci s biologickým materiálem v nestabilních teplotních podmínkách). Diplomová práce je zaměřena na testování vlivu kryokonzervace u 1 druhu terestrické rostliny ? zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*) a 2 druhů vodních rostlin ? autotrofního rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*) a mixotrofní bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*) na jejich klíčení. U všech těchto druhů jsou již na základě testů klíčivosti známy nejúspěšnější metody přerušování dormance jejich semen a vhodné způsoby kultivace. Ty budou použity v kombinaci se dvěma způsoby uložení semen (při teplotě místnosti  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ , kryokonzervací při teplotě  $-80^{\circ}\text{C}$ ). Cílem práce je ověřit, zda kryokonzervace zvýší klíčivost semen těchto rostlin a zda bude se stejnou účinností fungovat u terestrických i vodních rostlin (s odlišnou trofí - autotrofie, mixotrofie). Klíčová slova: *Adenophora liliifolia*, kryokonzervace, *Potamogeton praelongus*, *Utricularia vulgaris*

The importance of seed cryopreservation for seeds germination on the examples of terrestrial and aquatic plants This Master thesis studies an importance of freezing of seeds for germination of seeds at terrestrial and aquatic plants, mainly for preservation of their ability to germinate and for decreasing a risk of contamination during their cultivation under laboratory conditions. Recent studies show the importance of timely and correct storage of seeds or fruits at vascular plants for their subsequent successful germination. Significant decreasing of physiological processes in the seeds and fruits is important for maintaining a higher vitality and delay the loss of germination. There are used various methods for cryopreservation, e. g. 1) freezing at  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-80^{\circ}\text{C}$  or 2) liquid nitrogen at  $-180^{\circ}\text{C}$ , which is most often used at manipulation with biological material in unstable thermal conditions. The thesis is focused on a testing the effect of cryopreservation on a germination of three species - one terrestrial species plants - *Adenophora liliifolia* and two aquatic species plants - autotrophic *Potamogeton praelongus* and mixotrophic *Utricularia vulgaris*. There are known successful germination test methods breaking dormancy of seeds and appropriate culture methods at all these species. They will be used in combination with two ways of storage the seeds (at room temperature  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ , cryopreservation at  $-80^{\circ}\text{C}$ ). The aim of this thesis is to verify whether the cryopreservation increases the germination of the seeds of these species plants and whether it will work on the same principle at terrestrial and aquatic plants (with a different trophic - autotrophy, mixotrophy etc.). Keywords: *Adenophora liliifolia*, cryopreservation, *Potamogeton praelongus*, *Utricularia vulgaris*

BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. San Diego: CA: Academic Press, 1998. ISBN 0120802600 BASKIN, C.C., BASKIN, J.M. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research. 2004, č. 14, s. 1716. ISSN 0960-2585 BASKIN, J.M., BASKIN C.C. Germination ecophysiology of an eastern deciduous forest herb *Stylophorum diphyllum*. The American Midland Naturalist Journal. 1984, č. 111, s. 390-399. ISSN 1938-4238 BASKIN, J.M., BASKIN, C.C. Germination ecophysiology of seeds of the winter annual *Chaerophyllum tainturieri* ? A new type of morphophysiological dormancy. Journal of Ecology. 1990, č. 78, s. 993-1004. ISSN 1365-2745 PRAUSOVÁ, R. et al. Testing achene germination of *Potamogeton praelongus* Wulfen. Cent. Eur. J. Biol. 2013, 8 (1), 78-86. PRAUSOVÁ, R. et al. Generative reproduction of long stalked pondweed (*Potamogeton praelongus* Wulfen) in the laboratory. Aquatic Botany. 2014, č. 120, s. 268-274. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2014.09.005>

**Garantující pracoviště:** Katedra biologie, Přírodovědecká fakulta

**Vedoucí práce:** RNDr. Romana Prausová, Ph.D.

**Oponent:** doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.

**Datum zadání závěrečné práce:** 6.1.2018

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Jméno a příjmení

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat své vedoucí diplomové práce RNDr. Romaně Prausové, Ph.D. za odborné vedení, věnovaný čas, za pomoc a rady při zpracování této práce. Dále děkuji Mgr. L. Šafářové, Ph.D. za statistické zpracování výsledků testů klíčivosti.

## **Anotace**

ŠPRINGROVÁ I. *Význam kryokonzervace semen pro jejich klíčivost na příkladu terestrických a vodních rostlin*. Hradec Králové, 2018. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 75 s.

Diplomová práce se zabývá studiem významu zamrazení semen terestrických a vodních rostlin pro uchování schopnosti klíčivosti a snížení nebezpečí kontaminace při jejich kultivaci v laboratorních podmínkách. Současné studie dokládají význam včasného a správného uložení semen nebo plodů cévnatých rostlin pro jejich následné úspěšné klíčení. Významné zpomalení fyziologických procesů v semenech a plodech udržuje vyšší vitalitu a oddaluje ztrátu schopnosti klíčení. Ke kryokonzervaci se používají různé metody zmrazení při teplotách -20 °C, -80 °C nebo v tekutém dusíku při teplotě -180 °C (které se nejčastěji používá při manipulaci s biologickým materiálem v nestabilních teplotních podmínkách).

Diplomová práce je zaměřena na testování vlivu kryokonzervace u 1 druhu terestrické rostliny – zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*) a 2 druhů vodních rostlin – autotrofního rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*) a mixotrofní bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*) na jejich klíčení. U všech těchto druhů jsou již na základě testů klíčivosti známy nejúspěšnější metody přerušování dormance jejich semen a způsoby kultivace. Ty budou použity v kombinaci se dvěma způsoby uložení semen (při teplotě místnosti 21±1°C, kryokonzervací při teplotě -80 °C). Cílem práce je ověřit, zda kryokonzervace zvýší klíčivost semen těchto rostlin a zda bude se stejnou účinností fungovat u terestrických i vodních rostlin (s odlišnou trofii – autotrofie, mixotrofie).

**Klíčová slova:** *Adenophora liliifolia*, kryokonzervace, *Potamogeton praelongus*, *Utricularia vulgaris*

## **Annotation**

ŠPRINGROVÁ I. *Impact of cryopreservation of seeds on germination of terrestrial and aquatic plants*. Hradec Králové, 2018. Diploma Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové, Thesis Supervisor RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 75 pp.

This Master thesis studies an importance of freezing of seeds for germination of terrestrial and aquatic plants seeds, mainly for preservation of their ability to germinate and for decreasing a risk of contamination during their cultivation under laboratory conditions. Recent studies show the importance of timely and correct storage of seeds or fruits at vascular plants for their subsequent successful germination. Significant decreasing of physiological processes in the seeds and fruits is important for maintaining a higher vitality and delay the loss of germination. There are used various methods for cryopreservation, e. g. 1) freezing at -20 °C, -80 °C or 2) liquid nitrogen at -180 °C, which is most often used at manipulation with biological material in unstable thermal conditions. The thesis is focused on a testing the effect of cryopreservation on a germination of three species - one terrestrial species plants - *Adenophora liliifolia* and two aquatic species plants - autotrophic *Potamogeton praelongus* and mixotrophic *Utricularia vulgaris*.

There are known successful germination test methods breaking dormancy of seeds and appropriate methods of cultivation at all these species. They will be used in combination with two ways of storage the seeds (at room temperature  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , cryopreservation at -80 °C). The aim of this thesis is to verify whether the cryopreservation increases the germination of the seeds of these species plants and whether it works on the same princip at terrestrial and aquatic plants (with a different trophy - autotrophy, mixotrophy etc.).

**Keywords:** *Adenophora liliifolia*, cryopreservation, *Potamogeton praelongus*, *Utricularia vulgaris*

## Obsah

Úvod .....	9
1 Teoretická část.....	10
1.1 Klíčení semen.....	10
1.1.1 Fyziologie klíčení .....	10
1.2 Faktory ovlivňující klíčení .....	11
1.2.1 Vnější podmínky klíčení.....	11
1.2.2 Vnitřní podmínky klíčení .....	13
1.3 Dormance .....	14
1.3.1 Morfologická dormance .....	15
1.3.2 Morfofyziologická dormance.....	16
1.3.3 Fyziologická dormance.....	18
1.3.4 Fyzikální dormance.....	19
1.3.5 Kombinovaná dormance.....	20
1.3.6 Mechanická dormance .....	20
1.3.7 Chemická dormance .....	20
1.4 Přerušení dormance.....	20
1.4.1 Působení rostlinných hormonů (fytormonů) .....	20
1.4.2 Stratifikace .....	24
1.5 Životaschopnost semen .....	25
1.5.1 Vitalita semen.....	25
1.5.2 Ukládání semen.....	26
1.5.3 Kryokonzervace.....	26
1.6 Bublinatka obecná ( <i>Utricularia vulgaris</i> ) .....	27
1.6.1 Taxonomické zařazení .....	27
1.6.2 Morfologie.....	27
1.6.3 Výskyt druhu .....	29
1.6.4 Ekologie .....	31
1.7 Rdest dlouholistý ( <i>Potamogeton praelongus</i> ).....	32
1.7.1 Taxonomické zařazení .....	32
1.7.2 Morfologie.....	33
1.7.3 Výskyt druhu .....	33

1.7.4 Ekologie .....	35
1.8 Zvonovec liliolistý ( <i>Adenophora liliifolia</i> ).....	36
1.8.1 Taxonomické zařazení .....	36
1.8.2 Morfologie.....	36
1.8.3 Výskyt druhu .....	37
1.8.4 Ekologie .....	38
2 Praktická část.....	40
2.1 Metodika.....	40
2.1.1 Testy klíčivosti .....	40
2.1.2 Původ, sběr, uložení semen.....	40
2.1.3 Ošetření semen .....	41
2.1.4 Postupy při zakládání testů .....	41
2.1.5 Kontrola klíčivosti semen .....	46
2.1.6 Vyhodnocení testů.....	46
2.2 Výsledky.....	47
2.2.1 Bublínatka obecná ( <i>Utricularia australis</i> ).....	47
2.2.2 Rdest dlouholistý ( <i>Potamogeton praelongus</i> ) .....	49
2.2.3 Zvonovec liliolistý ( <i>Adenophora liliifolia</i> ) .....	51
3 Diskuze .....	53
4 Závěr .....	59
5 Literatura.....	61
6 Seznam příloh .....	74
6.1 Seznam obrázků.....	74
6.2 Seznam tabulek.....	75



# Úvod

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda u semen vybraných terestrických a vodních rostlin dochází ke změně klíčivosti semen, pokud jsou před testy klíčivosti uložena v hlubokomrazicím boxu. Ve variantách testů klíčivosti se testují semena, která jsou uložena na sucho při pokojové teplotě, a semena skladovaná kryokonzervací při teplotě -80 °C. Semena byla vystavena takovým faktorům, jako je způsob uložení semen, teplota, světlo, teplá a studená stratifikace. Jednotlivé varianty testů klíčivosti v laboratorních podmínkách vycházely z již známých údajů o účinném způsobu přerušení dormance. Součástí diplomové práce je rešerše zdrojů zaměřených na testované ohrožené druhy cévnatých rostlin: bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*), rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*), zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*). Práce se soustředí na morfologické znaky těchto rostlin, druhové rozšíření a jejich výskyt v České republice a ve světě. Pozornost je věnována též ekologickým nárokům jednotlivých studovaných druhů.

# 1 Teoretická část

## 1.1 Klíčení semen

Klíčení zahrnuje procesy, které začínají vychytáváním vody suchým semenem a končí prodloužením embryonální osy (Bewley 1997). Klíčení semen je mechanismus, při kterém dochází k různým morfologickým a fyziologickým změnám vedoucím ke klíčení embrya. Semeno má schopnost klíčit při normálních fyzikálních faktorech životního prostředí (Baskin et Baskin 1998, 2004).

### 1.1.1 Fyziologie klíčení

Klíčení semen závisí především na fyzikálních procesech bobtnání. Semena rostlin začínají klíčit po příjmu potřebného množství vody (Kincl et Krpeš 2000, Campbell et Reece 2008). Příjem vody je třífázový proces s rychlým počátečním vychytáváním (fáze I), následuje plošná fáze (fáze II) a dále fáze zvýšení příjmu vody (fáze III). Osa embrya se prodlužuje, a tím protíná krycí vrstvy semene (Schopfer et Plachý 1984, Finch-Savage et Leubner-Metzger 2006).

K růstu semene dochází díky vstřebání vody a prolomení obalu (Campbell et Reece 2008). Buněčné vakuoly a buněčné koloidy přijímají vodu pomocí rozpínatelných pletiv. Díky nim přibývají na svém objemu (Kincl et Krpeš 2000). Tento proces je nazýván bubření semen, při kterém vzniká bubřivý tlak a zvětšuje se objem semene (Kincl et Krpeš 2000, Tůma et Tůmová 1998). Embryo je obklopeno dvěma krycími vrstvami, triploidním endospermem (vyživující živé buňky) a diploidní testou (vrstva semena, převážně mrtvé buňky). U několika druhů rostlin je endosperm zcela zničen během vývoje semen a živiny jsou přemístěny do zásobních děloh (Watkins et Cantliffe 1983).

Velmi důležitými spouštěči jsou metabolické změny v embryu, které umožňují pokračování v růstu (Campbell et Reece 2008). Svoji činností štěpí složité zásobní látky (proteiny, škrob, oleje) na jednodušší látky, které jsou především potřebné pro růst pletiv (Kincl et Kolková 1984).

Viditelným znakem zdařilého klíčení je penetrace radikuly skrz semenné obaly (Bewley 1997) a vyrašení výhonků na povrch půdy (Fenner et Thompson 2005).

## 1.2 Faktory ovlivňující klíčení

Klíčení semen závisí na celém souboru podmínek, které jsou pro klíčení zcela nepostradatelné (Kincl et Krpeš 2000). Semena potřebují k vyklíčení specifické vnější podmínky jako je voda, světlo, kyslík, teplota a chemické vlivy (Šebánek 1998, Tůma et Tůmová 1998, Kincl et Krpeš 2000).

Vhodnost semen pro klíčení kromě vnějších podmínek určují také vnitřní podmínky. Nejsou-li splněny vnitřní podmínky, semena neklíčí, popřípadě mohou klíčit velmi pomalu a obtížně, i když vnější podmínky jsou příznivé (Prášková 2013).

### 1.2.1 Vnější podmínky klíčení

#### Voda

Životní strategie rostlin závisí na úspěšném klíčení semen v prostředí s dostatkem půdní vody, což je považováno za nejdůležitější vnější faktor (Obroucheva et al. 2017). Semena obsahují obvykle 7-16 % vody. Jestliže podíl vody v semeni klesne pod normu, dochází nejčastěji k úhynu klíčku (Kincl et Krpeš 2000). I když semena obsahují minimum vody, jsou schopná si udržet svoji vitalitu. Semena se vzájemně odlišují těmito specifickými hodnotami vody (Fenner et Thompson 2005). Studie ukazují, že semena konkrétních druhů musí před vyklíčením dosahovat minimálního obsahu vody, např. sójové boby 50 %, cukrová řepa 31 %, kukuřice 30,5 % a rýže 26,5 % (Hunter et Erickson 1952). Voda má u klíčících rostlin významnou roli jako transportní prostředek. Působením vody v semeni dochází k aktivaci metabolismu, přenosu minerálních a organických látek do míst intenzivní biosyntézy (Tůma et Tůmová 1998, Kincl et Krpeš 2000).

#### Kyslík

Kyslík je další nepostradatelný faktor pro klíčení (Tůma et Tůmová 1998, Procházka 2003). Semena několika vodních druhů potřebují pro své klíčení dostatek kyslíku. Nedostatek kyslíku může rovněž vést k přerušování dormance u semen, která potřebují stratifikaci chladem (Come et al. 1991). Ve vodním

prostředím je důležitá koncentrace rozpuštěného kyslíku, která záleží na hloubce, teplotě vody a činnosti organismů (Sculthorpe 1967). Vodní a bažinné druhy mohou vyklíčit bez přítomnosti kyslíku. Plyny pozitivně ovlivňují klíčivost semen, především vyšší koncentrace oxidu dusného, který pravděpodobně ruší některé druhy dormance (Sarath et al. 2006). Snížené množství kyslíku anebo zvýšené množství oxidu uhličitého inhibuje klíčivost u mnoha druhů rostlin. Čím jsou semena uložena více k povrchu, tím mají větší dosažitelnost potřebného množství kyslíku. Semena a půdní organismy dýchají, tudíž dochází ke spotřebě vzdušného kyslíku. Nedostatek kyslíku je kompenzován zvýšením anaerobního metabolismu, který způsobuje akumulaci toxických látek v okolí semen (Benvenuti et Macchia 1995, Corbineau et Côme 1995).

### Teplota

Pro klíčení rozlišujeme kardinální teplotní body, tj. hodnoty minima, optima, maxima (Procházka 2003, Tůma et Tůmová 1998, Kincl at Krpeš 2000). Rostliny v našich podmínkách mívají teplotní minimum 1-10 °C, optimum 25-28 °C a maximum kolem 37 °C. Některé druhy rostlin musí zpočátku promrznout, přičemž dochází k porušení endospermu. Rostlina díky tomu může začít klíčit (Tůma et Tůmová 1998).

Semena některých druhů vyžadují pro klíčení stálou teplotu, jiná semena naopak vyžadují střídání teplot (Atkins et al. 1987). Dormance semen bývá přerušena v zimním období studenou stratifikací, poté mohou semena v období jara začít klíčit v teplotním optimu za přijatelných světlených podmínek (Baskin et Baskin 1998).

### Světlo

Semena reagují na přítomnost světla tím, že dokáží regulovat klíčení v přijatelnou dobu (Fenner et Thompson 2005). Světlo není podmínkou pro klíčení, i když některá semena mohou rychleji klíčit na světle než ve tmě. Proto se rostliny člení podle reakcí na světlo (Procházka 2003), a to na druhy reagující záporně (světlo klíčení inhibuje), a reagující kladně (světlo klíčení stimuluje) a fotoblasticky (adaptační význam). Pro klíčení semen je důležité zachycení světla v podobě

fytochromu. Mezi hlavní patří fytochrom A, fytochrom B. Fytochrom A reaguje od UV po infračervené záření. Fytochrom B reaguje na infračervené záření (Shinomura 1997). Aktivní forma fytochromů zahájí klíčení, inaktivní forma klíčení inhibuje (Baskin et Baskin 2014).

### Chemické a fyzikální vlivy

U některých druhů rostlin byly prováděny pokusy zaměřené na zásahy, které by mohly ovlivnit klíčivost. Pozitivní účinek byl zjištěn, když bylo semeno před zahájením testu klíčivosti ozářeno laserem, radioaktivním zářením (Procházka 2003). U druhu *Potamogeton praelongus* bylo k ošetření semen použito UVA záření (Prausová et al. 2013). Toto záření má více energie než viditelné světlo, ale je méně energetické než UVB záření. Test působení UVA na semena tohoto druhu po dobu 30 minut ukázal, že nažky mohou přežít v terestrických podmínkách, kde vyschnou a jsou vystaveny UVA záření. To může aktivovat jejich klíčení, které nastane po zvýšení vlhkosti (Prausová et al. 2013).

Pozitivní účinek na klíčení semen má i ethylen. V laboratorních testech klíčivosti se využívá synteticky vyráběný regulátor růstu Ethephon (2 - chlorethylfosfonová kyselina) (Durrant et Masch 1991). Ve vodném prostředí je Ethephon rozložen na etylen, fosfát a chloridové ionty (Roberts 1998). Účinek etylenu na přerušování dormance a aktivování klíčení semen je znám např. u druhu *Amaranthus retroflexus*, stejně jako pozitivní účinek kyseliny gibberelové (Kępczyński et Sznigir 2012). Dormantní semena mohou být uvolněna z dormance též studenou stratifikací, dále dozríváním v suchých podmínkách nebo působením dalších chemických látek (Bewley et Black 1994). Uvolňování z dormance zahrnuje změny koncentrací kyseliny abscisové (ABA), gibberelinů (GA) a etylenu, a změny citlivosti na tyto hormony (Kępczyński et a Kępczyńska 1997, Matilla 2000, Hilhorst 2007).

### **1.2.2 Vnitřní podmínky klíčení**

Vnitřní podmínky klíčení jsou určeny chemickým složením, propustností obalů, hydratační schopností a její velikostí (Copeland et McDonald 2001). Živá semena rostlin, která mají vyhovující podmínky pro klíčení, nemusí obvykle vyklíčit.

Důvodem nevyklíčení může být nepropustnost osemení pro vodu, výskyt palisádového sklerenchymu v osemení, který brání průniku vody testou, dále též nedostatečná permeabilita pro O<sub>2</sub> a CO<sub>2</sub>, kdy ve vnější vrstvě semene (endosperm, nucelus, testa) neprobíhá dostatečná výměna plynů (Procházka 2003).

### 1.3 Dormance

Dormance semen představuje určité brzdící mechanismy klíčení přítomné v embryu nebo semenných obalech (Hess 1983). Za dormanci semen označujeme stav, kdy zralé zdravé semeno zůstává v klidu, i když jsou přijatelné podmínky pro jeho klíčení a růst (Vleeshouwers et al. 1995, Baskin et Baskin 2004). Dormantní stav semene také souvisí s vyšším obsahem kyseliny abscisové (ABA), což je látka inhibičního charakteru (Bewley 1997, Tůma et Tůmová 1998).

U semen můžeme rozlišit dva typy dormancí jako je primární a sekundární dormance. Primární dormance (vrozená) probíhá u semen, která nevyklíčí okamžitě po dozrání na mateřské rostlině. Tato dormance je řízena inhibičními vlivy ABA při zrání semen na mateřské rostlině (Finch-Savage et Leubner-Metzger 2006). Sekundární (vyvolaná) dormance vzniká reakcí na nepříznivé životní podmínky. Semena s touto dormancí mohou přečkávat v klidu krátkodobě, do období zlepšení podmínek nebo dlouhodobě po několik sezón (Harper 1977, Fenner 1985).

Dormance je adaptace rostlin na přežití v měnících se podmínkách (Harper 1977). K dormanci semene mohou být různé příčiny, například krátká doba slunečního záření, pokles teploty (Campoy et al. 2011). Aby došlo k přerušování dormance, musí přijít podnět z prostředí. Mezi tyto podněty řadíme především teplotu, působení dusičnanů, světla a dokonce i složek kouře (Bewley et al. 2013).

Nejnovější vysvětlení dormance předložili Baskin et Baskin (2004), Finch-Savage et Leubner-Metzger (2006), kteří dormanci semen definují jako potřebné podmínky, tedy faktory prostředí důležité pro klíčení semen, které by uvolnily semeno z dormance. Dá se říci, že dormance podle všeho souvisí s klimatickými změnami, které probíhají během historie Země (Bewley et al. 2013). Proto se blokování klíčení vyvinulo u různých druhů včetně jejich adaptací na prostředí

umožňujících klíčení za vhodných podmínek (Hilhorst 1995, Vleeshouwers et al. 1995, Bewley 1997, Baskin et Baskin 2004, Fenner et Thompson 2005).

Semena jsou schopna přežít v dormanci rok i více let. Některá dormantní semena mohou být vitální a schopná klíčit od několika dnů po desetiletí, dokonce i déle. Tento fakt záleží na druhu a přírodních podmínkách (Campbeel et Reece 2008). Proto je mnoho bloků klíčení, které vznikly jako adaptace na různá přírodní stanoviště a klima, ve kterých působí (Bewley et al. 2013). Dormance může některým druhům zaručit přežití přírodních katastrof (Finkelstein 2008). V půdě se hromadí velké zásoby nevyklíčených semen, která se mohou nakupit během několika let. Proto se ve vegetaci okamžitě objeví po suchu, záplavách a požáru, případně dalším narušením (Campbeel et Reece 2008).

Dormance semen úzce souvisí s jejich anatomí (Atwater et Vivrette 1987). Nikolaeva (2004) vytvořila klasifikační systém dormance, který je určován morfologickými a fyziologickými vlastnostmi semen. Baskin et Baskin (1998, 2004) na základě vytvořeného systému navrhli komplexnější klasifikační systém, který zahrnuje několik tříd dormancí: fyziologickou, morfologickou, morfofyziologickou, fyzikální a kombinovanou, chemickou a mechanickou.

Z toho se některé třídy dormance dále dělí na nižší úrovně (Baskin et Baskin 1998, 2004). Výše uvedený klasifikační systém dormance ukazuje na velkou rozmanitost morfologických a fyziologických vlastností v reakci na různá prostředí (Vleeshouwers et al. 1995, Baskin et Baskin 2004, Donohue 2005).

Morfologické rozdíly ve zralých semenech jsou dány velikostním poměrem embrya k semenu a relativním množstvím endospermu, který během vývoje semene zaniká. Dále je významné zapojení živin do radikuly (Martin 1946, Baskin et Baskin, 1998, 2004, Forbis et al. 2002). Martin (1946) na základě vnitřní morfologie zralých semen definoval typy zralých semen s odlišným poměrem embrya k endospermu.

### **1.3.1 Morfologická dormance**

U mnoha druhů rostlin s morfologickou dormancí rozlišujeme diferencované embryo, radikulu s děložními lístky. V semeni se nachází embryo, které není

dostatečně vyvinuté. Aby došlo k vyklíčení, je zapotřebí, aby embryo dostatečně vyrostlo. Jiné druhy semen s morfológickou dormancí mají nediferencované embryo, což je masové rozptýlení buněk. U tohoto typu semen nedochází ke klíčení, dokud se diferenciacé a růst úplně nedokončí. Zralému semeni je tedy zabráněno vyklíčit kvůli morfológické charakteristice embrya (Baskin et Baskin 1998).

Embrya semen s morfológickou dormancí nepotřebují specifické podmínky ani ošetření, aby došlo k přerušení dormance a vyklíčení. Dormance je tedy doba mezi inkubací čerstvého semene a vznikem radikuly (Baskin et Baskin 2004). Morfológická dormance se vyskytuje především u semen s lineárním a rudimentálním embryem (Baskin et Baskin 1998).

Semena některých tropických druhů s morfológickou dormancí vyklíčí za vhodných podmínek za 1-3 měsíce (Hayat 1963). Při přijatelných podmínkách začne zralé semeno růst v době několika dnů až týdnů. Následně semena vyklíčí v průběhu 30 dní (Baskin et Baskin 2004).

### **1.3.2 Morfofyziologická dormance**

Čerstvě vyžralá semena mající morfológickou dormanci, jsou schopná si současně vyvinout fyziologickou dormanci. Tato dormance je tedy kombinací morfológické a fyziologické dormance (Baskin et Baskin 1998). Semena s morfofyziologickou dormancí mají nedostatečně vyvinutá embrya. Semena v tomto typu dormance vyžadují ošetření, aby došlo k přerušení dormance. Příkladem ošetření semen může být kombinace teplé anebo studené stratifikace, která může být nahrazena aplikací kyseliny giberelové (Baskin et Baskin 2004).

Morfofyziologická dormance se objevuje u semen, která mají primitivní nebo lineární embrya. Některé čeledi rostlin mají nedostatečně vyvinutá embrya, proto nelze přesněji určit, zdali se jedná o morfológickou nebo fyziologickou dormanci. Přerušení dormance embrya se odvíjí od specifických podmínek prostředí, které souvisí s druhem rostliny (Baskin et Baskin 1998). V závislosti na druhu dochází k přerušení dormance stratifikací při teplotě 15 °C (Baskin 1990b) nebo chladovou stratifikací při teplotě 0-10 °C (Baskin et Baskin 1984), příp. teplou stratifikací



(Nikolaeva 1977). Morfofyziologická dormance (MFD) byla rozčleněna na několik typů (Baskin et Baskin 1998, 2004).

- **Nehluboká jednoduchá dormance**

Tento typ MFD byl poprvé popsán u čeledi *Apiaceae* (Baskin et Baskin 1990a). Dozrávající semena pozdního jara klíčí následující podzim, pokud je přerušena fyziologická a morfologická dormance. Při nízkých teplotách (5,15/6 a 20/10 °C) nedochází k přerušení dormance, naopak je tomu při vyšších teplotách v létě, kdy je dormance přerušena při teplotě 25/15, 30/15 a 35/20 °C. Morfologická dormance nemůže být přerušena dříve než fyziologická dormance, proto embryo nezačíná růst dříve než v době podzimu. Semena pro své klíčení potřebují přijatelnou teplotu, např. 25/15 °C, vlhký substrát a dobré světelné podmínky. Pokud semena vstoupí do nehluboké fyziologické dormance, nedochází ke klíčení semen ve vhodných podmínkách. Z fyziologické dormance semeno zpravidla vystoupí další léto. Morfologická dormance většinou bývá ukončena na podzim, kdy jsou omezené světelné, vodní a teplotní podmínky (Baskin et Baskin 1990a).

- **Středně jednoduchá**

Semena střední jednoduché MFD potřebují v době léta teplou stratifikaci, aby se přerušily obě dormance. Po přerušení fyziologické dormance dochází k růstu embryí na podzim při teplotách 15-20 °C. Semena, která mají prodloužená embrya, vyžadují studenou stratifikaci začátkem léta. Čerstvě zralá semena, nacházející se v půdě za přirozených sezónních teplotních změn, vyklíčí následující březen a duben (Baskin et Baskin 1998).

- **Hluboká jednoduchá**

Semena s hlubokou jednoduchou MFD vyžadují zahřátí a následnou studenou stratifikaci předtím, než začne semeno klíčit, protože hluboká jednoduchá MFD obsahuje jednu morfologickou a dva typy fyziologické dormance (Baskin et Baskin 1998). Nikolaeva (1977) zdůraznila, že druhá část tepelné stratifikace by měla mít nižší teplotu než první část. Aby došlo ke zrušení morfologické dormance, musí být přerušeny oba typy fyziologické dormance. Teplotní požadavky na přerušení

prvního typu fyziologické dormance jsou splněny v létě (stratifikace teplem při relativně vysoké teplotě). Na podzim (stratifikace teplem při relativně nízkých teplotách) a v zimě (studená stratifikace) se přeruší druhý typ fyziologické dormance, což umožňuje semeni začít klíčit v době jara.

- **Nehluboká komplexní**

Pro tuto dormanci je potřeba studená stratifikace. Aby byla stratifikace účinná, musí nejprve proběhnout stratifikace teplem (Baskin et Baskin 1998). Při působení stratifikace chladem na semena s nehlubokou fyziologickou dormancí může docházet k uvolnění zásobních látek v endospermu, které se stanou přístupnými pro rostoucí embryo (Stokes 1952b).

- **Středně komplexní**

Semena při této dormanci potřebují studenou stratifikaci v době podzimu a zimy, aby byla přerušena morfoloická a fyziologická dormance. Při působení nízkých teplot dochází v semenech k růstu embrya (Baskin et Baskin 1998).

- **Hluboká komplexní**

Semena s hlubokým komplexem MFD vyžadují v době zimy chladovou stratifikaci, aby došlo k přerušení fyziologické a morfoloické dormance. Semena začínají klíčit na začátku jara (Baskin et Baskin 1998). Nízké teploty jsou potřebné pro uvolňování zásobních rezerv endospermu, které používá rostoucí embryo (Stokes 1952a). Při nízké teplotě (2 °C) dochází k rozkladu bílkovin na rozpustné dusíkaté sloučeniny (Stokes 1953) a tvorbě aminokyselin glycinu a argininu, které jsou důležité pro růst embrya.

### **1.3.3 Fyziologická dormance**

Tato dormance je způsobena fyziologickými inhibičními mechanismy embrya, které chrání před vznikem radikuly. Mnoho semen s touto dormancí nepropouští vodu (Baskin et Baskin 1998). Fyziologickou dormanci můžeme rozdělit do tří

úrovní: nehluboká, středně hluboká a hluboká (Nikolaeva 1977, Baskin et Baskin 2004).

- **Nehluboká fyziologická dormance**

Nehluboká fyziologická dormance je z těchto tří typů nejčastější (Baskin et Baskin 2004). Tato dormance v semenném plášti vyvolává nepropustnost pro kyslík (Nikolaeva 1969). Je prokázáno, že kyselina gibberelová a skarifikace podporují klíčení u semen s tímto typem dormance (Baskin et Baskin 2004).

- **Středně hluboká fyziologická dormance**

U středně fyziologické dormance jsou semena přerušena stratifikací chladem (Nikolaeva 1969). Aby došlo k přerušení dormance, vyžadují 3-4 měsíční stratifikaci chladem. Kromě toho závisí na druhu rostliny a době působení stratifikace (Baskin et Baskin 1998, 2004).

- **Hluboká fyziologická dormance**

Při hluboké fyziologické dormanci musí být semena v chladu, aby došlo k přerušení jejich dormance (Baskin et Baskin 1998). Po aplikaci kyseliny gibberelové nedochází k přerušení dormance (Nikolaeva 1977).

#### **1.3.4 Fyzikální dormance**

Fyzikální dormance je způsobena jednou nebo více vrstvami palisádových buněk v semeni nebo obalu, které jsou nepropustné pro vodu (Baskin et al. 2000). K přerušení fyzikální dormance musí být provedena mechanická nebo chemická skarifikace (Baskin et Baskin 1998, Fing-Savage et Leubner-Metzger 2006). Podmínkou klíčení semen u fyzikální dormance je otevření semene nebo narušení palisádového parenchymu nebo jiné nepropustné vrstvy, což by umožnilo průchodnost vody do semene (Baskin et Baskin 1998).

### **1.3.5 Kombinovaná dormance**

Přítomnost fyzikální a fyziologické dormance u semene je označována jako kombinovaná dormance (Nikolaeva 1969). Pro zahájení klíčení semene musí být přerušeny obě dormance (Barton 1934). Při této dormanci mají semena nepropustný plášť pro vodu v kombinaci s dormantním embryem (Baskin et Baskin 1998, 2004).

### **1.3.6 Mechanická dormance**

Mechanickou dormanci způsobuje výskyt tvrdé plodové stěny, a proto je endokarp nepropustný pro potřebnou vodu (Nikolaeva 1969). U ostatních rostlinných čeledí může být endokarp propustný pro vodu. Některé plody s kamennými endokarpy mají embrya s hlubokou fyziologickou dormancí. K přerušení dormance je zapotřebí dlouhé studené stratifikace (Nikolaeva 1969). Aby došlo ke klíčení semene, musí být endokarp zcela odstraněn (Baskin et Baskin 1998).

### **1.3.7 Chemická dormance**

Chemická dormance semen může být přerušena odstraněním perikarpů nebo vyluhováním inhibitorů klíčení (Nikolaeva 1969, 1977). Studie ukazují, že se nemusí jednat o skutečnou chemickou dormanci, protože účinky inhibitorů byly testovány na semenech za účelem přerušení fyziologické dormance (Baskin et Baskin 1998).

## **1.4 Přerušení dormance**

### **1.4.1 Působení rostlinných hormonů (fyt hormonů)**

Fyt hormon je organická sloučenina, která je po syntéze v jedné části rostliny transportována do jiné části (Gloser 1995, Campbeel et Reece 2008). Rostlinné hormony můžeme označit jako přirozené regulátory (Psota et Šebánek 1999), chemické sloučeniny působící ve velmi malém stopovém množství ( $<1\text{mmol. l}^{-1}$  nebo  $\leq 1\mu\text{mol.l}^{-1}$ ). Látky, které podporují růst, jsou označovány jako stimulanty, naopak látky s opačným účinkem jsou označovány jako inhibitory (Tůma et Tůmová 1998). Působením fyt hormonů dochází k biochemické, fyziologické

a morfologické reakci, která působí v místě vzniku nebo je transportována vodivými svazky nebo difúzí do jiného místa (Psota et Šebánek 1999).

Rostliny používají širokou škálu fytohormonů, jako jsou například auxiny, kyselina abscisová, cytokininy, etylen a gibereliny, které působí v malém množství (Teale et al. 2006). Fytohormony hrají důležitou roli ve fyziologii rostlin, např. u klíčivosti semen, tvorby kořenů, květů atd. (MacDonald 1997, Woodward et Bartel 2005). V současné době můžeme považovat za pět nejdůležitější fytohormonů: auxiny, gibereliny, cytokininy, kyselinu abscisovou (ABA) a plynný etylen (Gloser 1995, Hopkins 1995). Další fytohormony v menších zastoupeních jsou brassinosteroidy, kyselina jasmonová a fenolické látky (Gloser 1995).

### **Auxiny**

Auxiny jsou skupinou přirozeně se vyskytujících fytohormonů, které mají v rostlině mnoho funkcí a podílí se na vývoji a růstu (Tivendale et Cohen 2015). Mezi nejznámější auxiny patří IAA (indol-3-oxalová kyselina), která představuje nejvíce bohatý nativní auxin (Hopkins 1995, Fallon et al. 2012). Auxiny ovlivňují kromě růstu a vývoje rostlin také fotoperiodismus, gravitropismus a vývoj reprodukčních orgánů. Významně se podílí na apikální dominanci, tedy vzniku a tvorbě adventivních a postranních kořenů (Aloni et al. 2005, Pagnussat et al. 2009).

Kromě rostlin produkují své metabolity také půdní mikroorganismy, bakterie, houby a řasy (Sarwar et Kremer 1995). Bakterie na rhizodermis stimuluje proliferaci postranních kořenů, které zvyšují povrch pohlcující živiny a výsledkem je lepší asimilace vody a živin z půdy. Mohou zlepšit růst rostlin tím, že zvyšují klíčivost, chrání rostliny před škůdci a chorobami přenášenými půdou (Thomashow et Weller 1996, Berg et al. 2005).

### **Cytokininy**

Cytokininy jsou N<sup>6</sup> substituované deriváty adeninu s dusíkovou purinovou bází. Nejrozšířenějším přirozeným cytokininem ve vyšších rostlinách je zeatin (Hopkins 1995). Tento fytohormon je spojen s mnoha aspekty růstu a vývoje rostlin, včetně

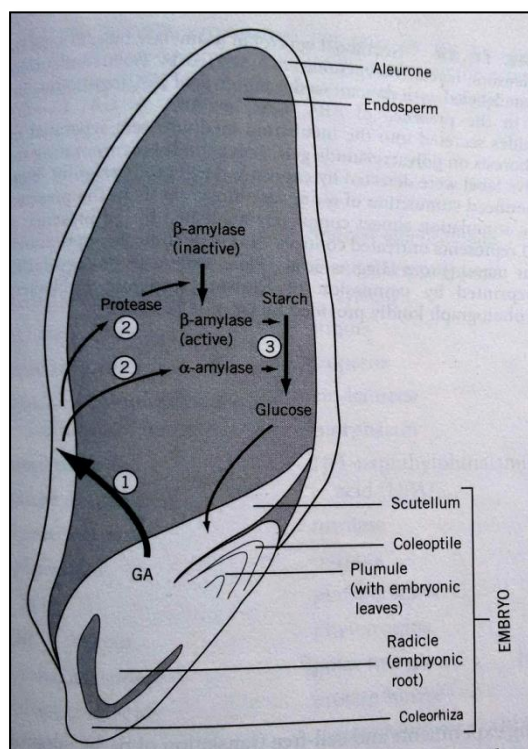
klíčivosti semen, funkcí meristému, apikální dominance a senescence listů (Mok et Mok 2001).

## **Gibereliny**

Gibereliny jsou skupinou rostlinných hormonů, které se můžou definovat více podle chemické struktury než jejich biologické aktivity (Hopkins 1995). První gen giberelinové dráhy byl izolován z rýžového patogenu *Gibberella fujikuroi*. Tato houba se komerčně používá pro výrobu kyseliny giberelové a příbuzných giberelinů (Tudzynski 1999). Za první izolovaný a popsáný hormon je považován GA<sub>3</sub>, který je znám jako GA (*Gibberellic Acid*), protože je snadno extrahován z houbových kultur. Gibereliny jsou nejvíce dostupné, v důsledku toho se nejčastěji zkoumají (Hopkins 1995).

Gibereliny (GA) jsou nezbytnými regulátory mnoha aspektů vývoje rostlin, včetně klíčivosti semen, prodloužení stonku a kvetení. Jsou důležité pro růst a vývoj rostlin, proto se stále častěji využívají v zemědělství a zahradnictví (Gadea 2003). Gibereliny se světlem a dalšími hormony (ABA a etylen) regulují klíčení, které souvisí s dormancí semen (Leubner-Metzger 2001). Exogenní aplikace giberelinů působí pozitivně na klíčení semen a mobilizaci rezerv endospermu během růstu embryí, podílí se na kvetení (Hopkins 1995).

Rozklad rezervních sacharidů a proteinů v endospermu umožňuje růst embrya. V endospermu při klíčení dochází k aktivitě hydrolytických enzymů (amylázy, proteázy a cytázy), které svojí činností uvolní cukry a aminokyseliny ze zásob endospermu (Paleg 1961). Kyselina giberelová (GA<sub>3</sub>) je schopna aktivovat enzymy hydrolyzující škrob, včetně  $\alpha$ -amylázy (Paleg 1960a), uvolňuje redukující cukry – dochází k mobilizaci rezervy škrobu (Paleg 1960b). Kromě  $\alpha$ -amylázy se mobilizují rezervy endospermu účinkem proteolytických enzymů (proteázy),  $\beta$ -amylázy a dalších enzymů degradujících škrob. Proces při klíčení semene můžeme rozdělit do tří fází (obr. 1). V první fázi se gibereliny pohybují od embrya k aleuronu, kde stimulují syntézu enzymů  $\alpha$ -amylázy a proteázy. V druhé fázi se proteáza přemění na neaktivní  $\beta$ -amylázu a aktivní  $\alpha$ -amylázu. Ve třetí fázi společně  $\alpha$ ,  $\beta$  amylázy štěpí škrob na glukózu, a tím dochází k růstu embrya (Hopkins 1995).



Obr. 1 Schéma klíčení na semeni ječmene (*Hordeum vulgare*), (převzato z: HOPKINS 1995)

### Kyselina abscisová

Kyselina abscisová (ABA) je sloučenina, která se primárně podílí na regulaci klíčivosti semen, syntézy skladovacích proteinů a modulaci vodního stresu. Poměrně velké množství ABA se rychle syntetizuje v listech v reakci na vodní stres, kde významně působí při regulaci otevírání a uzavírání stomat (Hopkins 1995). Rostlinný hormon kyselina abscisová (ABA) má důležitou roli při zrání a dormanci semen za nepříznivých podmínek (An Yan et Zhong Chen 2017).

Důležitým faktorem při klíčení semen je bilance ABA a GA (Seo et al. 2006, An Yan et Zhong Chen 2017). Působením ABA dochází k celkové inhibici syntézy proteinů a enzymů (například hydroláz), které se podílejí na nastartování dormance. Proto je důležitý poměr obsahu ABA k obsahu GA v semenech. Obsah hormonů rozhoduje o tom, jestli jsou semena klíčivá nebo dormantní (Gloser 1995). Po uplynutí doby se semeno stává citlivým na změnu okolních podmínek, jako je například světlo, chladová teplota, která může přerušit dormanci semena tím, že se potlačí nebo změní činnost ABA, a to vede k nástupu klíčení semen (An Yan et

Zhong Chen 2017). Uvolnění z dormance je doprovázeno sníženou hladinou ABA a naopak zvýšenou hladinou GA, což přispívá ke snížení syntézy ABA a zvýšení katabolismu ABA (Sasaki et al. 2015).

## **Etylen**

Je to plynný fytohormon chemické struktury  $H_2C = CH_2$ . Etylen působí inhibičními účinky na prodlužování buněk. Kromě zmíněných účinků také působí stimulačně na dozrávání plodů a klíčení semen, urychluje stárnutí a opad listů (Gloser 1995, Tůma et Tůmová 1998, Psota et Šebánek 1999).

Etylen se běžně používá k dozrávání například banánů a jiného ovoce, které jsou během přepravy zelené (Hopkins 1995). Zvýšení tvorby etylénu v rostlině je reakcí na působení stresoru. Zvýšenou tvorbu mohou vyvolat teplotní výkyvy, poranění nebo napadení patogeny atd. (Procházka 2003).

### **1.4.2 Stratifikace**

Podstata stratifikace je vystavení semen nízkým a následně vysokým teplotám, nebo nejprve vysokým a poté nízkým teplotám. Tímto způsobem u některých druhů rostlin dochází při několikátýdenním působení nízkých teplot ke klíčení semen (Tůma et Tůmová 1998). U mnoha druhů rostlin dochází k přerušení dormance stratifikací při nízkých teplotách, ale málo druhů získává možnost klíčit při nízkých teplotách pod 10 °C (Schütz 2000). Semena rozšiřovaná na podzim potřebují studenou stratifikaci. Semena šířená na jaře potřebují teplou stratifikaci. Účinné teploty studené stratifikace jsou 0-10 °C, s tím že 5 °C je optimální pro většinu druhů. Účinné teploty teplé stratifikace jsou 20-35 °C s optimem 20-25 °C, tímto jsou simulované letní teploty (Baskin et Baskin 1998). Některé mrazuvzdorné rostliny jsou tímto způsobem chráněny proti vyklíčení v době podzimu (Tůma et Tůmová 1998). Při studené stratifikaci dochází k odbourávání kyseliny abscisové (ABA), tím pádem dochází k navýšení hladiny giberelinů. Působením teplé nebo studené stratifikace může u mnoha rostlin dojít k přerušení dormance semen (Baskin et Baskin 1998).



## 1.5 Životaschopnost semen

### 1.5.1 Vitalita semen

Vitalitu a životaschopnost (klíčivost) semen můžeme popsat jako přirozenou vnitřní sílu u zdravých semen. Tato schopnost se projevuje okamžitým vyklíčením semen, to znamená, že semena po zasetí rychle vyklíčí za různých podmínek (Hosnedl et al. 2002).

Na prověření klíčivosti semen se provádí zkouška klíčivosti. Realizuje se za optimálních podmínek prostředí pro klíčení semen, které jsou specifické pro různé druhy. Semena jsou schopná si udržet svoji schopnost klíčení v rozmezí 3-15 let, ale jsou i případy taxonů, jejichž semena klíčí po více letech (Tůma et Tůmová 1998, Kincl et Krpeš 2000).

Stárnutí semen vede ke snížení jejich vitality, což vede ke ztrátě jejich životaschopnosti (McDonald 1999). Ztráta životnosti je spojená s degradací DNA (Procházka 2003). Procesem stárnutí dochází v semeni ke ztrátě aktivních enzymů, které se podílejí na přestavbě bílkovin, dochází k postupnému nahromadění škodlivých produktů látkového metabolismu, vyčerpání živných zásobních látek. Kromě těchto zmíněných procesů dochází ke strukturální změně v protoplastech, degradaci buněčných jader a porušení funkce osemení. Uchování klíčivosti je druhově specifické (Tůma et Tůmová 1998, Kincl et Krpeš 2000).

Podle ČSN 460610 je zkouška životnosti semen prováděna biochemickou cestou (Kroc 1961). Pro živá (klíčivá semena) se používá biochemická metoda, která spočívá v zabarvení pletiv zárodků nebo endospermu (Kincl et Krpeš 2000). Životaschopnost semen se může dokázat difúzí barviv do odumřelých pletiv nebo použitím 1% roztoku tetrazolia chloridu. Podstata testu spočívá v zabarvení bezbarvého roztoku na karmínově červený formazan, kde se živé pletivo zabarví červeně a mrtvé buňky zůstanou neobarvené (Kroc 1961). Po dobu 24 hodin semena nasávají vodou na filtračním papíře. Za pomoci skalpelu se semeno rozřízne podélným řezem na dvě půlky, ty se vystaví působení v 0,1% roztoku tetrazolia chloridu opět po dobu 24 hodin při pokojové teplotě (Giménez-Benavides et al. 2005). Následně jsou pozorovány barevné změny.

### **1.5.2 Ukládání semen**

Za optimální podmínku skladování semen je považovaný snížený obsah vody, což souvisí se snížením teploty. Vysoká teplota a vlhkost během skladování mohou na semeno působit negativně. Může docházet ke ztrátám zásob v důsledku prodýchávání. Uvolněné teplo při dýchání semene může poškodit probuzený zárodek. Doba skladování někdy způsobuje ztrátu klíčivosti semen, jelikož může docházet k poruchám transkripce a translace nukleových kyselin, tím pádem dochází ke snížení enzymatické aktivity. Poškození semen nastává při sklizení nedostatečně vyzrálých semen anebo při skladování semen za nevhodných podmínek (Procházka 2003).

### **1.5.3 Kryokonzervace**

Kryokonzervace při ultra nízkých teplotách (tekutý dusík -196 °C) umožňuje dlouhodobé skladování rostlinných materiálů. Klasické kryokonzervační techniky jsou založeny na dehydrataci vyvolané zmrazením (Engelman 2004).

Dehydratace semen během dozrávání zajišťuje jejich dlouhodobé skladování a úspěšnou kryokonzervaci. Při procesu dochází k expresi mnoha genů, které působí na měnící se metabolismus semene (Askochenskaya 1982). Kryokonzervace zabraňuje vyčerpání rezervních látek, akumulaci toxinů, rozkladu a inaktivaci enzymových komplexů (Stanwood 1985), čímž se minimalizuje riziko genetických změn (Bonner 1990).

Přínosem kryokonzervace je vysoká bezpečnost uchování, malá náročnost v období uchovávání. Je to metoda, která přispívá k uchování genetické stability, zabraňuje stárnutí skladovaného materiálu. Je využívána pro uchování genetických zdrojů kulturních a planých forem rostlin (Svoboda et Faltus 2007). Metoda je zvláště vhodná pro skladování semen ohrožených nebo endemických druhů, které mají k dispozici pouze malé množství semen (Pérez-García 2008, Ensconet 2009).

Většina evropských semenných bank využívá nízké teploty, -20 °C a technologie sušení (Goméz-Campo 1972, Puchalski 2004, Pérez-García et al. 2007). Jiní autoři používají ultra nízké uchovávání v tekutém dusíku pro dlouhodobou ochranu zárodku semen a spor, která se stala populární v zemích jako USA, Austrálie,

Japonsko a Rusko (Voronkova et Kholina 2010, Ashmore et al. 2011). Chlazení obecně prodlužuje životnost suchého semene, kryokonzervace zajišťuje dlouhodobé skladování (10-100 let) krátkodobě žijících orthodoxních semen (Walters a kol. 2004, Pritchard et Nadarajan 2008).

Kryokonzervace rostlin se používá k ochraně biologické rozmanitosti druhů (Park 2002). Tímto se předchází zániku mnoha druhů rostlin, proto byly v mnoha zemích vytvořeny národní programy pro zachování přírodních genetických zdrojů. Vznikly semenné banky pro uchovávání semenných zárodků, meristémů, pylu a buněčných kultur, které umožňují dlouhodobé uchovávání genomů a ochranu genetického materiálu pěstovaných a volně žijících druhů rostlin (Roos 1989, Pence 1991, Rao 2004).

## **1.6 Bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)**

### **1.6.1 Taxonomické zařazení**

Bublinatku obecnou (*Utricularia vulgaris*) řadíme do skupiny mixotrofních rostlin, což je pestrá skupina rostlin z odlišných řádů a čeledí. Vlastnost, která tyto rostliny spojuje, je schopnost lovit, konzumovat živočichy v různých podnebných a zeměpisných oblastech, které se navíc odlišují ekologicky a morfologicky (Studnička 1984). Tento druh patří do čeledi *Lentibulariaceae*, která zahrnuje tři rody *Utricularia* (bublinatka), *Genlisea* (genlisej) a *Pinguicula* (tučnice). Čeleď *Lentibulariaceae* zahrnuje podle nejnovějších odhadů přibližně 325 druhů (Barthlott et al. 2004, Fischer et al. 2000).

### **1.6.2 Morfologie**

Bublinatka je vodní bezkořenná masožravá rostlina, která je volně plovoucí pod vodní hladinou nebo může být ukotvena svými prýty v řídkém sedimentu (Adamec 2006). *Utricularia vulgaris* roste v chladnějších místech a vytváří před zimou na konci prýtů zimní pupeny tzv. turiony. Jsou to zelená, oválná tělíska, která se vytvoří po zkrácení lodyžních článků a seskupení mladých asimilačních orgánů. Po následném oddělení zbylé odumírající lodyhy klesají na dno, kde přezimují (Studnička 1984).

Jedna hlavní osa stonku způsobuje vznik řady bočních větví. Osy nesou fotosyntetizující listy, které jsou střídavě uspořádané po třech nebo čtyřech listech (Friday 1989). Listy mají mnohokrát čárkovitě dělené, zelené barvy (Frank 2009).

Past je listového původu, má tvar měchýřku (Juniper et al. 1989). Lapací past je připojen ke stonku krátkou stopkou (obr. 2). Stěna pasti je obvykle tvořena dvěma buněčnými vrstvami (Lloyd 1929), ale u jiných druhů je tvořena více než dvěma vrstvami (Lloyd 1942, Reifenrath et al. 2006). Stěny pastí, které se skládají ze dvou vrstev fotosyntetických buněk, jsou v mladých pastech turgescenční a pružné. Pro bublinatku jsou typické dimorfní pasti různých velikostí v rozmezí méně než 1 mm a více než 5 mm (Friday 1991), které mají na svém vnitřním i vnějším povrchu žlázy a trichomy (Juniper et al. 1989).



Obr. 2 Detail pasti, stereolupa Nikon SMZ25, foto: R. Prausová, 2017

Květy jsou 5četné s nápadně zlatožlutou barvou (Husák 2000, Kubát 2002), která vytváří volná hroznovitá květenství vyrůstající nad vodní hladinou (Husák 2000, Frank 2009). Nejmenší druhy bublinatek mají květy jednotlivé, které obvykle tvoří několikakvěté hrozny, nesené nad vodní hladinou plovoucím rozvětveným prýtem.

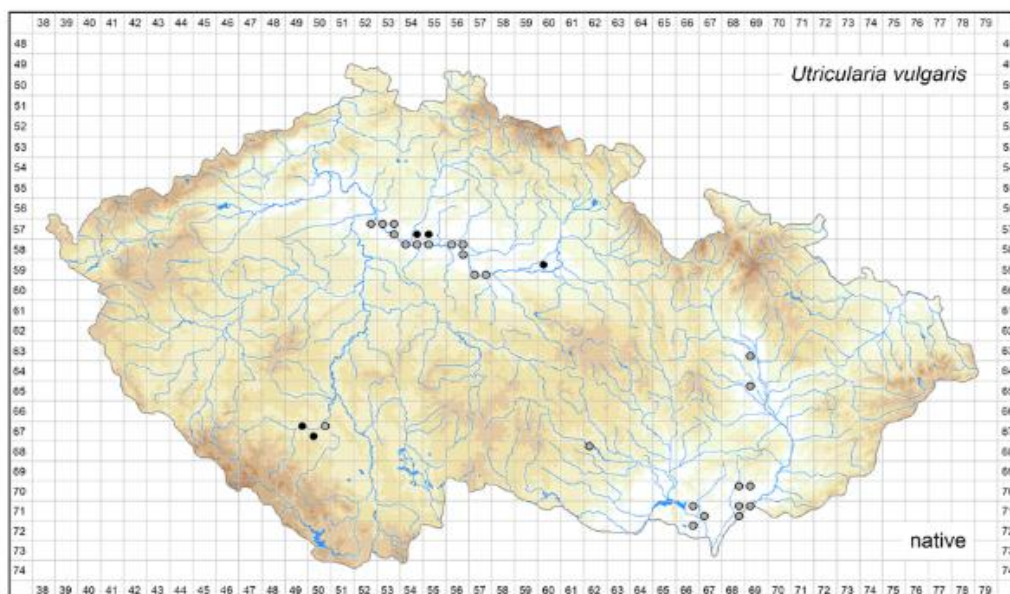
Květy *U. vulgaris* se od *U. australis* odlišují v době kvetení, kdy *U. vulgaris* má nápadně sedlovitě prohnutý dolní pysk koruny, naopak *U. australis* má zmíněnou část lehce prohnutou (Adamec 2008).

### 1.6.3 Výskyt druhu

#### Výskyt v České republice

*U. vulgaris* byla v ČR ještě před 100 lety docela hojná v teplých oblastech s tvrdší vodou (Adamec 2008), bohužel negativním dopadem eutrofizace vod, chov ryb a splašků, patří dnes k skoro vymizelým druhů (Frank 2009). Podle Červeného seznamu se řadí *U. vulgaris* mezi (C1t) kriticky ohrožené druhy s klesajícím trendem (Grulich et Chobot 2017). V současné době existuje pouze pět potvrzených existujících populací (Gálová et Hájková 2014, Prausová et al. 2015, Kaplan 2017). *U. vulgaris* s vyšší pokryvností v současné době vyskytuje v několika aluviálních tůňích v Polabí (Rydlo 2005) a slatinných tůňích u Hrabanova. Izolované výskyty byly zřídka zaznamenány v jižních Čechách v jihozápadní, jižní a střední Moravě (Grulich et Chobot 2017). Bublinatka se po dvaceti letech začala vyskytovat v Hodonínské Dúbravě (Gálová et Hájková 2014). V roce 2014 byl znovu druh nalezen Faltysovou (rev. L. Adamec) v NPR Bohdanečský rybník ve východních Čechách (Prausová et al. 2015).

Z dlouhodobého hlediska jsou považovány dvě populace za stabilní. *U. vulgaris* je často zaměňována s podobnými *U. australis*. Pouze 29 % z 339 zkoumaných herbářových položek původně identifikovaných jako *U. vulgaris* zatímco 70 % je *U. australis*. Distribuční mapa tohoto druhu (Obr. 3) je založena pouze na revidovaném herbáři (Kaplan 2017).

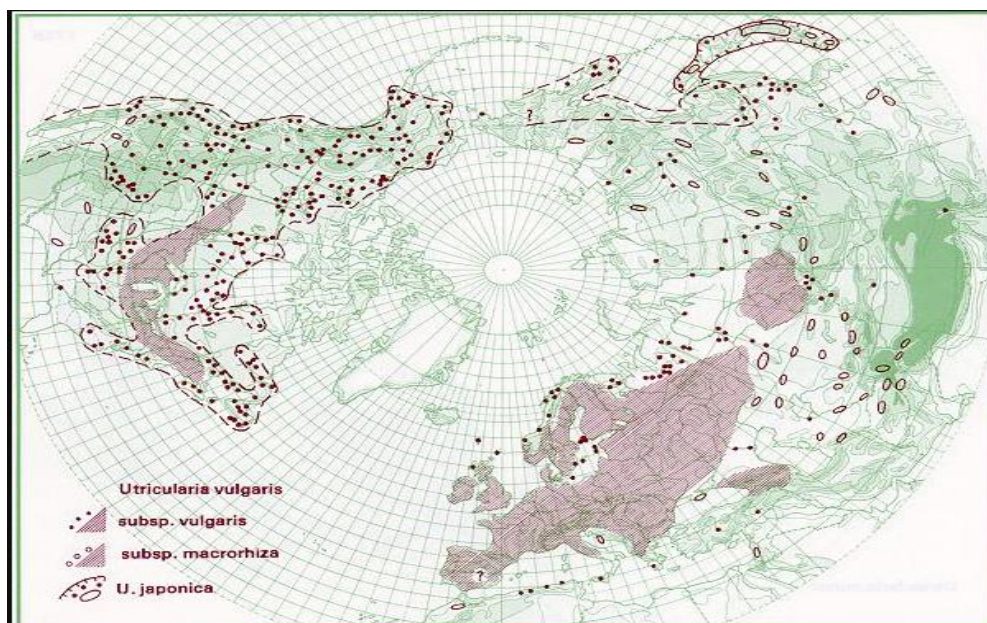


Obr. 3 Rozšíření *U. vulgaris* v České republice, záznamy z období 2000–2016 (převzato z Kaplan 2017)

### Výskyt ve světě

Rod *Utricularia* je kosmopolitní, ale na pólech a obecně v suchých oblastech neroste (Obr. 4). Bohatost druhů je vyšší na jižní polokouli (Taylor 1989). I přesto některé pronikly do vod horských tropů a subtropů. Například bublinatka menší (*U. minor*) byla zaznamenána až v Nepálu a horách Barmy a Nové Guiney. Bublinatka obecná (*U. vulgaris*) je udávána z tropů jižně od Sahary do Konga, ze Súdánu, Ugandy (Studnička 1990).

*U. vulgaris* se vyskytuje po celé Evropě, chybí pouze v nejsevernější části. Ve světě se vyskytuje v severní Africe, Asii, severně na západní Sibiř a na jih do Turecka, Sýrie, Kavkazu, Afghánistánu, Pákistánu a Tibetu (Taylor 1989). V Evropě se hojněji vyskytuje v jižní, severní a východní Evropě (Adamec 2008).



Obr. 4 Oblast rozšíření bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*) na Zemi (Linnaeus, 2017)

#### 1.6.4 Ekologie

Okolo 50 druhů *Utricularia* jsou vodní nebo oboživelné rostliny, které rostou ve stojatých mokřadech s chudými živinami, ve vodách s velkou koncentrací huminových kyselin (Juniper et al. 1989). *U. vulgaris* roste v tůních, odvodňovacích kanálech, mrtvých říčních ramenech a na okrajích rybníků (Kubát 2002). Z hlediska vody vyžaduje mezotrofní až eutrofní vody s bahnitým dnem (Husák 2000). V těchto vodách jsou nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku a pomalý rozklad sedimentu (Studnička 1990).

Mixotrofní rostliny se vyskytují v prostředí chudém na živiny. Organický dusík a fosfor získávají trávením své kořisti (Ellison et Gotelli 2009). *U. vulgaris* potřebuje pro své přežití dostatek kyslíku, který je klíčový pro fungování pastí a množství CO<sub>2</sub> pro fotosyntézu (Studnička 1990).

Nepříznivým ekologickým podmínkám druh čelí pomocí turionů (zimní pupeny), které jsou produkovány mnoha vodními rostlinami (Sculthorpe 1967, Bartley et Spence 1987). Jsou to kulovité až elipsoidní pupeny na koncích prýtů (Slavík 2000), které za přijatelných podmínek vyplavou na hladinu a začnou klíčit (Studnička 1990).

*U. vulgaris* kvete v období červen až září (Kubát 2002). Plodem je tobolka se dvěma chloupky (Slavík 2000) o velikosti 3-5 mm (Husák 2000). Z bublinek mezi hojně kvetoucí patří *U. vulgaris*, *U. australis*. Pouze *U. vulgaris* vytváří malá, klíčivá a četná semena v kulovitých tobolkách, zatímco *U. australis* je vždy sterilní (Adamec 2008). Semena jsou matného vzhledu, mají barevnou škálu od tmavě šedé po tmavě zelenočernou (Obr. 5). Tato semena mají tvar mnohostěnu, nejčastěji jsou tvořena sedmi stěnami (Holzbauerová 2015).

*U. vulgaris* patří do asociace *Lemno-Utricularietum vulgaris* (Rydlo 2005), ve které dominují diagnostické druhy *U. vulgaris* a *Lemna minor* s vyšší pokryvností. V současnosti se toto společenstvo vyskytuje v několika aluviálních tůňích v Polabí a slatinných tůňích u Hrabanova (Šumberová 2011).



Obr. 5 Semena bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*), stereolupa Nikon SMZ25, foto: R. Prausová, 2017

## **1.7 Rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)**

### **1.7.1 Taxonomické zařazení**

Rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*) patří do čeledi rdestovité (*Potamogetonaceae*). Zahrnuje rody: rdest (*Potamogeton*), rdestice (*Groenlandia*), rdestík (*Stuckenia*), šejdračka (*Zannichellia*), *Lepilaena* a *Althenia*. Celosvětově existuje přibližně 100 druhů. Největší počet taxonů má rod *Potamogeton*, ale jsou i běžné hybridní druhy v rodu *Potamogeton*, *Stuckenia* (E-monocot 2018).



### 1.7.2 Morfologie

Rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*) je vytrvalá vodní rostlina s dlouhým plazivým oddenkem (Kaplan 2010). Délka lodyhy může nabývat rozměrů od desítky centimetrů po několik metrů. Mezi faktory které ovlivňuje délku lodyhy, je průhlednost vody, přísun slunečního záření. Délka lodyhy rdestu v ČR se pohybuje o 30-150 cm (Prausová 2016 a). Lodyha obvykle v uzlinách lomená cik - cak. Vzplývavé listy zpravidla vždy chybí. Ponořené listy jsou kopinaté, přisedlé, barvy svěže zelené, průsvitné a na bázi objímavé a na vrcholu kápořité. Listy jsou 11-23 žilné a mohou dosahovat délky 5-180 mm (Prausová et Adamec 2010). Barva palistů je od bělavé po zelenavě bílou, na straně přivrácené k listu po celé délce vzájemně srostlé (Kaplan 2010). V době opylení květenství vyčnívá na vodní hladinu (Prausová et Adamec 2010).

Květy jsou drobné, oboupohlavné, přisedlé (Kaplan 2010). Kvete v období květen až červen, kdy klasy krátkodobě vyčnívají na vodní hladinu. Staré lodyhy odumírají. Zralé klasy s nažkami uhnívají a klesají ke dnu (Prausová 2016 a). Plodem rdestu jsou dlouhé, tmavě zelené nažky. Mají elipsoidní tvar, pevné oplodí, které stárnutím tmavne (Kaplan 2010). Semena jsou malá, bez endospermu, embryo je zatočené (Kaplan 2010, Prausová 2016 a).

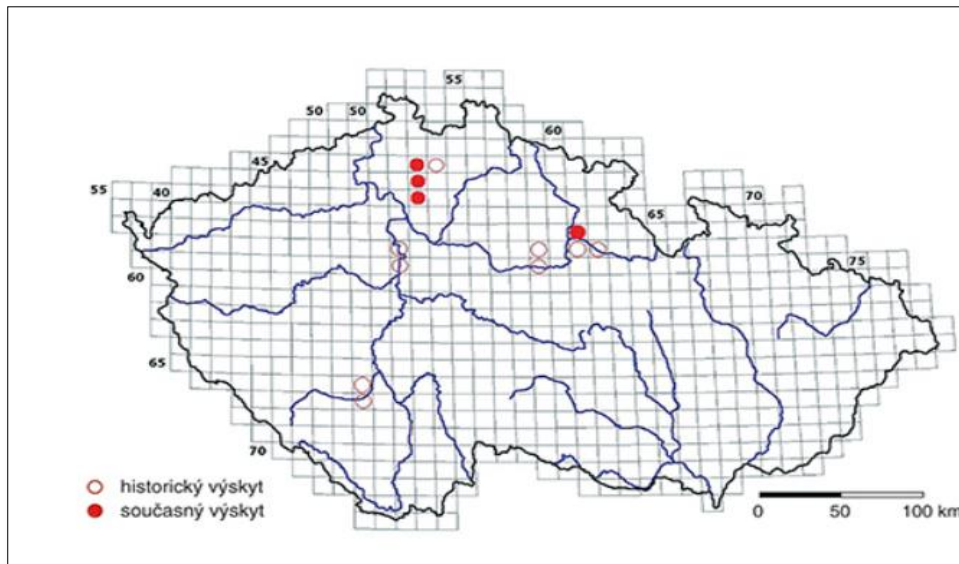
### 1.7.3 Výskyt druhu

#### Výskyt v České republice

V minulosti se nacházel od nížin po pahorkatiny. Kromě těchto zmíněných vegetačních stupňů byl jeho výskyt zaznamenán v roce 1983 v Praze v řece Vltavě (Rydlo 1986 a, b). Další výskyty v minulosti byly známy z Českolipska (řeka Ploučnice), okolí Písku (řeka Otava a rybníky), Chlumce nad Cidlinou (rybníky) a mezi Týništěm nad Orlicí a Hradcem Králové - z řeky Orlice, mrtvých ramen a tůní (Rydlo 1986 a, b; 1995), viz. Obr. 6.

Na předposlední české lokalitě rdestu dlouholistého v Jezuitském jezeře (tůni Orlice) v Malšovicích u Hradce Králové byla v roce 1987 velikost populace odhadována na 100 000 lodyh rdestu dlouholistého, bohužel v dalších dvou letech populace vyhynula z důvodu eutrofizace tůně (Husák et Kaplan 1997). Dnes se rdest vyskytuje na jediné původní lokalitě u ramene řeky Orlice u Hradce Králové,

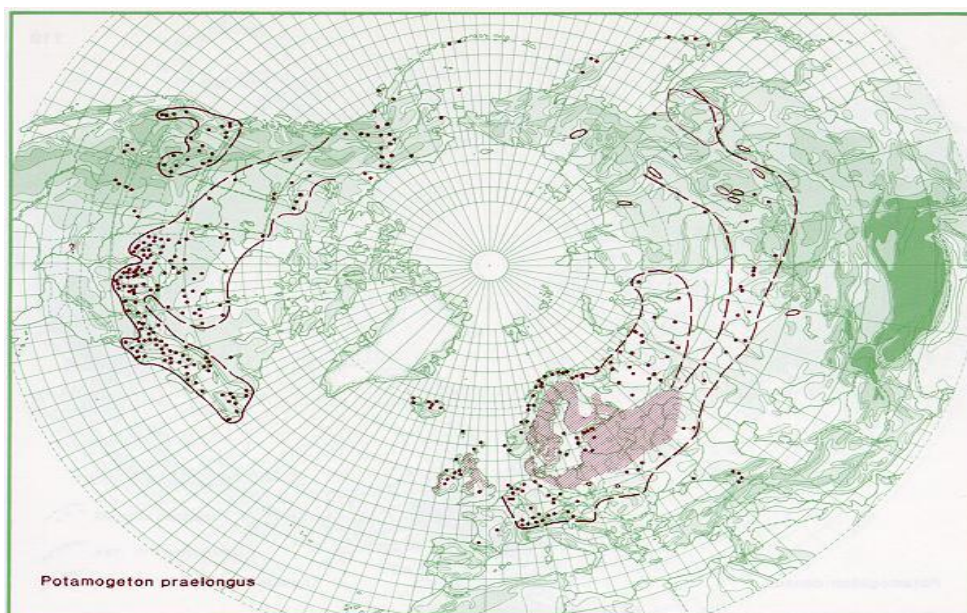
Rameno u Stříbrného rybníka. Na řece Orlici a na rameni řeky (Ploučnice byly populace rdestu úspěšně reintrodukovány (Prausová et al. 2017). V tůních na Kokořínsku se vyskytuje dočasná záložní populace (Rydlo 2008).



Obr. 6 Historické a současné rozšíření rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*), (převzato z: Prausová 2016 a)

### Výskyt ve světě

Rozšíření *P. praelongus* je určeno jako cirkumboreální a subocenánické (Obr. 7). Na Evropském kontinentu se vyskytuje především v severní části a v oblasti Středomoří úplně chybí. V Evropě můžeme *P. praelongus* nalézt od Islandu, Skandinávií, severní Itálii, Slovinsku, Francii. Velmi četný výskyt v severských zemí jako jsou Norsko, Finsko, Švédsko, Dánsko. V celé střední Evropě je považován za kriticky ohrožený druh (Pott 1995, Schubert et al. 1995). Nový výskyt byl také zaznamenán v jihozápadním Grónsku (Vöge 2002).



Obr. 7 Oblast rozšíření rdestu dlouholistého (*P. praelongus*) na Zemi (Linnaeus, 2018)

#### 1.7.4 Ekologie

Husák et Adamec (1998) uvádějí, že se jedná o druh, pro který je charakteristický růst v čisté hlubší tvrdé nížinné vodě s vápenatými sedimenty. Důležitými vlastnostmi vody pro růst tohoto druhu jsou pH, elektrická vodivost a tvrdost vody (Prausová 2016 a). Rostlina využívá hydrogenuhličitanové ionty jako zdroj uhlíku pro fotosyntézu (Husák et Adamec 1998). Kombinace všech ekologických podmínek je klíčová pro růst rdestu. Optimální jsou to především hlubší, chladnější, nížinné tvrdé vody, které jsou u nás v současnosti vzácné (Prausová 2016 a).

Za ústup druhu může eutrofizace. Vysoké koncentrace minerálních živin vedou k produkci vláknitých řas, které mohou růst na povrchu rdestu (Prausová et Janová 2010). V přijatelných podmínkách rdest vykvete a vytváří plody se semeny (Prausová et al. 2003). V době července až září na klasech dozrávají zelenohnědé plody nažky (Obr. 8) o velikosti 4,2–5,8 mm (Prausová 2016 a), které mají silné a nepropustné oplodí (Prausová et al. 2014).



Obr. 8 Vzhled nažky rdestu dlouholistého (*P. praelongus*), stereolupa Nikon SMZ25, foto: R. Prausová, 2018

## **1.8 Zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)**

### **1.8.1 Taxonomické zařazení**

Zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*) patří do velkého řádu hvězdnicotvaré (*Asterales*), do čeledi zvonkovité (*Campanulaceae*). Tato čeleď je zastoupena rody zvonek (*Campanula*), zvonečník (*Phyteuma*), zvoněnka (*Legousia*), pavinec (*Jasione*), zvonovec (*Adenophora*) (Kubát et al. 2002).

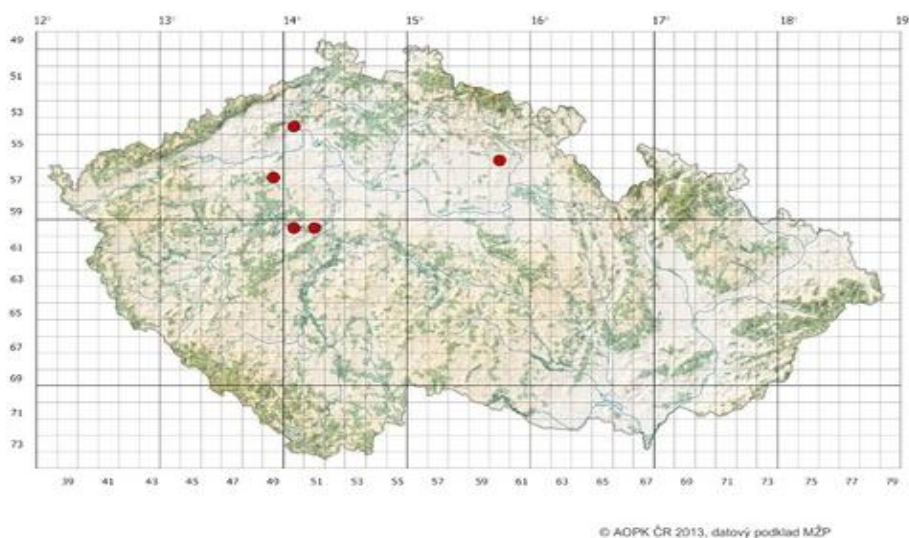
### **1.8.2 Morfologie**

Zvonovec je vytrvalá bylina se ztlustlými kořeny. Lodyha je přímá, větvená nebo nevětvená (Kubát et al. 2002). Dosahuje výšky 40-90 cm a může být válcovitá, podélně rýhovaná, nevětvená. Přízemní listy jsou dlouhé řapíkaté se srdčitou až okrouhlou čepelí. Lodyžní listy jsou v postavení střídavé, pilovité a mohou být až celokrajné (Kovanda 2000). Zvonovec kvete od konce června do srpna (Kubát et al. 2002). Květy mohou vytvářet květenství latu nebo hrozen. Jednotlivé květy jsou nicí, mají světle modrou zvonkovitou, vzácně i bílou korunu (Rybka et al. 2004). Na rozdíl od zvonků jsou květy zvonovce vonné a čnělka vyčnívá z koruny (Prausová et Marečková 2017). Plodem jsou tobolky hruškovitého tvaru. Semena dosahují velikosti 2,0-2,5 mm a jsou rezavohnědé barvy (Kovanda 2000).

### 1.8.3 Výskyt druhu

#### Výskyt v České republice

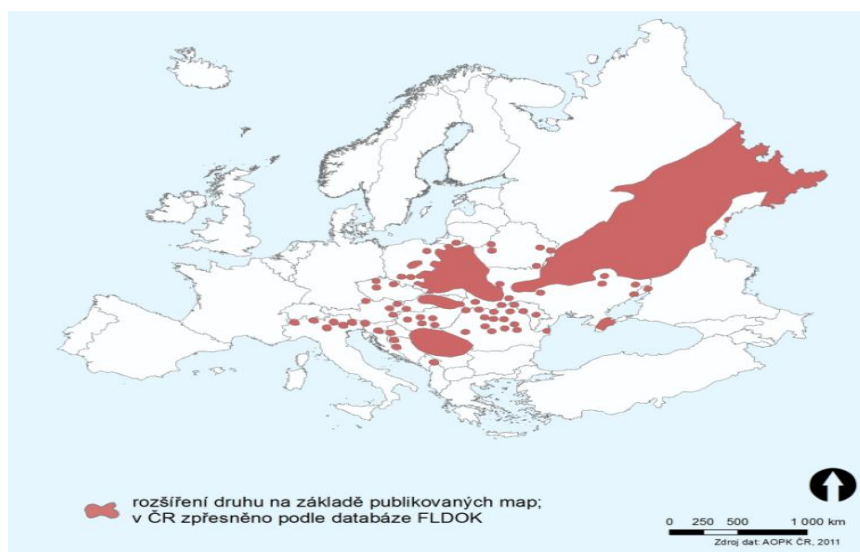
Kovanda (2000) uvádí, že se v České republice z původních cca 20 lokalit dochovalo 5 lokalit. Prausová a kol. (2016 b) uvádí, že zvonovec se nachází na pěti lokalitách: PP Babinské louky, NPR Karlštejn, PR Karlické údolí, lesní komplex u Bílichova v PP Džbán a les Vražba ve východních Čechách. Celkový počet rostlin na všech lokalitách se je malý.



Obr. 9 Současné rozšíření zvonovce liliolitého v ČR (převzato z: AOPK ČR 2013)

#### 1.8.3.2 Výskyt ve světě

Zvonovec eurosibiřský element (Ciosek 2006), jeho areál se táhne z východní Asie až dostřední Evropy (Obr. 10) Česká republika leží na okraji jeho areálu (Prausová et al. 2018). Kovanda (1998) zvonovec v Evropě byl zaznamenán na Slovensku v Rakousku, Maďarsku, Německu a Švýcarsku. Dále se vyskytuje v severnější části Itálie a Balkánského poloostrova.



Obr. 10 Areál rozšíření zvonovce liliolistého (převzato z: převzato z: AOPK ČR 2011)

#### 1.8.4 Ekologie

Zvonovec se nachází ve světlé subxerofilní doubravě a křovinách. Vzácně ho můžeme nalézt ve smrkové monokultuře. Půdním podkladem bývají středně hluboké až hlubší půdy (Kovanda 2000). Vyhovující půdy pro zvonovec mohou být také mírně vlhké, nepodmáčené s hojným obsahem živin (Rybka et al. 2004). Zvonovec liliolistý je mírně světlomilný druh, který preferuje zásadité podklady jako vápence, slíny, slínovce, andezity (Čepelová et Prausová 2017). Rybka et al. (2004) uvádí, že recentní lokality zvonovce většinou mají lesní nebo luční charakter, kde preferují polostinná stanoviště nebo toulavý stín s několikahodinovým sluněním. Je vytrvalá rostlina dožívající se několika desítek let.

K přečkávání nepříznivého období využívá řepovitý kořen, na němž se za vhodných podmínek zakládají nadzemní lodyhy. Přečkává tak zimní období, po němž přibližně v polovině dubna raší první stonky. Stejným způsobem přežívá i nepříznivé období v průběhu vegetační sezóny, např. za sucha (pozorováno v roce 2015 na lokalitě Vražba). Může tvořit částečnou růžici nebo soustavu několika hustě olistěných lodyh, které za příznivých podmínek dorůstají výšky kolem jednoho metru. Květenství se začínají formovat koncem května a v průběhu června. Rozvíjení květů začíná zpravidla v červenci (hlavně ve druhé polovině), rostliny dokvétají v průběhu srpna, výjimečně ještě v září. Opylení probíhá hmyzem,

větre i autogamicky. Na nejčasněji kvetoucích větvích začínají zráti toboleky, které nedozrávají ve stejnou dobu, ale postupně.

Nejvíce semen (Obr. 11) dozrává v září. Malé klíčící rostlinky dosahují rozměru 2-3 mm a mají dva zelené děložní lístky. Semenáčky, které jsou v následujícím roce v malém počtu nalézány v blízkém okolí mateřských rostlin, mají velikou mortalitu kvůli málo vyvinutému kořenovému systému a nízké konkurenceschopnosti. Mladé rostliny často hynou suchem, sešlapem, okusem, napadením houbovými organismy. S prvními mrazíky dochází k opadu listů a odumírání nadzemních lodyh. Některé suché lodyhy zůstávají holé a vzpřímené do následujícího roku (Prausová et al. 2018).



Obr. 11 Semeno zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*), stereolupa Nikon SMZ25, foto: R. Prausová, 2017

## 2 Praktická část

### 2.1 Metodika

#### 2.1.1 Testy klíčivosti

Testy klíčivosti byly realizovány se semeny rostlin bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*), rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*), zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*) v laboratoři botaniky Katedry biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové. Probíhaly od března 2017 do února 2018. Celkem bylo použito 4 400 semen a bylo provedeno 26 variant testů, které sloužily k zjištění, která varianta testu je účinná pro přerušení dormance a zda na množství vyklíčených semen má vliv uložení semen při pokojové teplotě nebo při velmi nízké teplotě (kryokonzervace). Testy klíčivosti probíhaly v termostatu za stabilních podmínek. Kontroly byly prováděny ve vysterilizovaném laminárním boxu pomocí UV lampy.

#### 2.1.2 Původ, sběr, uložení semen

Semena rostlin byla sklízena za jejich dostatečné zralosti v kulturách. Původ semen jednotlivých rostlin je uveden níže.

##### bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)

Ve všech variantách testu klíčivosti byla použita semena sbíraná v roce 2017 ve sbírce vodních rostlin v BÚ AV ČR v Třeboni.

##### rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)

V testech klíčivosti byla použita semena z let 2015 a 2016 pocházející ze sbírky vodních a mokřadních rostlin v BÚ AV ČR v Třeboni.

##### zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)

Ve variantách testu klíčivosti byla použita semena z roku 2016 získaná z kultury vypěstované ze semen z PP Vražba.

Pro polovinu testů klíčivosti byla sklizená semena uskladněna v papírových sáčcích při pokojové teplotě  $21 \pm 1$  °C. Pro druhou polovinu testů byla použita semena



uskladněná v hlubokomrazicím boxu při teplotě -80 °C ve Fakultní nemocnici Hradec Králové.

### **2.1.3 Ošetření semen**

#### bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)

Před realizací testů byla semena ošetřena v roztoku Sava s destilovanou vodou v poměru 1:1. Semena byla v tomto roztoku ponořena 2 minuty. Poté byla dána do jemného sítko a promyta proudem destilované vody. Následně byla vkládána do živných roztoků I a III.

#### rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)

Semena byla před založení testu ošetřena dezinfekčním roztokem Sava (1:1) po dobu 5 minut a následně kultivována.

#### zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)

Semena byla před založení testu ošetřena přípravkem 0,3% roztokem přípravku Previcur. Semena byla ponořena v přípravku na dobu 30 minut. Po ošetření byla semena vkládána do květináčů se zeminou nebo do Petriho misek.

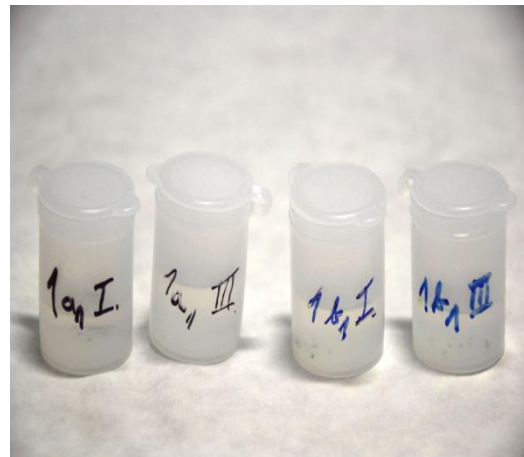
### **2.1.4 Postupy při zakládání testů**

#### bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)

Realizace testů byla prováděna ve sterilním prostředí laminárního boxu. Zde byla semena převedena pomocí vysterilizované pinzety do nádobek se živnými roztoky I a III. K testům bublinatky obecné bylo použito 2400 semen, z toho 1200 semen skladovaných při pokojové teplotě (suchá semena) a 1200 semen skladovaných v hlubokomrazicím boxu při teplotě -80 °C (zmražená semena). Na každou variantu testu bylo použito vždy 100 semen (Tab. 1).

Testy určené pro variantu ve tmě byly realizované v plastových uzavíratelných nádobkách. Pro varianty testu na světle byly použity uzavíratelné skleněné nádobky (Obr. 12). Do každé nádobky bylo umístěno 20 semen, tj. Jedna varianta testu probíhala v 5 nádobkách. Složení živných roztoků bylo následující: roztok I

(0,5 mM KCl + 0,1 mM CaCl<sub>2</sub> + 0,1 mM MgSO<sub>4</sub>), roztok II (0,5 mM KHCO<sub>3</sub> + 0,1 mM CaCl<sub>2</sub>, + 0,1 mM MgSO<sub>4</sub>). Nádoby s variantami testu byly řádně označeny. Varianty se zmrazenými semeny po dobu 2 a 4 měsíců byly převedeny do termostatu a kultivovány při teplotě 21±1 °C. Semena ve variantách testu s tepelnou stratifikací byla nejdříve ponechána na týden v termostatu při teplotě 30 °C. Poté byla přenesena do termostatu. V termostatu byla nastavená světelná perioda 16 hodin světlo a 8 hodin tma, teplotní perioda 21 °C ve dne a 15 °C v noci.



Obr. 12 Způsob kultivace semen ve variantách světlo a tma, foto: autorka, 2017

Tab. 1 Varianty testu tma a světla: *Utricularia vulgaris*

	označení variant	termín	světelné poměry	suché		zmrazené	
Kontrola	ks1-ks5	1. 10. 2017 - 1. 12. 2017	světlo	100	100		
	kt1-kt5	1. 10. 2017 - 1. 12. 2017	tma	100	100		
Klíčení po zmrazení 2 měsíce	1a1-1a5 (suché) 1b1-1b5 (zmrazené)	30. 10. 2017 - 28. 12. 2017	světlo	100	100	100	100
	1a1-1a5 (suché) 1b1-1b5 (zmrazené)	25. 10. 2017 - 16. 1. 2018	tma	100	100	100	100
Klíčení po zmrazení 4 měsíce	2a1-2a5 (suché) 2b1-2b5 (zmrazené 2)	30. 10. 2017 - 28. 12. 2017	světlo	100	100	100	100
	2a1-2a5 (suché) 2b1-2b5 (zmrazené)	25. 10. 2017 - 16. 1. 2018	tma	100	100	100	100
Klíčení po teplé stratifikaci 30°C	3a1-3a5 (suché) 3a1-3a5 (zmrazené)	31. 10. 2017 - 28. 12. 2017	světlo	100	100	100	100
	3a1-3a5 (suché) 3b1-3b5 (zmrazené)	25. 10. 2017 - 16. 1. 2018	tma	100	100	100	100

rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)

Realizace testů byla prováděna ve sterilní prostředí laminárního boxu. Semena byla převedena pomocí vysterilizované pinzety do nádobek s vysterilizovanou vodou z řeky Orlice. Při testech bylo použito 800 semen rdestu dlouholistého (Tab. 2). Do jedné sklenice bylo vkládáno 50 semen (Obr. 13), tj. 1 varianta testu probíhala ve 2 sklenicích. Hrdlo sklenic bylo přelepeno vysterilizovanou parafilmovou páskou. Sklenice byly řádně označeny. Varianty testu se studenou

stratifikací byly ponechány 1 měsíc v lednici při teplotě 8 °C, poté byly přeneseny na 14 dní na okno laboratoře a následně byly přeneseny do termostatu. V termostatu ke kultivaci byla nastavená světelná perioda 16 hodin světlo a 8 hodin tma, teplotní perioda 21 °C ve dne a 15 °C v noci.



Obr. 13 Způsob uložení semen ke kultivaci, foto: autorka, 2017

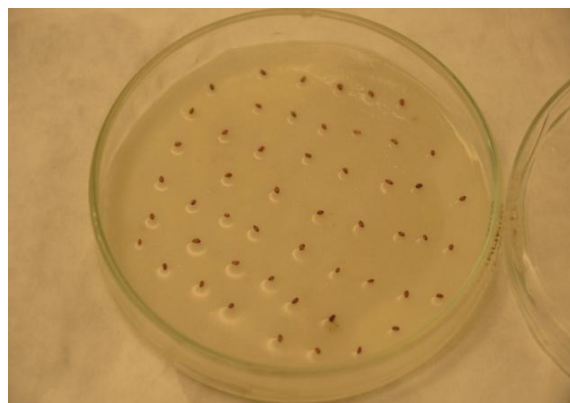
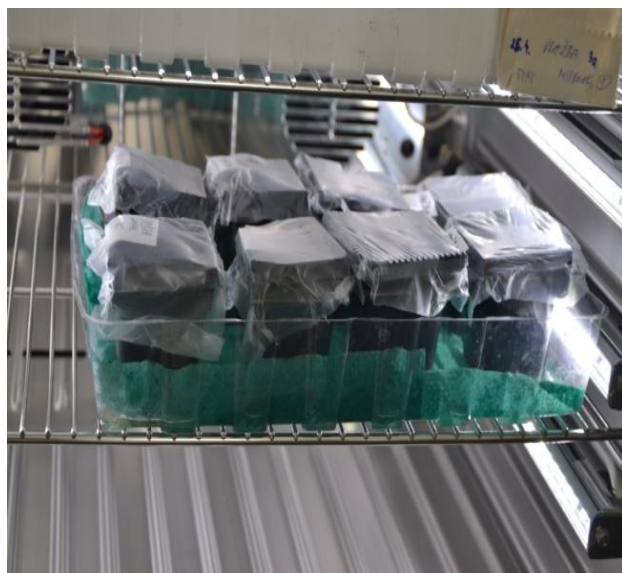
Tab. 2 Varianty testu: *Potamogeton praelongus*

	označení testu		termín	suché		zmrazené	
				2015	2016	2015	2016
klíčení ve vodě z Orlice (kontrola)	1a1-1a5 (suché)	2a1-2a5 (suché)	21. 3. 2017				
	1b1-1b5 (zmrazené) (2016)	2b1-2b5 (zmrazené) (2015)	- 5. 6. 2017	100	100	100	100
studená stratifikace	3a1-3a5 (suché)	4a1-4a5 (suché)	23. 3. 2017				
	3b1-3b5 (zmrazené) (2016)	4b1-4b5 (zmrazené) (2015)	- 5. 6. 2017	100	100	100	100

zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)

Testy byly prováděny ve sterilní prostředí laminárního boxu. K realizaci testů bylo použito 1 200 semen (Tab. 3). Vysterilizovanou pinzetou byla semena přenesena

na filtrační papír do sterilních Petriho misek (Obr. 14), a to u variant testů: kontrola, klíčení po teplé a studené stratifikaci. K navlhčení filtračního papíru byla použita destilovaná voda. Do jedné Petriho misky bylo uloženo 50 semen, tj. 1 varianta testu klíčivosti probíhala ve dvou Petriho miskách (celkem 100 semen). Obvod Petriho misky byl zalepen sterilní parafilmovou páskou, aby nedocházelo k vysychání. Varianta testu č. 1. probíhala v termostatu při teplotě 21 °C. Varianta testu klíčení po teplé a studené stratifikaci byla nejdříve na týden ponechána v termostatu při teplotě 30°C k teplé stratifikaci, pak byla přenesena do lednice ke studené stratifikaci při teplotě 8 °C po dobu 1 měsíce a následně přenesena do termostatu ke kultivaci při teplotě 21±1 °C. Varianta testů klíčivosti v substrátu byla zakládána do vysterilizovaných květináčů s vysterilizovanou zemínou pocházející z lokalita Vražba (Obr. 14). Do každého květináče bylo pomocí pinzety uloženo 50 semen a následně překryto zemínou. Jedna varianta testu klíčení v půdním substrátu byla pravidelně zalévána destilovanou vodou. Druhá varianta klíčení v půdním substrátu byla zalévána roztokem kyseliny gibberelové (10 mg/l). V termostatu ke kultivaci byla nastavená světelná perioda 16 hodin světlo a 8 hodin tma, teplotní perioda 21 °C ve dne a 15 °C v noci.



Obr. 14 Způsob uložení semen ke kultivaci, vlevo – půdní substrát, vpravo – P-misky, foto: autorka, 2017

Tab. 3 Varianty testu: *Adenophora liliifolia*

	<b>označení testu</b>	<b>termín</b>	<b>suché</b>	<b>zmrazené</b>
klíčení v půdním substrátu	2a1-2a2 (suché) 2b1- 2b2 (zmrazené)	4. 5. 2017- 3. 7. 2017	100	100
klíčení v půdním substrátu za působení kyseliny giberelové	3a1-3a2 (suché) 3b1-3b2 (zmrazené)	4. 5. 2017- 3. 7. 2017	100	100
klíčení po teplé a studené stratifikaci	4a1-4a2 (suché) 4b1- 4b2 (zmrazené)	5. 12. 2017- 5. 2. 2018	100	100

### 2.1.5 Kontrola klíčivosti semen

Testy byly kontrolovány jednou až dvakrát týdně. Aby nedošlo v Petriho miskách k vysušení filtračního papíru a semen, byla pravidelně zalévána sterilizovanou vodou, případně byl dodáván do květináčů roztok kyseliny giberelové. Pravidelně byly sledovány známky kontaminace mikroorganismy. Kontaminovaná semena byla odstraňována. Vyklíčená semena byla po zaznamenání přesazována do jiných nádoby k dopěstování.

### 2.1.6 Vyhodnocení testů

K vyhodnocení úspěšnosti testů klíčivosti byly použity kontingenční tabulky a log-lineární modely. Nejdříve byly provedeny samostatné analýzy, které prostřednictvím kontingenčních tabulek testovaly vliv jednotlivých faktorů ovlivňujících klíčení (způsob skladování, chemické složení kultivačního roztoku, světelné podmínky kultivace, ošetření semen před testem klíčivosti). Následně byl testován vliv kombinace faktorů. Použit byl jak parciální tak marginální Chí-kvadrát test. Poslední analýza byla zaměřena na celkový test průkaznosti modelu s využitím Chí kvadrát testu - Tests Section. Veškeré statistické analýzy byly provedeny v programu NCSS (Hintze 2001).

## 2.2 Výsledky

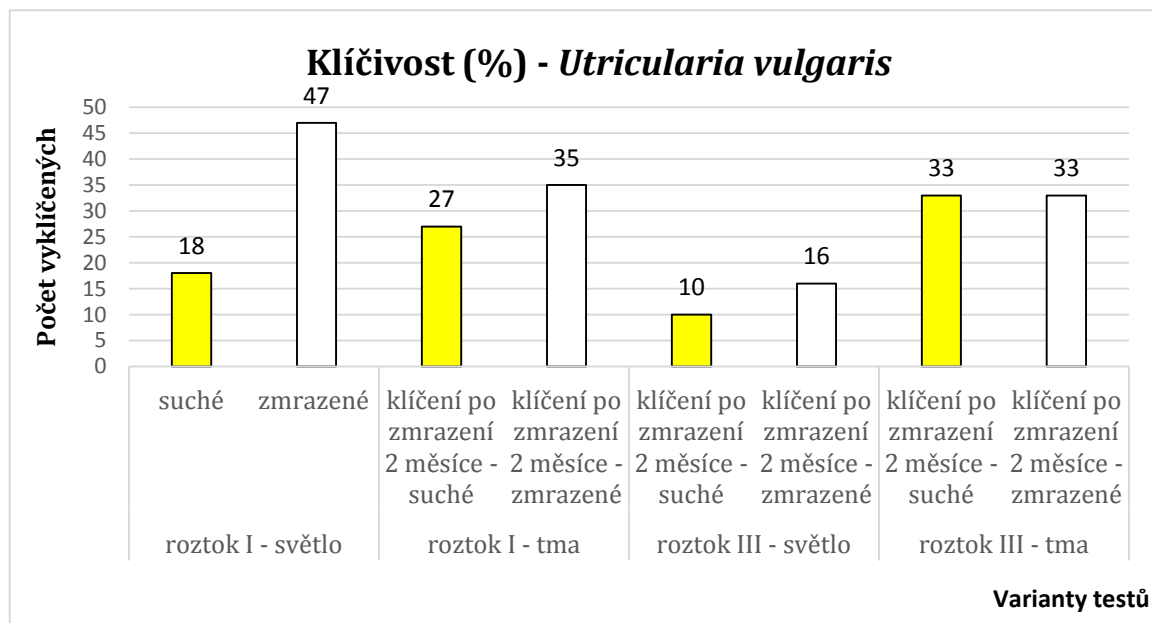
### 2.2.1 Bublinatka obecná (*Utricularia australis*)

Vzhledem k rozsáhlosti testů klíčivosti a získaných výsledků (Tab. 4, Obr. 15), byla při statistickém testování použita vícecestná analýza, v níž byly testy průkazné až do 4. úrovně (Tab. 5). Při testování významnosti působení jednotlivých faktorů (tj. způsob uložení semen, složení kultivačního roztoku, světelné podmínky, způsob ošetření před testem) vyšly průkazně všechny faktory včetně jejich interakcí (Tab. 6). Nejlepšími testovanými modely ( $P=0,0972$ ) byly: AE (roztok I nebo III), ABC (kombinace: roztok I nebo III, ošetření zásahu před testem), AD (světlo/tma). Z výsledků testů klíčivosti tedy vyplývá, že semena uložená v hlubokomrazicím boxu mají lepší klíčivost než semena uskladněná při pokojové teplotě. Nejlepší klíčivost se projevila ve variantě testů na světle. Semena testovaná v živném roztoku I klíčila lépe než v roztoku III.

Tab. 4 Výsledky testů klíčivosti bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)

		1	2	3	4	5	klíčivost (ze 100 semen)
roztok I, světlo	kontrola - suché	0	0	0	0	1	1
roztok I, tma	kontrola - suché	0	0	0	0	2	2
roztok III, světlo	kontrola - suché	0	0	0	0	0	0
roztok III, tma	kontrola - suché	0	0	0	0	0	0
roztok I	klíčení po zmrazení 2 měsíce - suché	0	2	0	0	3	5
světlo	klíčení po zmrazení 2 měsíce - zmrazené	0	0	4	0	0	4
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - suché	0	0	0	0	1	1
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - zmrazené	0	0	8	0	8	16
	klíčení po teplé stratifikaci - suché	7	0	3	0	0	11
	klíčení po teplé stratifikaci - zmrazené	7	3	10	0	6	26
roztok I	klíčení po zmrazení 2 měsíce - suché	0	2	0	0	0	2
tma	klíčení po zmrazení 2 měsíce - zmrazené	10	0	6	0	1	17
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - suché	0	0	0	1	3	4
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - zmrazené	0	0	4	0	0	4
	klíčení po teplé stratifikaci - suché	7	6	3	5	5	25
	klíčení po teplé stratifikaci - zmrazené	6	2	2	1	0	11
roztok III	klíčení po zmrazení 2 měsíce - suché	0	0	0	0	0	0
světlo	klíčení po zmrazení 2 měsíce - zmrazené	2	0	0	0	0	2
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - suché	0	0	0	0	0	0
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - zmrazené	0	0	0	0	2	2
	klíčení po teplé stratifikaci - suché	5	4	0	0	0	9

		1	2	3	4	5	klíčivost (ze 100 semen)
	klíčení po teplé stratifikaci - zmrazené	2	0	0	0	13	15
roztok III	klíčení po zmrazení 2 měsíce - suché	0	0	0	0	0	0
tma	klíčení po zmrazení 2 měsíce - zmrazené	8	1	2	1	0	12
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - suché	3	3	0	0	0	6
	klíčení po zmrazení 4 měsíce - zmrazené	0	0	3	1	3	7
	klíčení po teplé stratifikaci - suché	8	5	1	0	0	14
	klíčení po teplé stratifikaci - zmrazené	0	0	3	4	4	11



Obr. 15 Výsledky klíčivosti testů bublinatky obecné ve variantě světlo, tma

K-Terms	DF	Like. Ratio	Prob	Pearson	Prob
		Chi- Square	Level	Chi- Square	Level
1WAY & Higher	47	3179,76	0	3061,72	0
2WAY & Higher	41	836,47	0	693,7	0
3WAY & Higher	27	59,36	0,0003	54,94	0,0012
4WAY & Higher	11	21,07	0,0327	23,52	0,0149
5WAY & Higher	2	0,21	0,9021	0,22	0,8949

Tab. 5 Vícecestná analýza testů klíčivosti (Multiple-Term Test Section) bublinatky obecné, průkazné testy jsou zbarveny žlutě



Tab. 6 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) bublinatky obecné, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem, D – světlo/tma, E – kultivační roztok I nebo III), průkazný test při testování jednotlivých faktorů – tučně, nejlepší testované modely – červeně)

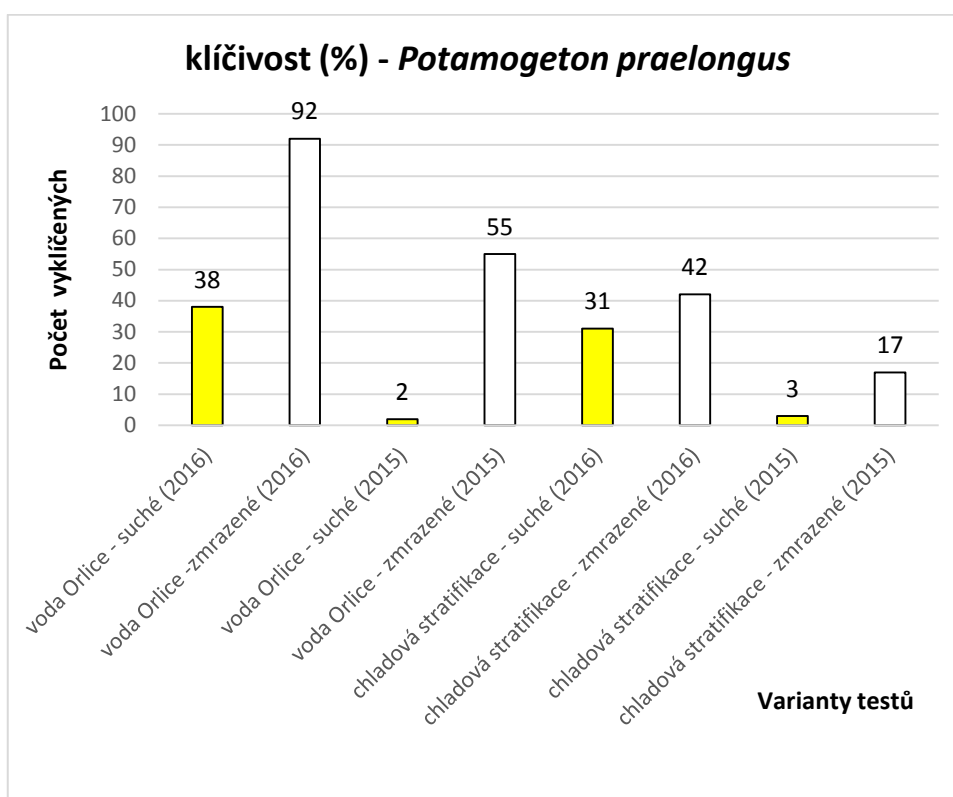
Effect	DF	Partial	Prob	Marginal	Prob
		Chi-Square	Level	Chi-Square	Level
<b><u>AB</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>9</u></b>	<b><u>0,0027</u></b>	<b><u>13,37</u></b>	<b><u>0,0003</u></b>
<b><u>AC</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>67,35</u></b>	<b><u>0</u></b>	<b><u>71,33</u></b>	<b><u>0</u></b>
AD	1	3,18	0,0743	3,06	0,0803
<b><u>AE</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>12,77</u></b>	<b><u>0,0004</u></b>	<b><u>12,31</u></b>	<b><u>0,0004</u></b>
<b><u>ABC</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>18,74</u></b>	<b><u>0,0001</u></b>	<b><u>14,93</u></b>	<b><u>0,0006</u></b>
<b><u>ABD</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>8,77</u></b>	<b><u>0,0031</u></b>	<b><u>7,17</u></b>	<b><u>0,0074</u></b>
<b><u>ACD</u></b>	<b><u>2</u></b>	<b><u>8,24</u></b>	<b><u>0,0162</u></b>	<b><u>7,37</u></b>	<b><u>0,0251</u></b>
<b><u>ADE</u></b>	<b><u>1</u></b>	<b><u>4,39</u></b>	<b><u>0,0362</u></b>	3,58	0,0583

### 2.2.2 Rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)

Ve 3 variantách (ze 4) testů klíčivosti rdestu dlouholistého (Tab. 7, Obr. 16) dosahovala semena lepších výsledků klíčivosti při uskladnění v hlubokomrazicím boxu než při pokojové teplotě. Lépe v testech klíčila semena kultivovaná ve vodě z řeky Orlice než semena, která navíc prošla studenou stratifikací. Při testování významnosti působení jednotlivých faktorů (tj. způsob uložení semen, způsob ošetření před testem) vyšly průkazně všechny faktory včetně jejich interakcí (Tab. 8). Semena rdestu dlouholistého získaná z roku 2016 měla ve všech testech klíčivosti větší úspěšnost klíčení. Nejlepší variantou testu byla kultivace zmrazených semen z roku 2016 ve vodě z řeky Orlice. Nejméně klíčila v testech klíčivosti semena sklizená v roce 2015, a to zejména ta, která prošla studenou stratifikací.

Tab. 7 Výsledky testů klíčivosti rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*)

	1. sklenice	2. sklenice	Klíčivost (%)
kontrola - voda Orlice - suché (2016)	28	10	38
kontrola - voda Orlice - zmrazené (2016)	44	48	92
kontrola - voda Orlice - suché (2015)	1	1	2
kontrola - voda Orlice - zmrazené (2015)	44	11	55
studená stratifikace - suché (2016)	20	11	31
studená stratifikace - zmrazené (2016)	21	21	42
studená stratifikace - suché (2015)	1	2	3
studená stratifikace - zmrazené (2015)	0	0	0



Obr. 16 Testy klíčivosti rdestu dlouholistého různého staří semen

Tab. 8 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) rdestu dlouholistého, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem)

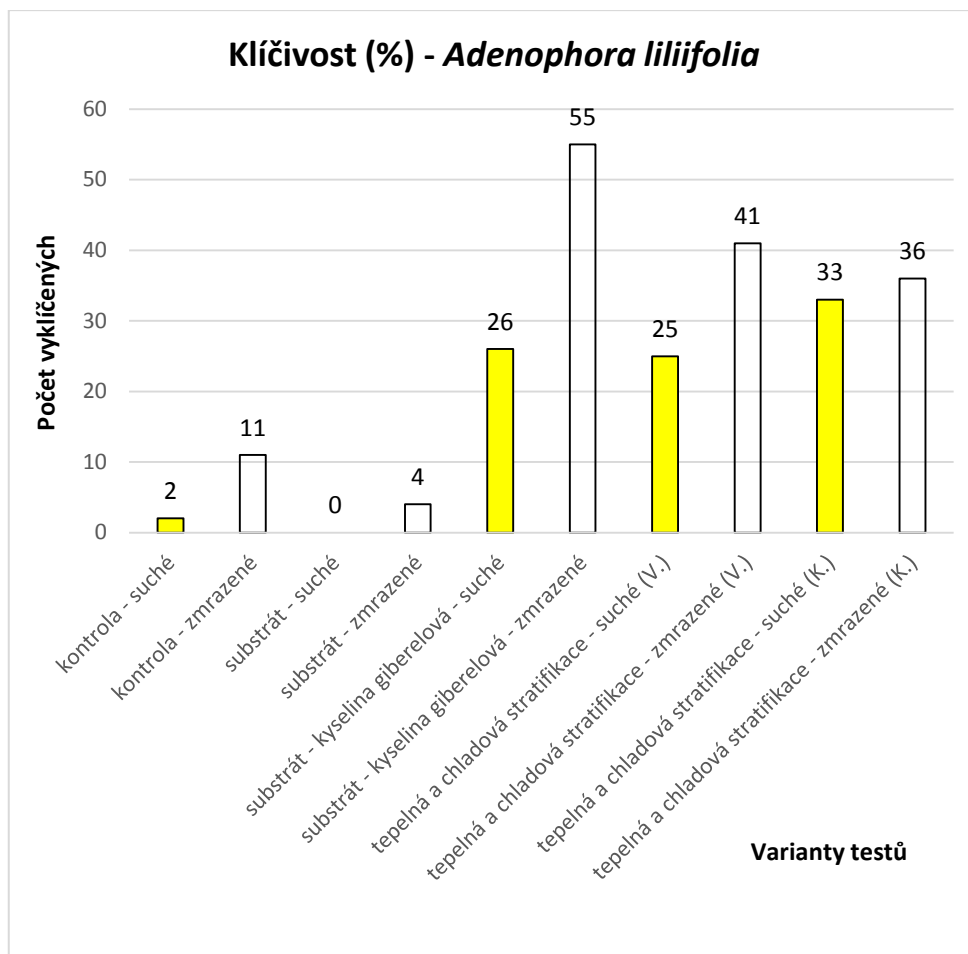
Effect	DF	Partial	Prob	Marginal	Prob
		Chi-Square	Level	Chi-Square	Level
A (pot_kliceni)	1	95,57	0	95,57	0
B (pot_ulozeni)	1	0	1	0	1
C (pot_zasah)	3	0	1	0	1
AB	1	101,77	0	76,64	0
AC	3	245,65	0	220,52	0
BC	3	25,13	0	0	1
ABC	3	56,02	0	56,02	0

### 2.2.3 Zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)

V testech klíčivosti (Tab. 9, Obr. 17) nejlépe klíčila semena zvonovce uložená v hlobokomrazicím boxu a následně přenesená do půdního substrátu, v němž byla pravidelně zalévána kyselinou gibereovou. Naopak semena zvonovce liliolistého skladovaná nasucho při pokojové teplotě a následně přenesená do půdního substrátu, v němž byla pravidelně zalévána destilovanou vodou, neklíčila vůbec. Při testování významnosti působení jednotlivých faktorů (tj. způsob uložení semen, způsob ošetření před testem) vyšly průkazně všechny faktory včetně jejich interakcí (Tab. 10).

Tab. 9 Výsledky testů klíčivosti zvonovce liliolistého (*Adenophora liliifolia*)

	1.miska	2. miska	celkem
kontrola - suché	1	1	2
kontrola - zmrazené	2	7	9
substrát - suché	0	0	0
substrát - zmrazené	2	2	4
substrát - kyselina gibereová - suché	8	18	26
substrát - kyselina gibereová - zmrazené	21	34	55
teplá a studená stratifikace - suché (Vražba)	12	5	17
teplá a studená stratifikace - zmrazené (Vražba)	32	15	47
teplá a studená stratifikace - suché (Karlštejn)	15	22	37
teplá a studená stratifikace - zmrazené (Karlštejn)	21	12	33



Obr. 17 Varianty testů klíčivosti zvonovce liliolistého v půdním substrátu a Petriho miskách

Tab. 10 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) zvonovce liliolistého, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem)

Effect	DF	Partial	Prob	Marginal	Prob
		Chi-Square	Level	Chi-Square	Level
A (aden_kliceni)	1	307,05	0	307,05	0
B (aden_ulozeni)	1	0	1	0	1
C (aden_zasah)	4	0	1	0	1
AB	1	28,95	0	24,78	0
AC	4	177,54	0	173,37	0
BC	4	4,17	0,383	0	1
ABC	4	20,29	0,0004	20,29	0,0004

### 3 Diskuze

Testy klíčivosti všech druhů (bublinatka obecná, rdest dlouholistý, zvonovec liliolistý) ukázaly na pozitivní význam uložení semen vodních i terestrických rostlin při nízkých teplotách (hlubokomrazicí box – teplota -80 °C) pro jejich následnou klíčivost. U všech druhů vyšly průkazně též způsoby ošetření semen před zásahem, v čemž se pozitivně projevil výběr variant ošetření podle výsledků předchozích studií (Bajerová 2015, Holzbauerová 2015, Janová 2010, Prausová et al. 2013, Sikorová 2013).

#### **bublinatka obecná (*Utricularia vulgaris*)**

Holzbauerová (2015) udává, že při testech klíčivosti semen bublinatky obecné, která byla skladována jako suchá, se neprojevila snížená klíčivost. Z výsledků aktuálních testů vyplývá, že suchá semena bublinatky obecné skladovaná při pokojové teplotě mají menší klíčivost, než semena skladovaná v hlubokomrazicím boxu.

Semena vodních rostlin pro klíčení potřebují vhodné světelné podmínky (Baskin et Baskin 1998). V testech Holzbauerové (2015) i v aktuálních testech se prováděly testy klíčivosti semen bublinatky obecné ve dvou různých světelných variantách tj. světlo a tma. Holzbauerová (2015) uvádí, že semena ke klíčení vyžadují vhodné světelné podmínky, které se ve všech variantách jejich testů potvrdily, a naopak semena ve variantě tma vykazovala minimální klíčivost. V aktuálních testech byl také prokázán význam světla pro klíčení semen bublinatky obecné. Jestliže semena ve tmě vyklíčila, klíčící rostlinky byly bělavé a průsvitné barvy. Semena bublinatky klíčila ve tmě po ošetření teplou stratifikací, méně též po převedení semen z krátkodobého zamrazení do vyšších teplot při kultivaci.

Pro přerušování dormance při studené stratifikaci semen v období zimy potřebuje bublinatka obecná teplotní optima v době jara při přijatelných světelných podmínkách (Baskin et Baskin 1998). Studnička (1990) uvádí, že semena a turiony bublinatky obecné potřebují ke svému přezimování chladnější období. Za přijatelných podmínek turiony vyplavou na vodní hladinu. Holzbauerová (2015) uvádí, že semena dosáhla dobré klíčivosti, pokud byla vystavena mrazu po dobu 14

dní. U kontrolních variant testů, ve kterých semena nebyla vystavena studené stratifikaci nebo mrazu, měla semena malou klíčivost. Podle Holzbauerové (2015) byly též úspěšné varianty klíčivosti: 1) vystavení semen 14 dní mrazu a poté 14 dní ponechání v lednici, 2) stratifikace mrazem (1měsíc), následná kultivace při teplotě  $\pm 25$  °C při světelné periodě. Z aktuálních testů vyplývá, že semena bublinatky uložená v hlubokomrazicím boxu mají lepší klíčivost, než semena skladovaná na sucho při pokojové teplotě. Úspěšná klíčivost semen se projevila také u variant testů s tepelnou stratifikací semen.

Holzbauerová (2015) uvádí, že nejvíce vyklíčených semen bublinatky obecné bylo zjištěno v živném roztoku II o složení  $0.5 \text{ mM KHCO}_3 + 0.1 \text{ mM CaCl}_2 + 0.1 \text{ mM MgSO}_4$  (pH cca 8.0). V aktuálních testech klíčivosti byly použity roztoky I a III s modifikovaným složením včetně mírně odlišné pH reakce (viz metodika). Lepší klíčivosti dosahovala semena v živném roztoku I než v roztoku III. K neúspěšnějším variantám testů klíčivosti patřilo klíčení v roztoku I za světla, při teplé stratifikaci i za tmy. Úspěšná klíčivost byla zjištěna i u některých variant v živném roztoku III, a to v případě teplé stratifikace i ve variantě tma. Holzbauerová (2015) uvádí, že komplexní statistické testy nepotvrdily vliv chemického složení kultivačních živných roztoků na klíčivost semen. Příčinou byly podle ní odlišné teploty kultivace  $\pm 21$  °C,  $\pm 25$  °C ve variantách testů. V aktuálních testech vliv složení roztoku na klíčivost semen vyšel signifikantní.

### **rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*)**

Způsob uchování semen před realizací testů klíčivosti má vliv na klíčivost semen. Nízké teploty mohou mít negativní vliv na klíčivost semen rdestů (Teltschrová et Hejný 1973). Janová (2010) nechala semena na 36 hodin v mrazicím boxu a v testech klíčivosti došla k podobnému závěru jako předchozí autoři, protože zmrazená semena neklíčila. Guppy (1984-1897) ze svých testů klíčivosti na rdestu vyvodil, že semena jsou schopna klíčit po několikaměsíčním vysušení.

Sikorová (2013) ve svých testech klíčivosti udává, že záleží na způsobu uchování semen po jejich sběru. Podle ní mají lepší klíčivost taková semena, která jsou skladovaná ve vodě. Lépe klíčí i semena zavodněná, kdy jsou semena po sběru vysušená a skladovaná při pokojové teplotě  $21 \pm 1$  °C, před zakládáním testů jsou

po dobu jednoho měsíce zavodněna vodou. Dále se autorka domnívá, že postupné vysychání semen může vést k oslabení obalů semene (Sikorová 2013) a vysušená semena pak po nabobtnání mohou lépe klíčit.

Testy klíčivosti v rámci této diplomové práce byly realizovány s vysušenými semeny, které se lišily způsobem uložení. Jeden způsob uložení semen byl při pokojové teplotě  $21 \pm 1$  °C, druhý způsob uložení suchých semen spočíval v uložení v hlubokomrazicím boxu při teplotě -80 °C. Z aktuálních výsledků vyplývá, že vysušená a následně kryokonzervací skladovaná semena jsou schopna klíčit. Semena uložená v hlubokomrazicím boxu mají lepší úspěšnost klíčení, než semena uložená při pokojové teplotě. Vliv faktoru způsob skladování na klíčivost semen vyšel statisticky průkazný.

Zajímavé je, že lépe klíčila semena sklizená v předchozí vegetační sezóně 2016, než semena starší (rok 2015). Použitá semena rdestu dlouholistého z roku 2016 při skladování na sucho při pokojové teplotě měla klíčivost 34,5 % a zmrazená semena 67 %. Použitá semena rdestu dlouholistého z roku 2015 uskladněná na sucho při pokojové teplotě vyklíčila na 2,5 % a zmrazená semena vyklíčila na 36 %. Kincl et Krpeš (2000) uvádějí, že se klíčivost semen se stářím snižuje. Sikorová (2013) při porovnávání klíčivosti čerstvých a jeden rok skladovaných semen zjistila, že starší semena klíčila lépe. Po tříměsíční kultivaci čerstvých semen jí vyklíčilo 0,67 %, zatímco ze semen skladovaných jeden rok vyklíčilo za stejnou dobu 4,17 %. Sikorová (2013) dospěla k závěru, že roční skladování semen má pozitivní vliv na jejich klíčivost, zatímco u čerstvých semen se teprve dokončuje zrání zárodku a uplatňuje se fyziologická dormance. Z aktuálních výsledků testů v této DP vyplývá, že semena skladovaná déle než 1 rok pravděpodobně snižují svoji klíčivost. Tento faktor nebyl statisticky hodnocen.

Janová (2010) uvádí, že nejlepší metoda pro přerušování dormance semen rdestu dlouholistého je studená stratifikace. Semena měla uložena na dva a půl měsíce před testem v lednici a poté 14 dní v pokojové teplotě. Sikorová (2011) zjistila vysokou klíčivost u semen uskladněných v uzavíratelných láhvích v lednici za nedostatku světla a následně přenesených do pokojové teploty. Usoudila, že je to nejlepší a v přírodě nejpravděpodobnější způsob přerušování dormance, jelikož semena v průběhu zimního období projdou nižší teplotou (za menšího přísunu

kyslíku a za nedostatku světla). Z aktuálních testů klíčivosti rdestu dlouholistého vychází, že semena kultivovaná ve vodě z Orlice klíčí lépe než semena ovlivněná studenou stratifikací. Faktor způsobu ošetření semen vyšel statisticky průkazný.

Sikorová (2011) uvádí, že vyšší klíčivosti semen rdestu dlouholistého při laboratorních testech lze docílit nejen studenou stratifikací, ale i narušením obalů plodu a semene, např. přípravkem Savo (5% roztok chlornanu sodného). Janová (2010) uvádí, že u semen, která byla krátkodobě (2 hodiny) ošetřena roztokem Sava, nedošlo k narušení vnitřních vrstev semen, tudíž nedošlo ke stimulaci klíčení. Naopak, při delším působení Sava (48 hodin) se pozitivní účinek na klíčení semen projevil. Autorka ale přistoupila ke snížení koncentrace Sava ze 100 % na 50 % a nakonec až na 25 %, protože účinek 100% Sava vedlo k zastavení růstu klíčku. Prausová et al. (2013) uvádí, že Savo nejprve naruší povrchové struktury semene, proto dochází ke klíčení semen. Při delším působení však Savo může působit negativně, protože kromě vnějších vrstev proniká i do vnitřních vrstev semene a do embrya a klíčení ani růst klíčících rostlin následně nepokračuje.

Janová (2010) a Sikorová (2013) využily aplikaci roztoku Sava k dezinfekci semen, to znamená, že ošetřovaly semena ve všech variantách testů osvědčeným slabým roztokem Sava za účelem snížení kontaminace testů mikroorganismy. V aktuálních testech klíčivosti byla semena také ošetřována před založením testu klíčivosti roztokem Sava (1:1) po dobu 5 minut za účelem sterilizace, následně byla kultivována.

### **zvonovec liliolistý (*Adenophora liliifolia*)**

Bajerová (2015) ve své bakalářské práci o zvonovci liliolistém zmiňuje velký problém kontaminace semen i po ošetření přípravkem Savo. Proto v aktuálních testech klíčivosti byla semena zvonovce ošetřena fungicidním přípravkem Previcur (viz metodika).

Klíčivost semen ovlivňuje několik faktorů: doba sběru semen, stav zralosti semen a uskladnění semen (Bajerová 2015). V aktuálních testech klíčivosti byl testován vliv uskladnění a způsob ošetření semen před testy klíčivosti. Oba tyto faktory i jejich kombinace vyšly statisticky průkazné.



Bajerová (2015) uvádí, že převedení semen po dobu 7 dní do hlubokomrazicího boxu není pro klíčivost semen pozitivní, protože při inkubaci 21 °C v jejích testech nevyklíčilo žádné semeno. Naopak z testů klíčivosti v této diplomové práci vyplývá, že lépe klíčila semena uskladněná v hlubokomrazicím boxu při teplotě -80 °C. Vliv faktoru skladování semen před testy klíčivosti byl statisticky průkazný. Ke stejnému závěru dospěl i Puchalski et al. (2014), který uchovával semena po dobu 30 dnů při ultra nízké teplotě -160 °C. Lepší klíčivost se projevila u semen, která byla uchována okamžitým zmrazením při ultra nízké teplotě (klíčivost 52 %), než u semen u kterých byla při zamrazování teplota postupně snižována o 0,5 °C za minutu (43 %). Bajerová (2015) udává, že semena v jejích testech nebyla pravděpodobně vystavena dostatečně nízkým teplotám, aby došlo k úplnému zničení mikroorganismů přítomných na semenech.

Bajerová (2015) i Truhlářová (2008) se shodují, že semena, která jsou vystavena vyšším teplotám, mají lepší klíčivost. Bajerová (2015) zaznamenala lepší klíčivost semen zvonovce liliolistého u variant kultivace při teplotě  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  (27 %), než u varianty při teplotě  $\pm 21^{\circ}\text{C}$  (17 %). V aktuálních testech klíčivosti zvonovce liliolistého byla semena vystavena kombinaci teplé a studené stratifikace. Nejdříve byla semena na týden ponechána v termostatu při teplotě 30 °C k teplé stratifikaci, pak byla přenesena do lednice ke studené stratifikaci při teplotě 8 °C po dobu 1 měsíce a následně přenesena do termostatu ke kultivaci při teplotě  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Semena, která byla vystavena teplotním změnám (semena s teplou a studenou stratifikací), mají lepší klíčivost, než semena kultivovaná pouze v termostatu při teplotě  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

V aktuálních testech klíčivosti semen zvonovce liliolistého bylo kromě kultivace na vlhkém filtračním papíře v Petriho miskách použito též klíčení semen ve vysterilizovaném půdním substrátu v květináčcích. Jedna varianta byla pravidelně zalévána destilovanou vodou. Druhá varianta byla pravidelně zalévána roztokem kyseliny gibberelové. Dobrá klíčivost semen byla zjištěna u semen uskladněných v hlubokomrazicím boxu, než při pokojové teplotě. Nejlepší výsledky klíčivosti semen byly zaznamenány ve variantě testu se semeny, která byla uskladněna v hlubokomrazicím boxu, poté přenesena do půdního substrátu s pravidelnou zálivkou roztokem kyseliny gibberelové. Naopak ve variantě testu se

semeny skladovanými v hlubokomrazicím boxu, následně přenesenými do půdního substrátu a pravidelně zalévanými destilovanou vodou žádná semena nevyklíčila. Dobrá klíčivost semen ošetřených kyselinou gibberelovou potvrzuje závěry Hopkinse (1995) o pozitivním působení exogenní aplikace gibberelinů na klíčení semen a mobilizaci rezerv endospermu.

Truhlářová (2008) uvádí, že semena zvonovce liliolistého začínají klíčit do 1 týdne od založení testů. V testech Bajerové (2015) klíčení semen probíhalo od prvního do čtvrtého týdne od založení testů. Aktuální testy klíčivosti potvrzují závěry Bajerové (2015), protože největší klíčivost byla zaznamenána mezi druhým až čtvrtým týdnem od založení testů.

## 4 Závěr

Diplomová práce se zabývá studiem významu zamrazení semen terestrických a vodních rostlin pro uchování schopnosti klíčivosti semen v laboratorních podmínkách. Práce obsahuje popis jednotlivých testovaných rostlin, jejich celosvětové rozšíření a výskyt v ČR, dále jejich ekologické nároky a podmínky, které potřebují pro klíčení semen.

Výsledky vlastních testů byly porovnávány s výsledky jiných autorů, kteří se zabývali stejnou problematikou klíčivosti semen jednotlivých druhů. Obecně z aktuálních testů klíčivosti semen terestrických a vodních rostlin vyplývá, že uložení semen v hlubokomrazicím boxu je dobrá metoda, která zvyšuje úspěšnost klíčivosti semen ve srovnání se semeny uchovávanými při pokojové teplotě.

Z výsledků testů klíčivosti bublinatky obecné je patrné, že pro vyšší klíčivost semen za vyšší teploty, je zapotřebí teplé stratifikace. Před začátkem testů se nepředpokládalo, že by semena bublinatky klíčila i za tmy. I když vyšla vyšší klíčivost semen ve variantě světlo, v případě teplé stratifikace byla zjištěna schopnost semen klíčit i za tmy. Druh pravpodobně i v přírodě klíčí v tůních ve větších hloubkách a k světlu se dostávají až malé klíčící rostlinky, které fotosyntetizují.

V testech klíčivosti rdestu dlouholistého byla semena podrobena různým variantám testů. Nejlepší klíčivost dosahovala zmrazená semena z roku 2016 ve vodě z Orlice kultivovaná při teplotě  $21 \pm 1$  °C, jejich klíčivost byla 92 %. Dalo se předpokládat, že semena sbíraná a uskladněná z roku 2015 nebudou mít takovou klíčivost jako semena z roku 2016 (skladovaná 8 měsíců). Předpokládá se, že stářím se schopnost klíčení semen snižuje, což potvrdily i tyto testy klíčivosti se semeny z roku 2015.

V testech klíčivosti zvonovce liliolistého byla ověřena úspěšná klíčivost semen v půdním substrátu, která byla pravidelně zalévána roztokem kyseliny giberelové, podporující klíčení. Vůbec neklíčila semena skladovaná na sucho ve variantě v půdním substrátu, kde byla zalévána destilovanou vodou. Předpoklad, že tato varianta bude mít aspoň malou klíčivost, se nepotvrdila. Pravděpodobně

i v přírodních podmínkách semena klíčí až po teplé a studené stratifikaci, případně vlivem fytohormonů, např. kyseliny giberelové.

Diplomová práce se věnuje druhům, které jsou na území ČR velmi vzácné a přežívají na několika posledních lokalitách. Poznání jejich schopnosti klíčit a uchovat si klíčivost je důležité pro účinnou ochranu těchto druhů nejen pro ČR, tak i pro EU, v jejichž předpisech patří druhy také k ohroženým.

## 5 Literatura

ADAMEC., L. Zvláštnosti výživy masožravých rostlin. 2. Vodní rostliny. *Živa*. 2006, 3, s. 105-107. ISSN 0044-4812

ADAMEC., L. Naše druhy masožravých rostlin bublinatek. *Živa*. 2008, 4, s. 156-159.

ALONI, R., LANGHAMS, M., ALONI, E., DREIEICHER, E., ULLRICH C. Root-synthesized cytokinin in *Arabidopsis* is distributed in the shoot by the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany*. 2005, 56, s. 1535-1544.

AN YAN, ZHONG CHEN. The pivotal role of abscisic acid signaling during transition from seed maturation to germination. *Plant Cell Reports*. 2017, 36 (5), s. 698-703.

ASHMORE. S., HAMILTON, K., OFFORD, C. Conservation technologies for safeguarding and restoring threatened flora: case studies from Eastern Australia. *In Vitro Cellular and Development Biology- Plant*. 2011, 47, s. 99-109.

ASKOCHENSKAYA, N. A., ed. Prokofev, A. In *Seed Water Mode*. Nauka, Moscow, 1982, s. 184-222.

ATKINS, S. M., JONES, A. M., GARWOOD, P. R. The ecology and reproductive cycle of a population of *Marenzelleria viridis* in the Tay Estuary. *Proceeding of the Royal Society of Edinburgh*. 1987, 92B, s. 311-322. ISSN 0370- 1646.

ATWATER, B. R., VIVRETTE, N. J. Natural protective block in the germination of seed. *Acta horticulturae*. Ransom seed Laboratory, Carpinteria, California, 1987, s. 202.

BAJEROVÁ, A. *Studium ekologických nároků zvonovce liliolistého (Adenophora liliopholia) v podmínkách střední Evropy*. Hradec Králové, 2015. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 58 s.

BARTLEY, M. R., SPENCE, D. H. N. Dormancy and propagation in helophytes and hydrophytes. *Archiv Hydrobiol. (Beih.)* 1987, 27, s. 199-201.

BARTHLOTT, W., POREMBSKI, S., THEISEN, I. *Karnivoren. Biologie und Kultur fleischfressender Pflanzen*. 2004, Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 2004. ISBN 3-8001-4144-2.

BARTON, L. V. Dormancy in *Tilia* seed. *Contrib. Boyce Thomp, Inst.* 1934, 6, s. 69-89.

BASKIN, J. M., BASKIN C. C. Germination ecophysiology of an eastern deciduous forest herb *Styphorum diphyllum*. *The American Midland Naturalist*. 1984, 111. s. 390-399.

- BASKIN, J. M., BASKIN C. C. Seed germination ecology of poison hemlock, *Conium maculatum*. *Canadian Journal of Botany*. 1990a, 68 (9) s. 2018-2024.
- BASKIN, J. M., BASKIN C. C. Germination ecophysiology of seeds of the winter annual *Chaerophyllum tainturieri*: A new type of morphophysiological dormancy. *Journal of Ecology*. 1990b, 78 (4), s. 993-1004. ISSN 1365-2745.
- BASKIN, C. C., BASKIN, J. M. *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego: CA: Academic Press, 1998. 666 s. ISBN 0-12-0802600.
- BASKIN, J. M., BASKIN, C. C., Li. X.: Taxonomy and evolution of physical dormancy in seeds, *Plant Species Biology*, 2000. 15, s. 139-152.
- BASKIN, C. C., BASKIN, J. M. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 2004, 14, s. 1-16.
- BASKIN, C. C., BASKIN, J. M. *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Second, edi., Academic Press, 2014.
- BONNER, F. T. Storage of Seed: Potential and limitation for germplasm conservation. For. *Ecol. manag.*, 1990, 35 (1-2), s. 35-43.
- BENVENUTI, S., MACCHIA, M. Effect of hypoxia on buried weed seed germination. *Weed Res*. 1995, 35, s. 343-351.
- BERG, G., OPELT, K., ZACHOW, C., LOTTMANN, J., GÖTZ M., COSTA, R.; SMALLA, K., The rhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. *FEMS Microbiol Ecol*. 2005, 56, s. 250-261.
- BEWLEY, J. D., BLACK, M. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Berlin: Plenum Press, 1994. ISBN 978-0-306-44747-1
- BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 1997, 9, s. 1055–1066.
- BEWLEY, J. D. [ed.] *Seed: Physiology of Development, Germination and Dormancy*, 3rd Edition, © Springer+ Business Media LLC, 2013. ISBN 978-1-4614-4693-4–6.
- CAMPBELL, N. A., REECE J. B. *Biologie*. Dotisk první vydání. Brno: Computers Press a.s. 2008, ISBN 80-251-1178-4.
- CAMPOY, J A., RUIZ D., EGEA, J. Dormancy in temperature fruits trees in a global warming context. *Scientia Hortivulturae*. 2011, 130, s. 357- 372.
- CIOSEK, M. The ladybells *Adenophora liliifolia* (L.) Besser in forest Kisielany (Siedlce Upland, E Poland). *Biodiversity, Research Conservation*. 2006, 3-4, s. 324-328.

COME, D., CORBINEAU, F., SOUDAIN, P. Beneficial effect of oxygen deprivation on germination and plant development. In: JACKSON, M. B., DAVIES, D. D., LAMBERS, H., eds. *Plant life under oxygen deprivation*. Hague: SPB Academic Publishing. 1991, s. 69-83. ISBN 9051030517.

COPELAND, L. O., McDONALD M. B. *Principles of seed science and technology*. 4th edn. Springer, Boston, MA. 2001, ISBN 978-1-4615-1619-4.

CORBINEAU, F., CÔME, D. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. In: KIGEL, J., GALILI J [ed]: *Seed development and germination*. Dekker, New York, 1995, s. 397-424.

ČEPELOVÁ, B., PRAUSOVÁ, R. *Zvonovec liliolistý*. Představení druhu. Agentura ochrany přírody a krajiny v ČR. Praha, 2017. ISBN 978-80-88076-54-4.

DONOHUE, K. Seed and seasons: interpreting germination timing in the field. *Seed Science Research*. 2005, 15, s. 175-187.

DURRANT, M. J., MASH, S. Y. Sugar-beet seed steep treatments to improve germination under cold, wet conditions. *Plant Growth Regulation*. 1991, 10, s. 45-55.

ELLINSON, A. M., GOTELLI, N. J. Energetic and the evolution of carnivorous plants. Darwin's most wonderful plants in the world's. *Journal of Experimental Botany*. 2009, 60 (1), s. 19-42. ISSN 0022-0957.

ENGELMANN, F., " Plant cryopreservation: Progress and Prospect", *In Vitro Cellular and Development Biology*. 2004, 40(5), s. 427.

ENSCONET, Curation protocols. progress and prospects. *In Vitro Cellular and Development Biology*. 2009, Royal Botanic Garden. Kew.

E-MONOCOT, Potamogetonaceae. [online] [2018]. [cit. 2018-20-06]. Dostupné z WWW: <http://potamogetonaceae.e-monocot.org/>

FALLON, M. D., KELLER, A. H. *Auxins Structure, Biosynthesis and Functions*. New York: Nova Science Publishers, 2012. ISBN 978-1621005049.

FENNER, M. *Seed ecology*. Chapman and Hall. London, 1985.

FENNER, M., TOMPSON K. *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press, 2005. ISBN 0-521-65311-8.

FINCH-SAVAGE, W. E., LEUBNER-METZGER G. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 2006, 171, s. 501-523.

FINKELSTEIN, R., REEVES, W., ARIZUMI, T. STEBER, C. Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*. 2008, 59, s. 387-415.

- FISCHER, E., POREMBSKI, S., BARTHLOTT, W. Revision of the genus *Genlisea* (*Lentibulariaceae*) in Africa and Madagascar with notes on ecology and phytogeography. *Nordic Journal of Botany*. 2000, 20 (3), s. 291-318.
- FORBIS, T. A., FLOYD, S. K., DeQUEIROZ A. The evolution of embryo size in angiosperms and other seed plants: Implications for the evolution of seed dormancy. *Evolution*. 2002, 56, s. 2112-2125.
- FRANK, D. *Utricularia vulgaris* L. - bubliantka obecná. Botany. cz [online] [2009]. [cit. 2018-10-11]. Dostupné z WWW: <http://botany.cz/cs/utricularia-vulgaris/>
- FRIDAY, L. E. Rapid turnover of traps in *Utricularia vulgaris* L. *Functional Ecology*. 1989, 80, s. 272-277. ISBN 0029-8549.
- FRIDAY, L. E. The size and shape of traps of *Utricularia vulgaris* L. *Functional Ecology*. 1991, 5, s. 602-607. ISSN 1665-2435.
- FRIDAY, L. E. Measuring investment in carnivory: seasonal and individual variation in trap number and biomass in *Utricularia vulgaris* L. *New Phytologist*. 1992, 121, s. 439-445. ISSN 1469-8139.
- GADEA, S. Fiziologia vegetala. Editura *Academic Press*. Cluj-Napoca. 2003, s. 53-55.
- GÁLOVÁ, A., HÁJKOVÁ, P. *Utricularia vulgaris* v Hodonínské Dúbravě. *Zprávy České botanické společnosti*. 2014, 19, s. 216-271. ISSN 1211-5258.
- GIMÉNEZ-BENAVIDES, L., ESCUREDO, A., PÉREZ-GARCÍA, F. Seed germination of high mountain Mediterranean species: altitudinal, interpopulation and interannual variability. *Ecological Research*. 2005, 20 (4), s. 433-444.
- GLOSER, J. *Fyziologie rostlin*. První vydání. Brno: Masarykova univerzita. 1995. ISBN 80-201-1062-2.
- GOMÉZ-CAMPO, C., Preservation of West Mediterranean members of the Cruciferous tribe *Brassicaceae*. *Biological Conservation*. 1972. 4 (5), s. 355-360.
- GRULICH, V., CHOBOT, K. [eds.] Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Cévnaté rostliny. *Příroda*, Praha. 2017. 35, s. 1-178. ISSN 1211-3603.
- GUPPY, H. B. Germination of seed of aquatic plants. *Proceedings of the Royal Physical Society of Edinburgh*. 1894-1897, 13, s. 344-360.
- HARPER, J. L. *Population biology of plants*. London: Academic Press, 1977. s. 892.
- HAYAT, M. A. Morphology of seed germination and seedling in *Annona squamosa*. *Botanical Gazette*. 1963, 47, s. 873- 887.



HESS, D. *Fyziologie rostlin*. První vydání. Praha: Academia, 1983. Nakladatelství ČSAV, s. 348.

HILHORST, H. W. Definition and hypotheses of seed dormancy. In: *Seed development, dormancy and germination*. [ed.] BRANDFORD, K, NONOGAKINO, H. *Annual Review of Plant Biology*. 2007, 27, s. 50-67.

HILHORST, W. M. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 1995. 5. s. 61-73.

HINTZE, J. NCSS. Number Cruncher Statistical System. 2011. NCSS, Kaysville, UT, USA, 2011.

HOLZBAUEROVÁ, H. *Testování klíčivosti masožravé vodní rostliny bublinatky obecné (Utricularia vulgaris)*. Hradec Králové, 2015. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 77s.

HOPKINS, W. G. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley & Sons, Inc. 1st edition. 1995, s 452. ISBN 0-471-54547-3.

HOUSNEDL, V. Biologické vlastnosti semen a sadby. In HOUBA, M. HOUSNEDL, V. *Osivo a sadba*. 2002, Praha. s. 186, ISBN 80-902413-6-0.

HUNTER, J. R., ERICKSON A. E. Relation of seed germination to soil moisture tension. *Agronomy Journal*. 1952, 44, s. 107- 109.

HUSÁK, Š. *Utricularia L. bublinatka*. In: SLAVÍK, B, [ed]. *Květena ČR, díl 6*. Praha: Academia. 2000, ISBN 80-200-0306-1.

HUSÁK, Š., ADAMEC, L. Záchranné kultivace ohrožených druhů vodních a mokřadních rostlin v Botanickém ústavu AV ČR v Třeboni. *Příroda*, Praha. 1998. 12, 7-26.

HUSÁK, Š., KAPLAN, Z. Studium a záchrana vybraných ohrožených druhů rodu *Potamogeton*. Studium pro AOPK ČR. 1997, s. 22.

JANOVÁ, J. *Rdest dlouholistý (Potamogeton preaelongus Wulfen) v České republice*. Hradec Králové, 2010. Diplomová práce. Pedagogická fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 101 s.

JUNIPER, B. E., ROBINS, R. J., JOE, D. M. *The Carnivorous Plants*. Academic Press Limite, London, 1989, s. 353. ISBN 0-12-392170-8.

KAPLAN, Z., DANIHELKA, J., ŠUMBEROVÁ, K., CHRTEK, J., ROTREKLOVÁ, O. [eds.]. Distributions of vascular plants in the Czech Republic. Part 5. 2017, *Preslia* 89, s. 333-439.

- KAPLAN, Z. Rdestovité (*Potamogetonaceae*). In HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. [ed.]. *Květena České republiky* 8. Vyd. 1. Praha: Academia. 2010. ISBN 978-80-200-1824-3.
- KEPCZYŃSKI, J., KEPCZYŃSKA E. Ethylene in seed dormancy and germination. *Physiologia Plantarum*. 1997, 101:720-726.
- KEPCZYŃSKI, J., SZNIGIR, P. Response of *Amaranthus retroflexus* L. seeds to gibberellic acid, ethylene and abscisic acid depending on duration of stratification and burial. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2012, 70 (1). ISSN 0167-6903.
- KINCL, M., KRPEŠ V. *Základy fyziologie rostlin*. 2. doplněné vydání. Ostrava: MONTANEX a.s., 2000. 221 s. ISBN 80-7225-041-8.
- KINCL, M., KOLKOVÁ In: KINCL, M., KRPEŠ V. *Základy fyziologie rostlin*. 1984. 2. doplněné vydání. Ostrava: MONTANEX a.s., 2000. 221 s. ISBN 80-7225-041-8.
- KOVANDA, M. Zvonovec vonný, *Adenophora liliifolia* (L.) Bess., na Moravě a ve Slezsku, *Časopis Slezského zemského muzea, ser. A, Vědy přírodní*, 1998, 47, s. 13-18.
- KOVANDA, M. *Adenophora* Fisch-zvonovec. In: SLAVÍK, B. [ed.] *Květena České republiky* 6., Praha, Academia, 2000, 748 s. ISBN 80-200-0306-1.
- KROC, K. J. *Laboratorní kontrola v zemědělském provozu*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 1961, s. 330.
- KUBÁT, K., HROUDA, L., CHRTEL, J. jun., KAPLAN, Z., KIRSCHNER, J., [ eds.] *Klíč ke květeně České republiky*. Praha: Academia, 2002, s. 927, ISBN 80-200-0836-5.
- LEUBNER-METZGER, G. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways. *Planta*. 2001. 213 (6), s. 758-763.
- LLOYD, F. E. The mechanism of water tight door of the Utricularia trap. *Plant Physiology*. 1929, 4 (1), s. 87-102.
- LLOYD, F. E. *The Carnivorous Plants*. New York: Chronica Botanica Company, 1942, s. 352.
- MARTIN, A. C. The comparative internal morphology of seed. *American Midland Naturalist*. 1946, 36, s. 513-660.
- MATILLA, A. J. Ethylene in seed formation and germination. *Seed Science Research*. 2000, 10, s. 111-126.
- McDONALD, H. Auxin perception and signal transduction. *Physiol Plant*. 1997, 100, s. 423-430.
- McDonal, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 1999. 27, s. 17-237.

MOK, D. W., MOK M. C. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 2001. 89, s. 89–118.

NIKOLAEVA, M. G. *Physiology of deep dormancy in seeds*. Moscow: Alademija Nauk, 1969. ISBN 978-1112826672

NIKOLAEVA, M. G. Factors controlling the seeds dormancy pattern. In: KAHN, A. A. ed. *The physiology amd biochemistry of seed dormancy and germination*. Amsterdam: North- Hollan Publ. Co., 1977, s. 51-74.

NIKOLAEVA, M. G. Research opinion. On criteria to use in studies of seed evolution. *Seed Science Research*. 2004, 14. s. 315-320.

OBROUCHEVE, N. V., SIKEVICH, I. A., LITYAGINA, S. V., NOVIKOVA, G. V. Water Relations on Germinating Seed. *Russian Journal of Plant PhySiology*. 2017, 64 (4), s. 625- 633. ISSN 1021-4437.

PAGNUSSAT, G., ALANDETE-SAEZ, M., BOWMAN, J., SUNDARESAN, V. Auxin-dependent patterning and gamete specification in the *Arabidopsis* female gametophyte. *Science*. 2009, 324. s. 1684-1689.

PALEG, L. Physiological effects of gibberellic acid: I. On carbohydrate metabolism and amylase activity of barley endosperm. *Plant Physiology*, 1960a, 35 (3), s. 293-299.

PALEG, L. Physiological effects of gibberellic acid: II. On starch hydrolyzing enzymes of barley endosperm. *Plant Physiology*. 1960b, 35 (6), s. 902-906.

PALEG, L. Physiological effects of gibberellic acid. III. Observations on its mode of action on barley endosperm. *Plant Physiology*. 1961, 36(6), s. 829–837.

PENCE, V. C. Cryopreservation of seeds of Ohio native plants and related species. *Seed Science Technology*. 1991, 19, s. 235–251.

PERÉZ-GARCÍA, J, GONZÁLEZ-BENITO, M. E., GOMÉZ-CAMPO C. High viability recorded in ultra- dry seeds of 37 species of *Brassicaceae* after 40 years of storage. *Seed Science and Technology*. 2007, 35 (1), s. 43- 153.

PERÉZ-GARCÍA, J. Effect of cryopreservation, gibberellic acid and mechanical scarification on the seed germination of eight endemic species from the Canary Islands. *Seed Science and Technology*. 2008, 36 (1), s. 237-242.

POTT, R. *Die Pflanzengesellschaften Deutschlands*. 2nd edition. Eugen Ulmer, Stuttgart. 1995. s. 622.

PRAUSOVÁ, R. Máme v České republice místo pro rdest dlouholistý? *Živa*. 2016 a, 1, s. 18-22. ISSN 0044-4812.

PRAUSOVÁ, R. [ed.]. *Rdest dlouholistý (Potamogeton praelongus Wulfen)*. Gaudeamus, Univerzita Hradec Králové, 2017, s. 223. ISBN: 978-80-7435-669-8.

PRAUSOVÁ, R., ADAMEC, L. *Záchranný program pro rdest dlouholistý Potamogeton praelongus*. Hradec Králové: Olga Čermáková, grafické reklamní studio, 2010, s. 24. ISBN 978-80-86703-37-4.

PRAUSOVÁ, R., ADAMEC, L., KITNER, M., PÁSEK, K., DVOŘÁK V. *Záchrana rdestu dlouholistého v České republice. Příroda*, Praha, 2014, 32, s. 17-37.

PRAUSOVÁ, R., JANOVÁ, J. *Současný stav výskytu rdestu dlouholistého (Potamogeton praelongus) v České republice. Příroda*, Praha 2010, 27, s. 155-168.

PRAUSOVÁ, R., JANOVÁ, J., ŠAFÁŘOVÁ, L. *Testing achene germination of Potamogeton praelongus Wulfen. Central European Journal of Biology*. 2013, 8 (1), s. 78-86.

PRAUSOVÁ, R., MAREČKOVÁ, L. *Proč je zvonovec liliolistý chráněn soustavou Natura 2000? Živa*. 2017. 4, s. 159.

PRAUSOVÁ, R., MAREČKOVÁ, KAPLER, A., MAJESKÝ, L., FARKAS, T., INDREICA, A., ŠAFÁŘOVÁ, L. *Adenophora liliofolia: Condition of its populations in central Europe. Acta Biologica Craciviensia. Series Botanica*. 2016 b. 58 (2), s. 83-105.

PRAUSOVÁ, R., RYBKA, V., ADAMEC, L., HUSÁK, Š., RYDLO, J. *Záchranný program pro rdest dlouholistý*. Depon. in AOPK ČR, středisko Pardubice, 2003, 28 s.

PRAUSOVÁ, R., RYBKA, V., ČEPELOVÁ, B., MAREČKOVÁ, L. *Záchranný program pro zvonovec liliolistý*. Depon. in AOPK ČR, Praha, 2018, 67 s.

PRAUSOVÁ, R., ZLÁMALOVÁ, T., BÁLKOVÁ, L., ŠAFÁŘOVÁ, L.: *Changes in biodiversity in the national nature reserve of the Bohdanečský pond from the explorations by the Hadač brothers in the 1950's to the present times. Journal of Landscape Ecology*. 2015, 8/1: 6-22.

PRÁŠKOVÁ, L. *Mikrobiologické riziko vnitřní kontaminace semen určených ke konzumaci po naklíčení*. Brno, 2013. Bakalářská práce. Lékařská fakulta Masarykova univerzita. Vedoucí bakalářské práce doc. MUDr. Jan Šimůnek, CSc. 100 s.

PRITCHARD, H., NADARAJAN, J. *Cryopreservation of Orthodox (Desiccation Tolerant) Seeds*, In: B. REED [ed.]. *Plant Cryopreservation : A Practical Guide*. Springer: New Yourk. 2008, ISBN 978-0-387-72276-4.

PROCHÁZKA, S. [eds.] *Fyziologie rostlin*. 1. vydání, dotisk. Praha: Academia, 2003. 484 s. ISBN 80 -200-05862.

- PSOTA, V., ŠEBÁNEK J, *Za tajemstvím růstu rostlin. Návody k experimentům*. Praha: Scientia, 1999, 176 s. ISBN 80-7183-093-3.
- PUCHALSKI, J. International programmes for seed presevation of European native plants. *Bulletin of Botanical Gardens*. 2004, 13, s. 11-18.
- RAO, N. K. Plant Genetic Resource: Advences in Conservation and Use through Biotechnology. *African Journal of Biotechnology*. 2004, 3 (2), s. 136-145.
- REIFENRATH, K., THEISEN, I., SCHNITZLER, J., POREMBSKI, S., BARTHLOTT, W. Trap architecture in carnivorous *Utricularia (Lentibulariaceae)*. *Flora*. 2006, 201, s. 597-605.
- RYBKA, V., RYBKOVÁ V., HRADILÍK, Z. Rostliny ve svitu evropských hvězd. *Sagittara*, Olomouc, Praha, 2004. s. 88. ISBN 80-239-4177-1.
- ROBERTS, T. R. *Metabolic Pathways of Agromechanicals: Herbicides and plant growth regulators*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. 1998, s. 851. ISBN 0-84504-4949.
- ROOS, E. E. Long-Term Seed Storage, The National Plant Germplasm System of the United States. *Plant Breeding Rev.* 1989, 7, s. 129-158.
- RYDLO, J. *Potamogeton prealongus* Wulfen. In KUBÁT, K.; (red.): *Floristický kurs ČSBN v Děčíně 1984*. Severočes. Přír., Suppl. 1986a, 1, s. 70-73.
- RYDLO, J. Rdest dlouholistý. *Nika*. 1986b, 7, s. 16-17.
- RYDLO, J. Vodní makrofyta Orlice v letech 1984 a 1994. *Muzeum a současnost, ser. Natur*. 1995, 9, s. 149-156.
- RYDLO, J. Vodní makrofyta ve stojatých vodách na Poděbradsku a Nymbursku. *Muz. Současn., ser. natur*. 2005, 21, s. 11-134.
- RYDLO, J. Vodní flóra v nivě Orlice. *Muzeum a současnost, ser. Natur*. 2008, Roztoky, 23, s. 62-126.
- SARATH, G., BETHKE, P. C. JONES, R.; BAIRD L. M., HOU, G. C., MITCHELL, R. B. Nitric oxide accelerates seed germination in warm-season grasses. *Planta*. 2006, 6, s. 1154-1164. ISBN 0032-0935.
- SARWAR, M. R., KREMER, J. Determination of bacterially derived auxins using a micro plate method. *Lett. Appl. Microbiol.* 1995. 147, s. 282-285.
- SASAKI, K., KIM M-H., KANO, Y., SEO M. KAMYIA, Y., IMAI, R. *Arabidopsis* cold shock domain protein 2 influences ABA acumulation in seed and negative regulates germination. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015. 456, s. 380-384.

SCHUBERT, R., HILBIG, W., KLOTZ, S., *Bestimmungsbuch der Pflanzengesellschaften Mittel-und Nordostdeutschlands*. Jena- Stuttgart. 1995. ISBN 3-8274-0915-2.

SCHÜT, W. Ecology of seed dormancy and germination in sedges (*Carex*). Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. *Elsevier Science*. 2000, 3(1), s. 67-89. ISSN 1433-8319.

SCHOPFER, P., PLACHÝ, C., Control of seed germination by abscisic acid II. Effect on embryo water uptake in *Brassica napus L.* *Plant Physiology*. 1984, 76 (1), s. 155-160.

SCULTHORPE, C. D. *Biology of aquatic vascular plants*. London: Edward Arnold, 1967, s. 610.

SEO, M. HANADA, A., KUWAHARA, A. ENDO, A. OKAMOTO, M. YAMAUCHI, Y (eds) Regulation of hormone metabolism in *Arabidopsis* seeds: phytochrome regulation of abscisic acid metabolism and abscisic acid regulation of gibberellin metabolism. *Plant Journal*. 2006, 48. s. 354-366.

SHINOMURA, T., Phytohormone regulation of seed germination. *Journal of Plant Research*. 1997, 110 (1), s. 151-161. ISSN 0918-9440.

SIKOROVÁ, P. *Studium generativní reprodukce rdestu dlouholistého (Potamogeton preaelongus Wulfen)* Hradec Králové, 2011. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 70 s.

SIKOROVÁ, P. *Faktory ovlivňující klíčivost rdestu dlouholistého (Potamogeton preaelongus Wulfen)* Hradec Králové, 2013. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí diplomové práce RNDr. Romana Prausová, Ph.D. 90 s.

SLAVÍK, B. [ed]. *Květena ČR, díl 6*. Praha: Academia. 2000, ISBN 80-200-0306-1.

STANWOOD, P. C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic Conservation, In: KARTHA, K. K. *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*, Boca Raton: CRC Press, 1985, s. 200-226.

STOKES, P. A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium L.* I. The effect of temperature on embryo development. *Annals of Botany*. 1952a, 16 s. 441-447.

STOKES, P. A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium L.* II. The effect of temperature on after-ripening. *Annals of Botany*. 1952b, 16. s. 571-576

- STOKES, P. A physiological study of embryo development in *Heracleum sphondylium* L. II. The effect of temperature on metabolism. *Annals of Botany*. 1953, 65. s. 157- 169.
- STUDNIČKA, M. *Masožravé rostliny*. Praha: Academia. 1984, s. 152.
- STUDNIČKA, M. Masožravé rostliny rodu *Utricularia* IV. vodní druhy. *Živa*. 1990, 4, s. 157-162. ISSN 0044-4812.
- SVOBODA, P., FALTUS, M. Nové poznatky z genetiky a šlechtění plno hospodářských rostlin. Vliv předkultivace na kryokonzervaci chmele. *Sborník zo 14. vědecké konference, Piešťany: VÚRV, 2007*. ISBN 80-86555-71-2.
- ŠEBÁNEK, J. *Klíčení semen*. In: Procházka, S. *Fyziologie rostlin*. 2. vydání. Praha: Academia. 1998. s. 348- 357.
- ŠUMBEROVÁ, K. Vegetace volně plovoucích vodních rostlin. In CHYTRÝ, M. [eds.] *Vegetace České republiky 3, Vodní a mokřadní vegetace*. Praha: Academia, 2011, s. 43-99. ISSN 978-80-200-1918-9.
- TAYLOR, P. *The Genus Utricularia - A Taxonomic Monograph*. London: HMSO, 1989. s. 724. ISBN 0-11-250046-63.
- TEALE, W. D., PAPONOV, I. A., PALME, K. Auxin in action: Signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2006, 7, s. 847–859.
- TELTSCHEROVÁ, L., HEJNÝ, S. The germination of some Potamogeton species from South-Bohemia fishponds. *Folia Geobot. Phytotax*. 1973, 8 (3), s. 231-239.
- THOMASHOW, L. S., WELLER, D. M. Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: Mechanisms and antifungal metabolites. In: STACEY, G., KEEN, N. T. (eds). *Plant-Microbe Interactions*, Chapman and Hall, London, 1996, s. 187–235.
- TINVENDALE, N. D., COHEN, J. D. Analytical History of Auxin. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2015, 34 (4), s. 708-722.
- TRUHLÁŘOVÁ, H. *Zvonovec liliolity (Adenophora liliopholia) na Jaroměřsku*. Hradec Králové, 2008. Bakalářská práce. Pedagogická fakulta Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Romana Prausová Ph.D. 58 s.
- TUDZYNSKI, B. Biosynthesis of gibberellins in *Gibberella fujikuroi*: biomolecular aspects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, s. 298 -310. ISSN 0175-7598.
- TŮMA, J., TŮMOVÁ, L. *Fyziologie rostlin*. První vydání. Hradec Králové: Gaudeamus, 1998. 266 s. ISBN 80-7041-542-8.

VLEESHOUWERS, L. M., BOUWMEESTER, H. J., KARSSSEN, C. M. Redefining seed dormancy: An attempt to integrate physiology and acology. *Journal of Ecology*. 1995, 83, s. 1031- 1037.

VÓGEL, M., Ecological studies on water plants of 14 sites around Kangerlussuaq, southern West Greenland, with special regard to *Potamogeton*. Hamburg. 2002, s. 42.

VORONKOVA, N., KHOLINA, A. Conservation of endemic species from the Russian Far East using seed cryopreservation. *Biology Bulletin*, 2010, 37(5), s. 496-501.

WALTERS, C., WHEELER, L., STANWOOD, P. C. Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology*, 2004, 48 (3), s. 229-244.

WATKINS, J. T., CANTLIFFE, D. J., Mechanical resistance of the seed coat and endosperm during germination of *Capsicum annuum* et low temperatures. *Plant Physiology*. 1983, 72, s. 146-150.

WOODWARD, A. W., BARTEL B. Auxin: regulation, action and interaction. *Annals of Botany*. 2005, 95 (5), s. 707–735.

### **Zdroje obrázků**

Obr. 3 Rozšíření *U. vulgaris* v České republice zaznamenané z roku 2000 – 2016 (převzato z Kaplan 2017)

obrázek dostupný z:

WWW. [cit. 2017-12-11 ] [https://www.researchgate.net/figure/Distribution-of-Utricularia-vulgaris-in-the-Czech-Republic-P-at-least-one-record-in\\_fig83\\_321680041](https://www.researchgate.net/figure/Distribution-of-Utricularia-vulgaris-in-the-Czech-Republic-P-at-least-one-record-in_fig83_321680041).

Obr. 4 Oblast rozšíření bublinatky obecné (*Utricularia vulgaris*) na Zemi (Linnaeus, 2017)

obrázek dostupný z:

WWW. [ cit. 2017-12-11 ]

<http://linnaeus.nrm.se/flora/di/lentibularia/utric/utrivulv.jpg> .

Obr. 6 Historické a současné rozšíření rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*), (převzato z: Prausová 2016)

obrázek dostupný z: WWW. [ cit. 2018-13-03] <http://ziva.avcr.cz/2016-1/mame-v-ceske-republice-misto-pro-rdest-dlouholisty.html>



Obr. 7 Oblast rozšíření rdestu dlouholistého (*P. praelongus*) na Zemi (Linnaeus, 2018)

obrázek dostupný z:

WWW. [cit. 2018-04-04]

<http://linnaeus.nrm.se/flora/mono/potamogetona/potam/potaprav.jpg>.

Obr. 9 Současně rozšíření zvonovce liliolitého v ČR (převzato z: AOPK ČR 2013)

obrázek dostupný z:

WWW. [cit. 2018-10-04]

<http://www.zachranneprogramy.cz/zvonovec-liliolisty/rozsireni/>.

Obr. 10 Areál rozšíření zvonovce liliolistého (převzato z: AOPK ČR 2011).

## 6 Seznam příloh

### 6.1 Seznam obrázků

Obr. 1 Schéma klíčení na semeni ječmene ( <i>Hordeum vulgare</i> ) .....	23
Obr. 2 Detail pasti.....	28
Obr. 3 Rozšíření <i>U. vulgaris</i> v České republice.....	30
Obr. 4 Oblast rozšíření bublinatky obecné ( <i>Utricularia vulgaris</i> ) na Zemi.....	31
Obr. 5 Semena bublinatky obecné ( <i>Utricularia vulgaris</i> ) .....	32
Obr. 6 Historické a současné rozšíření rdestu dlouholistého ( <i>Potamogeton praelongus</i> ) .....	34
Obr. 7 Oblast rozšíření rdestu dlouholistého ( <i>P. praelongus</i> ) na Zemi .....	35
Obr. 8 Vzhled nažky rdestu dlouholistého ( <i>P. praelongus</i> ) .....	36
Obr. 9 Současné rozšíření zvonovce liliolitého v ČR.....	37
Obr. 10 Areál rozšíření zvonovce liliolistého .....	38
Obr. 11 Semeno zvonovce liliolistého ( <i>Adenophora liliifolia</i> ).....	39
Obr. 12 Způsob kultivace semen ve variantách světlo a tma .....	42
Obr. 13 Způsob uložení semen ke kultivaci .....	44
Obr. 14 Způsob uložení semen ke kultivaci .....	45
Obr. 15 Výsledky klíčivosti testů bublinatky obecné ve variantě světlo, tma .....	48
Obr. 16 Testy klíčivosti rdestu dlouholistého různého staří semen .....	50
Obr. 17 Varianty testů klíčivosti zvonovce liliolistého v půdním substrátu a Petriho miskách .....	52

## 6.2 Seznam tabulek

Tab. 1 Varianty testu tma a světla: <i>Utricularia vulgaris</i> .....	43
Tab. 2 Varianty testu: <i>Potamogeton praelongus</i> .....	44
Tab. 3 Varianty testu: <i>Adenophora liliifolia</i> .....	46
Tab. 4 Výsledky testů klíčivosti bublinatka obecná ( <i>Utricularia vulgaris</i> ).....	47-48
Tab. 5 Vícecestná analýza testů klíčivosti (Multiple-Term Test Section) bublinatky obecné, průkazné testy jsou zbarveny žlutě.....	48
Tab. 6 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) bublinatky obecné, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem, D – světlo/tma, E – kultivační roztok I nebo III), průkazný test při testování jednotlivých faktorů – tučně, nejlepší testované modely – červeně).....	49
Tab. 7 Výsledky testů klíčivosti rdestu dlouholistého ( <i>Potamogeton praelongus</i> ) . .....	50
Tab. 8 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) rdestu dlouholistého, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem) .....	51
Tab. 9 Výsledky testů klíčivosti zvonovce liliolistého ( <i>Adenophora liliifolia</i> ) .....	51
Tab. 10 Působení faktorů v testech klíčivosti (Single -Term Test Section) zvonovce liliolistého, průkazné testy jsou zbarveny žlutě, A – klíčení, B – způsob uložení před testem, C – ošetření před testem) .....	52