

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Duongová Thuy Lien

Vliv variability klimatu na klíčení a uchycování druhů

Effects of variability of climate on germination and seedling recruitment

Bakalářská práce

Školitelka: doc. RNDr. Zuzana Münzbergová, Ph.D.

Praha, 2016

Poděkování

Tímto děkuji své školitelce doc. RNDr. Zuzaně Münzbergové, Ph. D. za odbornou pomoc, připomínky a rady při psaní této bakalářské práce. Především jsem jí vděčná za vynaložený čas, ochotu a trpělivost při čtení a kontrole této práce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 10.5.2016

Podpis:

Duongová Thuy Lien

Abstrakt

Klimatické změny ovlivňují rostliny již od jejich přechodu na souš. Rostliny se novým podmínkám vždy nějakou cestou přizpůsobily. Jedna z vlastností, kterou byly nuceny také přizpůsobit, aby přežily, je klíčení semen a uchycení semenáčků. S nynějším oteplováním klimatu se míra klíčivosti semen, časování klíčení, rychlost klíčení a uchycení se semenáčků za posledních 150 let mění. V této bakalářské práci jsou shrnuty poznatky o tom, jaký vliv mají klimatické změny na klíčení rostlin a uchycování semenáčků. Dále jsou v práci představeny používané metody studia této problematiky. Nejčastěji se sleduje klíčivost semen, rychlost klíčení a časování klíčení. Některé druhy z těchto změn profitují a můžeme pozorovat rychlejší klíčení a větší míru klíčivosti. U jiných druhů dochází k redukci klíčení a tím snížení fitness. Počet studií, které se zaměřují na mezidruhovou variabilitu, je více oproti studiím vnitrodruhovým. Ve své další práci bych se proto chtěla zaměřit na vliv klimatických změn na vnitrodruhovou variabilitu v klíčení.

Klíčová slova: klíčení, klíčivost, uchycení semenáčků, klimatické změny, globální oteplování, abiotický stres

Abstract

Climatic changes have been influencing plants since their colonization of land. Plants always find a way to adapt to these new changes. Also germination of seeds and seedling recruitment have been adapting to climate change. During the last 150 years the current global warming is changing the germinability of seeds, the timing of germination, the rate of germination and the seedling recruitment. This bachelor thesis summarizes results of studies on how climate change effects the germination of plants and the seedling recruitment. This work also presents methods used for studying these questions. Studies often focus on germinability, the rate of germination and the timing of germination. Some of the species are profiting from these changes and we can observe faster germination and better germinability. Reduction of germination occurs in other species and so their fitness is also reduced. The number of studies observing inter-specific variability in germination is greater than studies on intra-specific variability. In my future work I would thus like to focus on the effect of climate change on intra-specific variability in germination.

Key words: germination, germinability, seedling recruitment, climate change, global warming, abiotic stress

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Klíčení.....	2
2.1.	Teplota.....	3
2.2.	Vlhkost.....	3
2.3.	Světlo.....	4
2.4.	Půda.....	5
2.5.	Velikost semen.....	5
3.	Klimatické změny.....	7
3.1.	Globální oteplování.....	7
3.1.1.	Předpovědi změny klimatu do konce 21. století.....	8
4.	Vliv variability klimatu na klíčení a uchycování semenáčků.....	9
4.1.	Vliv variability teploty a vlhkosti na klíčení.....	9
4.2.	Reakce rostlin na klimatické změny.....	9
4.3.	Reakce klíčení na klimatické změny.....	9
4.4.	Vliv variability teploty a vlhkosti na uchycení semenáčků.....	13
4.5.	Vliv variability množství oxidu uhličitého na klíčení a semenáčky.....	15
5.	Metodika studování klíčení semen.....	17
5.1.	Testování klíčení semen v kontrolovaných laboratorních podmínkách.....	17
5.1.1.	Barvení semen tetrazoliem chloridu.....	18
5.2.	Testování klíčení semen v terénních podmínkách, pozorování semenáčků.....	19
5.3.	Speciální metody kontroly venkovních podmínek.....	19
5.3.1.	FATI – Free Air Temperature Increase systém.....	19
5.3.2.	FACE – Free Air Carbon dioxide Enrichment systém.....	20
6.	Diplomová práce.....	21
7.	Závěr.....	22
	Seznam použité literatury.....	23

1. Úvod

Klíčení semen a uchycení semenáčků je jedním z důležitých kroků k udržení populace rostlin (Fenner & Thompson 2005). Ke klíčení a dalšímu růstu rostlina potřebuje vhodné podmínky zahrnující jak biotické tak abiotické faktory. Mezi biotické faktory patří vztahy mezi jednotlivými rostlinami, vztahy mezi rostlinami a herbivory a patogeny. K abiotickým patří teplota, dostupnost vody, působení světla a složení půdy. Klimatické změny se řadí do abiotických faktorů. Nejvíce změn je zaznamenáno v teplotě a srážkách, které působí přímo na rostliny a souvisí s globálním oteplováním. Rostliny se mohou přizpůsobit novým podmínkám nebo se mohou přemístit do vhodnějších míst odpovídajícím jejich potřebám. Většinou vyšší teploty klimatu a dostatek srážek během vegetačního období pozitivně ovlivňují klíčení a růst rostlin v původně chladných pásmech (alpínské, arktické, subarktické). Na druhou stranu příliš mírné zimy a nedostatečná sněhová pokrývka mohou klíčení některých druhů omezit jak bylo ukázáno například u klíčení druhu *Silene acaulis* (Milbau et al. 2009).

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o vlivu klimatických podmínek na klíčení semen a uchycování semenáčků. Práce se zaměří především na účinky různých teplot a vlhkosti na semena související s globálním oteplováním. Práce se také pokusí shrnout metodické přístupy využívané pro studium této problematiky.

2. Klíčení

Generativním rozmnožováním rostlin vznikají semena. Jejich prostřednictvím se rostliny šíří do okolí a na nové lokality. Jejich klíčení je nevratný proces fyziologických a morfologických změn. Vlivem klimatických změn v průběhu vývoje terestrické flory vzniklo mnoho odlišných strategií a požadavků při klíčení rostlinných druhů (Fenner & Thompson 2005). Klíčení počíná, když suché semeno absorbuje vodu a končí prodloužením embrya (Bewley 1997). Prvním viditelným znakem úspěšného klíčení je penetrace radikuly skrz semenné obaly (Bewley 1997) a vyrašení výhonků na povrch půdy (Fenner & Thompson 2005). K vyklíčení semen je třeba vhodné teploty, optimum vlhkosti půdy a srážek a dostatečná dostupnost světla. Celý proces je také ovlivněn velikostí a věkem semen, jejich stavbou, fyziologií a metabolismem nebo také hloubkou uložení semene v půdě a strukturou půdy (Fenner & Thompson 2005). Klíčení semen nastává hned po disperzi semen nebo je odloženo na příznivější období. Výskyt semenáčků je synchronizovaný se sezónními změnami prostředí (Walck et al. 2011).

Zralá semena mohou být dormantní. Klíčení pak předchází dormance, která je definována jako neschopnost vitálního semene vyklíčit ve vhodných podmínkách (Bewley 1997). Ty dormantní mohou klíčit až po působení určitých podmínek rušící fyziologické a fyzické mechanismy, které zabraňují klíčení, nebo semeno potřebuje dodatečně dozrát (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Nároky se liší u různých druhů. Fyzická dormance semene představuje struktury okolo embrya, které musí být narušeny před klíčením, a embryonální dormance je navozena fyziologickými procesy embrya (Bewley 1997). Míra dormance postupně klesá s délkou uchování semen v suchém prostředí při pokojové teplotě a klíčení je podpořeno dostupností vody a dalšími faktory (Penfield & King 2009). Nejčastěji je třeba působení vyšších teplot s dostatečnou vlhkostí (15-35 °C) nebo naopak působení nízkých teplot (0-10 °C) a vlhkých podmínek, známé jako stratifikace chladem, a až následně působení tepla (Baskin & Baskin 2014). Když je dřívější vyklíčení rostlin oproti konkurenci vhodně načasováno, může zvyšovat jejich fitness (Verdú & Traveset 2005).

Klíčení a dormance semen jsou dva odlišné procesy a každý z nich je ovlivněn proměnlivostí klimatu odlišným způsobem, zároveň však spolu úzce souvisí (Fenner & Thompson 2005).

2.1. Teplota

U většiny rostlinných druhů je střídání teplot příznivé pro klíčení semen oproti konstantním teplotám (Thompson & Grime 1983; Nishimoto & McCarty 1997). V některých případech stačí rozdíl denních a nočních teplot pouhých 1 °C k iniciaci klíčení. U jiných druhů jsou třeba vyšší rozdíly až 9 °C (Thompson & Grime 1983). Stejně podmínky, které jsou příznivé pro klíčení semen, nemusí být výhodné pro další růst a uchycení semenáčků nebo pro dospělé rostliny (Lloret et al. 2004).

Klíčení semen převládá v jarním období z důvodu příliš nízkých teplot v podzimním období, které zabraňují vyklíčení hned po rozšíření semen nebo kvůli nutnosti působení mrazu na semena v zimním období (Shimono & Kudo 2005; Baskin & Baskin 2014). Ve studii (Grime et al. 1981) mnoho druhů bylo schopno vyklíčit již při teplotě 5 °C, která byla nejnižší použitá teplota v experimentu. Ve skutečnosti není známá nejnižší možná teplota pro klíčení. Je však zřejmé, že klíčení některých druhů lze zamezit pouze mrazem (Fenner & Thompson 2005). Teploty vhodné ke klíčení se liší u různých biotů. U rostlin arktické a alpské tundry jsou k vyklíčení nutné výrazně vyšší teploty (Baskin & Baskin 2014) - z důvodu zabránění předčasnému klíčení, kdy je možné, že by opět nastaly zimní mrazy, než plně převládnu jarní tepla. Teploty potřebné ke klíčení a uchycení semenáčků korelují s teplotami ročního období s výskytem dostatečných srážek. Například ve sklerofytních lesích je vhodné zimní období se srážkami a v tropech je to téměř celoročně (Baskin & Baskin 2014). V alpských podmínkách noční teploty a tvorba ledu v zimním období umožňuje pouze omezenému počtu semenáčků přežít a délku vegetačního období určuje sněhová pokrývka (Körner 2003). Dále jsou semenáče ohroženy brzkými jarními mrazy nebo předčasnými podzimními mrazy (Marcante et al. 2012) a jsou též ohroženy letními parami během vegetativního období (Marcante et al. 2014).

Teplotu půdy ovlivňují další faktory. Jedním z nich je vlhkost půdy, která se změnou teploty úzce souvisí. Ovzduší a sluneční záření ovlivňují teplotu půdy do určité hloubky. S narůstající hloubkou tyto vlivy klesají (Fenner & Thompson 2005). U některých druhů lze působením dostatku světla částečně až plně nahradit nároky na kolísání teplot během dne a noci potřebnou k vyklíčení (Thompson & Grime 1983). U dalších druhů světlo nezvyšuje schopnost klíčení (Thompson & Grime 1983).

2.2. Vlhkost

Semena obsahují minimum vody, přesto si udržují životaschopnost do určité hodnoty vody v nich obsažené. Různé druhy mají tyto hodnoty odlišné (Fenner & Thompson 2005).

Mají kritickou hodnotu vodního potenciálu v prostředí potřebnou k vyklíčení. I tato hodnota se liší u různých druhů (Hunter & Erickson 1952). Také záleží na přirozených podmínkách – například počasí, období sucha a dešťů. Nedostatek vody může klíčení semen inhibovat (Springfield 1968) nebo naopak nadbytek vody může klíčení též inhibovat (Heydecker & Orphanos 1968).

Pro většinu semen klíčení začíná nasátím vody. Semeno nejdříve rychle absorbuje vodu a započne růst embrya. Poté zvýšením příjmu vody se prodlužuje radikula, která prorazí semenné obaly a dále roste (Bradford 1990). Semeno nemusí vyklíčit hned po nasátí vody, pokud jsou okolnosti k jeho vyklíčení nevyhovující. Takové semeno se vysuší a vodu nasaje znovu při dostatku vlhkosti (Baskin & Baskin 2014). Semeno takto může zůstat v půdě a vyklíčit až v dalších sezónách (Fenner & Thompson 2005).

Pod sněhovou pokrývkou se semena a rostliny nachází v prostředí se stabilními teplotami okolo 0 °C, i když je teplota okolního vzduchu pod bodem mrazu (Mondoni et al. 2012). Semena jsou takto chráněna před mrazem (Körner 2003). Úbytek sněhu může pro rostliny znamenat delší vegetativní období (Milbau et al. 2009).

S oteplováním je očekáván pokles nebo vzestup ve vlhkosti půdy během fáze zrání semen, klíčení semen a vyrážení semenáčků, obzvláště v oblastech tropů a pouští (Walck et al. 2011). Variabilita ve srážkách bude v různých částech světa rozdílná (IPCC et al. 2014) a proto jsou srážky a s tím související vlhkost půdy těžko předvídatelné.

2.3. Světlo

Semena mohou reagovat na přítomnost světla a tím regulovat klíčení ve vhodnou dobu. Úspěšné vyklíčení může ovlivnit i hloubka uložení semene v půdě a zastínění okolními rostlinami (Fenner & Thompson 2005). Některá semena klíčí pouze ve tmě a některá pouze na světle. Oba případy mohou ještě záviset na teplotě okolního prostředí (Baskin & Baskin 2014). V některých případech závisí také na délce dne. Krátké dny u některých druhů inhibovaly klíčení, ale tento efekt mohl být částečně vykompenzován stratifikací chladem, která umožnila klíčení v širším rozmezí teplot za dlouhé i krátké denní periody světla (Densmore 1997). Malá semena často vyžadují k vyklíčení přítomnost světla a tato závislost klesá se zvětšující se velikostí semena (Grime et al. 1981). Větší semena mají více zásobních látek a malá semena musí tento rozdíl v zásobních látkách dohnat vlastní syntézou. Tato závislost neplatí však u všech druhů (Baskin & Baskin 2014). Sluneční světlo se po projití vegetací liší intenzitou a kvalitou záření. Červené spektrum záření je již pohlceno vegetací nad semenem a to znamená nevhodné podmínky k vyklíčení (Fenner & Thompson 2005). Hlavní roli

v zachycení světla hrají fytochromy, které regulují klíčení semen. Nejdůležitější fytochromy jsou fytochrom A a fytochrom B. Fytochrom A reaguje na široké spektrum záření od UV záření po infračervené záření. Fytochrom B zachycuje pouze infračervené záření (Shinomura 1997). Jejich aktivní forma iniciuje klíčení a inaktivní forma klíčení inhibuje (Baskin & Baskin 2014).

2.4. Půda

Většina klíčení rostlin probíhá v půdě a jejím prostředí. Hodnoty kyslíku a oxidu uhličitého v půdě jsou odlišné od hodnot těchto plynů v atmosféře. V půdě kyslík bývá na nižší hladině než v atmosféře, za to množství oxidu uhličitého s hloubkou stoupá (Fenner & Thompson 2005). Distribuce plynů v půdě je umožněna difuzí a její mírou a množství plynů také závisí na vlhkosti půdy, poréznosti půdy a na míře biotických dějů (Baskin & Baskin 2014). Většina semen potřebují k vyklíčení kyslík, ale není třeba takové množství jako je v atmosféře. Kromě vodních druhů rostlin, které zvládají klíčit v anoxickém prostředí (Fenner & Thompson 2005). V atmosféře je zhruba 21% kyslíku a bylo ukázáno, že některé druhy mohou klíčit v půdě, kde bylo naměřeno 12-16% kyslíku (Baskin & Baskin 2014). Příliš nízké hodnoty kyslíku v substrátu mohou klíčení inhibovat či navodit sekundární dormanci semen (Nyunt & Grabe 1987; Baskin & Baskin 2014). Dalším plynem v půdě je etylén. Etylén se nachází kolem kořenových systémů rostlin. Přítomnost etylénu má velmi malý účinek na klíčení semen v půdě (Taylorson 1979).

Aniont dusičnanu (NO_3^-) a amonný iont (NH_4^+) jsou důležitými složkami v půdě sloužící jako zdroj dusíku pro rostliny. Dostatek živin může zahájit klíčení. Naopak při zasolení půdy dochází k inhibici klíčícího mechanismu a proto musí rostliny v zasolených půdách načasovat klíčení do období větších srážek (Fenner & Thompson 2005).

Další složkou půdy jsou organické sloučeniny jak z odumřelé biomasy tak z živých organismů aktivně produkujících tyto látky. Tyto látky mohou být alelopatické a klíčení dalších jedinců je tímto omezeno (Fenner & Thompson 2005).

2.5. Velikost semen

Semena jsou různě velká s ohledem na životní strategii druhu, velikost rostliny, dostupnost živin a s ohledem na způsob šíření semen. Velikost semen může ovlivnit úspěšné vyklíčení semen a liší se v investici mateřské rostliny do jejich produkce (Fenner &

Thompson 2005). Za optimální velikost semen se považuje taková, která má maximální zisk z vložené energie mateřskou rostlinou do semene (Fenner & Thompson 2005).

Rostliny s většími semeny investují více energie do jejich biomasy a zásobních látek a díky tomu tyto semena lépe přežívají při působení stresových faktorů jako jsou zastínění, poškození a nedostatek vlhkosti, ale rostlina je schopná produkovat pouze menší počet semen (Westoby et al. 1996; Westoby et al. 2002). Tyto semena jsou konkurenceschopnější při klíčení díky rychlému vyklíčení. Z větších semen klíčí větší semenáčky.

Rostliny s malými semeny jich produkují ve větším počtu, ale tyto semena nejsou odolná vůči negativním vlivům. Spíše se spoléhají na snadný roznos a zanesení na nové lokality (Westoby et al. 2002). Například semena šířená větrem jsou lehčí a menší, ale nejsou tolik odolná (Fenner & Thompson 2005).

Rozdílnou velikostí semen je ovlivněna schopnost vyklíčit a úspěšné uchycení se semenáčků. Bylo potvrzeno, že velká semena jsou schopná klíčit i při nepříznivých podmínkách. Čím větší semena jsou, tím více jsou schopná klíčit při působení stresových faktorů (Leishman & Westoby 1994). Velikost semen se neliší pouze mezi druhy a jedinci jednoho druhu, ale i jeden rostlinný jedinec může produkovat více typů semen najednou (Fenner & Thompson 2005).

3. Klimatické změny

Variabilita klimatu způsobená přirozeně nebo lidskou činností ovlivňuje rostliny přímo i nepřímo. V současném kontextu tyto jevy spíše souvisí s důsledky spojené s činností člověka. Vědci se snaží změny klimatu určit a popsat. Projevují se jako změny v teplotě, srážkách, míře a četnosti extrémního počasí, zvýšení mořské hladiny, změny ve složení plynů v atmosféře, přítomnost aerosolů a jiné. Klimatické změny se dějí od počátku vzniku Země a její atmosféry. Podnebí ovlivňují orbitální výkyvy Země, sopečné erupce a také možná změna ve výdeji energie Sluncem (Houghton 1998). V současnosti na sebe strhlo pozornost především globální oteplování, které začalo po průmyslové revoluci na konci 19. století vlivem člověka. Například vlivem globálního oteplování může vzrůst počet napadení rostlin patogeny a herbivory a tím se snižují šance rostlin na přežití a rozmnožování (Harvell 2002; Connolly & Orrock 2015). Dalším výzkumem bychom mohli v budoucnu lépe předpovídat dopady na celou rostlinnou říši v různých aspektech.

3.1. Globální oteplování

Oteplování planety je způsobeno hlavně nárůstem skleníkových plynů, které udržují pohlcené teplo ze slunečního záření a omezují tak přirozený proces emitace tepla z planety do vesmíru a tím nedochází k ochlazení jejího povrchu (Houghton 1998). Mezi nejvýznamnější skleníkové plyny patří oxid uhličitý, metan, oxid dusný a vodní pára (Houghton 1998). Oxid uhličitý vzniká především spalováním fosilních paliv a průmyslem. S jeho nárůstem v atmosféře roste i teplota atmosféry. Hladina oxidu uhličitého stoupla zhruba o 40% z 280 ppm na 379 ppm (rok 2005) a teplota vzrostla v průměru o 0,85°C od počátku 20. století a bude stále stoupat (IPCC 2014; Abatzoglou et al. 2007). Vlny veder jsou častější v Evropě, Asii a Austrálii (IPCC 2014). S vedry souvisí extrémní sucha a poté nadměrné srážky vedoucí k záplavám (Orlowsky & Seneviratne 2012; Easterling 2000). S nárůstem teploty je nyní zaznamenáno tání ledovců, úbytek sněhové pokrývky zejména na severní polokouli (McCabe & Wolock 2010), oteplení permafrostu na 2-3°C a celkové oteplení arktických oblastí (IPCC 2014). Na druhou stranu ve vyšších nadmořských výškách v některých lokalitách, kde je v zimním období stabilně teplota pod 0 °C, je v posledních letech zaznamenáno přibývání sněhu (Stewart 2009).

Zvýšením teploty klimatu se zvýší odpar vody dopadající na zemský povrch a tím se zvýší srážky na Zemi (Wetherald 2002). Vodní pára a mraky způsobují přirozený skleníkový efekt

doprovázející Zemi už od vzniku atmosféry. Množství srážek na severní polokouli mírně stoupl po roce 1950 (IPCC 2014).

Jev El Niño projevující se jako oslabení studeného oceánského proudu podél pobřeží Jižní Ameriky též patří ke klimatickým změnám. Tyto změny jsou dočasné a cykly zhruba trvají 3-5let. Místní oceánské vody zůstávají teplé a jsou chudé na živiny. S vyšší teplotou se více odpařuje voda a vzniklé dešťové srážky padají na pevninu a zaplavují tropické a subtropické oblasti (Houghton 1998). Střídají se krutá sucha a vlhká časová období.

El Niño s vysokou pravděpodobností zůstane hlavní příčinou variability ročních srážek v tropické oblasti Pacifiku i v budoucnu. Je možné, že tento jev důsledkem oteplování zesílí (IPCC 2014).

3.1.1. Předpovědi změny klimatu do konce 21. století

Vědci předpovídají nárůst teploty podle různých klimatických scénářů o 1,7°C až 4,8°C. Nejvíce se oteplení projeví v arktických a horských oblastech a projeví se ve větší míře na pevnině než nad oceánem (Beniston 2003; IPCC 2014). V Alpách byl zaznamenán nárůst teploty až o 2°C (Beniston et al. 1997). Množství ledovců poklesne o 43% až 94%. Průměrné roční srážky budou na různých místech země stoupat či klesat. V rovníkové oblasti v Tichém oceánu je očekáván nárůst průměrných ročních srážek do konce tohoto století. Ve středních zeměpisných šířkách v oblastech suchých subtropů se pravděpodobně srážky sníží a ve vlhkých oblastech subtropů se naopak zvýší. V tropech budou srážky mnohem častější a intenzivnější. V monzunových oblastech budou zvýšené srážky a tím větší odtok řek (Houghton 1998). Nárůst oxidu uhličitého v atmosféře bude pokračovat. (IPCC 2014)

4. Vliv variability klimatu na klíčení a uchycování semenáčků

4.1. Vliv variability teploty a vlhkosti na klíčení

Kratší zimy a změny vodních zdrojů mohou klíčení zamezit, oddálit nebo naopak urychlit (Walck et al. 2011). Zvýšením srážek a tím i vlhkosti půdy v jarním období mohou rostliny profitovat, ale pouze samotným oteplováním může dojít k redukci klíčení kvůli suchu (Walck et al. 2011; Liu et al. 2011). Změny v klimatických podmínkách mohou vést k velkým změnám ve vývoji semen, jejich životaschopnosti a množství jejich biomasy (Briceño et al. 2015). Semena stejného druhu z teplých podmínek byla v průměru těžší a je možné, že díky této vlastnosti by lépe klíčila v budoucnu (Klady et al. 2011). Nejdolnější vůči vysokým teplotám jsou vodou nasátá semena, pak následují vyklíčená semena s radikulou alespoň 2mm dlouhou a nejméně odolné jsou mladé semenáčky s vyvinutými děložními lístky (Marcante et al. 2014).

4.2. Reakce rostlin na klimatické změny

Změny teplot se nejvíce dotknou arktických a alpínských biotů. Očekává se, že důsledkem oteplování bioklimatická pásma ustoupí směrem k pólům nebo se přemístí do vyšších nadmořských výšek (Callaghan et al. 2004). Hrozí, že rostliny nevyklíčí kvůli příliš teplým zimám a neprolomí tak svoji dormanci (Fenner & Thompson 2005). S postupným oteplováním rostliny, především boreální a alpínské druhy, buď zůstávají ve stejné oblasti nebo se postupně stěhují do vyšších nadmořských výšek. Přesunují se zejména populace na které působí zimy za posledních 100 let, které jsou postupně mírnější a mírnější. Trend stoupaní populací do vyšších nadmořských výšek byl vyzorován po celém světě zhruba u 50% ze 166 sledovaných oblastí se záznamy stromové populace od roku 1900 (Harsch et al. 2009). Naopak sestup do nižších poloh je pouze 1% (Harsch et al. 2009). V budoucnu některé druhy nebudou schopny udržet dostatečně rychlou migraci s rychle se měnícím klimatem a těmto druhům hrozí extinkce (Jump & Peñuelas 2005). Též v alpínských oblastech rostliny reagují na oteplování klimatu migrací do vyšších nadmořských výšek (Lenoir et al. 2008; Kullman 2002).

4.3. Reakce klíčení na klimatické změny

Druhy z nižších nadmořských výšek v Alpách jsou schopny lépe odpovídat na klimatické změny a přizpůsobovat se jim než druhy z výšek nad horní hranicí lesa. Tyto druhy klíčí rychleji, mají větší klíčivost v širším teplotním rozmezí a jsou odolnější suchu. Je možné, že

jsou předem přizpůsobeny na migraci do vyšších nadmořských výšek (Walder & Erschbamer 2015). Ve studii (Smith 1994) bylo vyzorováno, že vlivem oteplování letních období na Antarktadě se zvýšil počet jedinců v populaci druhů *Colobanthus quitensis* a *Deschampsia antarctica*. Zrání semen, klíčení semen a přežití semenáčků těchto druhů bylo posíleno (Smith 1994). Výsledky studie (Müller et al. 2011) potvrdily, že globální oteplování již zvýšilo životaschopnost a klíčivost semen arktických druhů. Naopak u druhu *Ranunculus acris* se počet jedinců v pozorované populaci nezvýšil z důvodu kompetičně úspěšnějších druhů v okolí (Totland 1999).

Předpovědi variability srážek dopadající na zem jsou velice obtížné a nejisté. Důležitou roli bude hrát množství srážek a jejich časování. Například oddálení závlahy žaludů o 2 až 4 týdny u druhu *Quercus emoryi* po sběru výrazně pokleslo klíčení nebo k němu vůbec nedošlo (Germaine & McPherson 1998). Dalším důsledkem oteplování je úbytek srážek ve formě sněhové pokrývky a její předčasné tání zejména na severní polokouli v zimním období (McCabe & Wolock 2010). Sněhová pokrývka funguje jako tepelný izolátor. Bez její přítomnosti jsou půdy chladnější a zamrzají do větších hloubek (Körner 2003). Několik rostlinných druhů v tundře reagovalo na absenci sněhu dřívějším vyklíčením v jarním období a tím si prodloužilo vegetační období (Milbau et al. 2009).

V subarktických oblastech budou nejvíce z globálního oteplení profitovat stromy, zakrslé keře a trávy (Milbau et al. 2009). Ve studii (Milbau et al. 2009) bylo u většiny subarktických druhů klíčení rostlin v optimální teplotě (10-20 °C) nejrychlejší, pak následovalo klíčení v teplotě vyšší o 2,5 °C než optimální teplota a nejpomaleji klíčily rostliny z kontrolní skupiny při teplotách 5-10 °C, které odpovídají skutečným současným teplotám. Nejkratší doba klíčení byla zaznamenána u všech testovaných druhů při silné sněhové pokrývce následována optimální teplotou kromě *Silene acaulis* (Milbau et al. 2009). Závislost na teplotě při klíčení je vyšší u semen získaných z vyšších nadmořských výškách než u semen z nižších nadmořských výšek (Cavieres & Arroyo 2000).

Oteplení během vegetační sezony může zmírnit abiotický stres rostlin a může prodloužit příznivé teploty pro klíčení a přežití semenáčků nebo naopak může zvýšit sucho způsobující vysušení semen (Shevtsova et al. 2009). Záleží na lokálních podmínkách a do jaké míry se změní množství srážek a půdní charakter (Shevtsova et al. 2009). Ve studii (Mondoni et al. 2012) bylo vyzorováno, že účinky teplejšího podzimu oproti současnosti signifikantně zvýšily klíčení alpských druhů ještě v témže období. Během zimy došlo k zastavení a na jaře k obnovení aktivity semen. Semena, která nevyklíčila na podzim, byla udržována po

dobu 4 měsíců v konstantních laboratorních podmínkách při teplotách půdy se sněhovým pokryvem (0 °C) a bez sněhového pokryvu (-7 °C). Rychlost klíčení semen ze dvou různých zimních teplot se v následujícím jarním období nelišila. Také ve studii (Baskin et al. 2002) teploty půdy se sněhovým pokryvem a bez pokryvu neměly efekt na stratifikaci a klíčení zkoumaného druhu *Empetrum hermaphroditum*. Žádný vliv nebyl vyzorován ani u druhu *Vaccinium uliginosum*, ale uchování semen v teplejších podmínkách zvýšila klíčivost (Graae et al. 2008). Teplejší zimy zvýšily houbová napadení semen, ale teplejší léta na oplátku zlepšila kvalitu semen (Graae et al. 2008). Samotný nárůst teplot v jarním a letním období nemá podle studie (Mondoni et al. 2012) výrazný efekt na rychlost klíčení. Ale kombinace oteplování během letní sezóny a zimních teplot nad nulou urychlila klíčení druhů *Luzula* a *Poa*. Účinky klimatu budou nejvíce působit na časování klíčení a na přežití mladých semenáčků, kteří nebudou dostatečně adaptováni a místo klíčení na jaře by mohli v budoucnu začít klíčit už na podzim (Mondoni et al. 2012).

Ve studii (Shevtsova et al. 2009) byl u druhů subarktické tundry u brzy klíčících oproti později klíčícím druhům v tundře zaznamenán výrazný pokles klíčení při působení teplot o 1-3 °C vyšší, ale přidáváním dostatečné vláhy do půdy se částečně vyrušily negativní účinky většího tepla. U druhu *Pinus sylvestris* se klíčení výrazně snížilo i při dostatku vody. Druhu *Vaccinium vitis-idaea*, který klíčí v pozdním létě, se tyto změny teplot nedotkly. Nejvíce profitovaly trávy například druh *Deschampsia flexuosa*. Z toho vyplývá, že citlivost na oteplování a množství vlhkosti je nejkritičtější během klíčení semen a může hrát zásadní roli pro zakládání budoucích generací rostlin v subarktických oblastech zejména u druhů klíčících na začátku sezóny. V pozdějším vývojovém stádiu nebyly rostliny vyšší teplotou signifikantně ovlivněny. Studie (Hoyle et al. 2013) sledovala účinky tepla na semena přímo zahříváním půdy oproti většině předchozích studií, které oteplování simulovaly oteplením okolního vzduchu. Zvýšením teploty půdy se obecně snížila klíčivost semen uložených v semenné bance, ale přes nižší klíčivost byl počet vyklíčených druhů vyšší než v půdě s běžnou teplotou (Hoyle et al. 2013).

Přirozený výběr upřednostňuje cyklus časování klíčení, který co nejvíce snižuje nevhodné podmínky prostředí pro uchycení semenáčků (Angevine & Chabot 1979). Schopnost klíčení za různých podmínek je důležitá pro rostlinné druhy, které se vyskytují na široké škále zeměpisné šířky a nadmořské výšky. Těmito schopnostmi klíčit za různých podmínek lze zjistit, které cykly klíčení jsou upřednostňovány selekcí (Cavieres & Arroyo 2000). Ve studii (Cavieres & Arroyo 2000) byla nasbírána semínka druhu *Phacelia secunda* ve čtyřech

různých nadmořských výškách (1600m, 2200m, 2900m, 3400m) byla vystavena denním teplotám 20 °C a nočním teplotám 10 °C nebo denním teplotám 10 °C a nočním teplotám 5 °C. Semena nejdříve prošla stratifikací chladem po dobu 1 až 6 měsíců, simulující rozdílně dlouhou periodu výskytu sněhu v rozdílných gradientech. Semínka z vyšších nadmořských výšek (2900m a 3400m) vyžadovala delší dobu stratifikace k lepšímu vyklíčení a k vyklíčení co nejvíce možných semínek. Je možné, že se jedná o adaptaci na delší dobu přítomnosti sněhové pokrývky ve vyšších polohách. Semen z výšky 1600m nad mořem lépe vyklíčilo více při teplotách 10°/5°C a signifikantně více semen z výšky 2900 až 3400 metrů nad mořem vyklíčilo při teplotách 20°/10°C. Dormance semen je z vyšších poloh silnější (Cavieres & Arroyo 2000). Podobná studie proběhla na druhu *Carex diandra*, ve které se zvyšováním denních teplot podle předpovídaných scénářů globálního oteplování zvýšila klíčivost semen (Fernandez-Pascual et al. 2015).

Globální oteplování může prodloužit životnost semen u alpských druhů. Ve studii (Bernareggi et al. 2015) semena vystavena vyšším teplotám měla delší životnost a byla odolnější vůči teplu oproti semenům v přirozeném prostředí. Tato plastická odpověď může hrát klíčovou roli v přežití a vytrvání vysokohorských druhů.

Většina studií porovnává reakci klíčení semen na změny teplot mezi druhy. Působení vyšších teplot na semena a jejich klíčení u některých druhů klíčení zlepšují a u jiných druhů naopak redukují. Ve většině případů dochází k redukci klíčivosti semen při vyšších teplotách za nedostatku vody nebo nedostatku sněhové pokrývky. Tato nevýhoda je vykompenzována rychlejším vyklíčením semen a prodloužením vegetativního období. Semena vyprodukovaná pod vyššími teplotami než v současných přirozených teplotách jsou životaschopnější a jsou lépe schopná tolerovat teplotní stres.

Studii zkoumajících pouze vnitrodruhovou variabilitu je zatím podstatně méně než studií mezidruhových. Studie (Cavieres & Arroyo 2000; Graae et al. 2008; Fernandez-Pascual et al. 2015) testují vliv původu semen na jejich klíčení v nových podmínkách. Ve všech 3 studiích nechali semena z různých lokalit klíčit za stejných podmínek. V práci (Cavieres & Arroyo 2000) byla zjištěna variabilita v klíčivosti semen s přítomností a délkou působení sněhové pokrývky či její absence. Dále byla vysledována variabilita při klíčení semen, která pocházela z populací nacházejících se v boreálních, arktických či alpských lokalitách ve studii (Graae et al. 2008) a ve studii (Fernandez-Pascual et al. 2015) byla semena uchovávána před vyklíčením v podmínkách odpovídajícím těmto lokalitám. Při klíčení za vyšších teplot došlo k zlepšení klíčení. Populace z teplejších oblastí celkově lépe klíčila než populace z chladných

oblastí. To znamená, že semena mohou být adaptována na podmínky, ve kterých byla vyprodukována.

4.4. Vliv variability teploty a vlhkosti na uchycení semenáčků

Mladé semenáče velice snadno podléhají klimatickým změnám. Každý druh je různě citlivý na teplejší letní období (Briceño et al. 2015). Většina studií však ukázala pokles počtu přeživších semenáčů při působení vyšších teplot a nedostatku srážek. Úspěšné uchycení semenáčků bylo nízké při působení oteplení pouze v určitém ročním období, nejčastěji při teplech v létě (Graae et al. 2009; Shevtsova et al. 2009; Hoyle et al. 2013). Naopak zvýšení uchycení semenáčků bylo vyzorováno při působení celoročního oteplování v laboratorních podmínkách (Milbau et al. 2009; Mondoni et al. 2012). Úspěšnější uchycení semenáčků při stálém dlouhodobém oteplování bylo pozorováno i ve studiích probíhajících v terénu (Diemer 2002; Mondoni et al. 2015).

Arktické a alpínské druhy jsou všeobecně známé svojí odolností vůči klimatickým extrémům, ale semenáče tuto schopnost ještě nemají plně vyvinutou a jsou proto velmi zranitelné (Körner 2003). Podléhají působením nízkých teplot, krátkému vegetativnímu období a výraznému suchu během letního období (Marcante et al. 2014).

Ve studii (Graae et al. 2009) na arktických bylinách byl zaznamenán pozdější a snížený výskyt mladých rostlin při působení vyšších teplot o 2–8°C na povrch půdy během 13 dnů, simulující možné delší vlny veder v budoucnu. Ale pokles počtu uchycených semenáčků může být v budoucnu vykompenzován vyšší produkcí semen důsledkem globálního oteplování. Nejvíce byly negativně zasaženy semenáče rostlin, které klíčí na začátku nového vegetativního období (Shevtsova et al. 2009). Další pokus zaměřený na semenáčky, využívající vysazování do nových podmínek, ukázal zda mladé rostliny reagují na změnu klimatu během klíčení či mají tyto vlastnosti geneticky dány. Klíčení populací bylo ovlivněno převážně aktuálním klimatem, kromě jednoho druhu, kde se jednalo o adaptivní odpověď (Meineri et al. 2013).

V recentní studii (Mondoni et al. 2015) probíhající v terénu vysázeli semena z výšky 2500 m.n.m. do lokality s 2100 m.n.m. se stejnými ekologickými podmínkami, včetně půdy získané z původní oblasti. Tím přirozeně simulovali oteplení zhruba o 2 až 4°C. Pozorování a sběr dat trval 2 roky. Obecně byly semenáčky většiny druhů úspěšnější ve výšce 2100 m.n.m. – to znamená v teplejších podmínkách. U druhů *Luzula* a *Poa* se výsledky z různých nadmořských výšek nelišily. Také semenáče druhu *Silene ciliata* si lépe vedli zhruba v průměrném rozmezí

nadmořské výšky svého výskytu než na nejnižší a nejvyšší hranici nadmořské výšky (Gimenez-Benavides et al. 2006). Nejnižší a nejvyšší lokality se od sebe lišily o 2,9°C a sníh tál na nižší lokalitě o 18 dní dříve. Hlavní příčinou mortality semenáčů ve studii (Gimenez-Benavides et al. 2006) bylo sucho během letního období i přesto, že semena vyklíčila hned po roztátí sněhu, který zajišťuje vlhkost půdy.

Ve studii (Diemer 2002) byly na druhu *Ranunculus glacialis* během let 1986 – 1997 (celkem 12 let) pozorovány účinky klimatických změn v přirozených podmínkách v terénu. Během 12 let se jednotlivé populace od sebe příliš nelišily a počet jedinců a semenáčků byl zhruba stejný a celkem stabilní v průběhu let. Jediný rozdíl byl, že na plochách na svazích směřujících směrem na jih byla hustota semenáčků vyšší než na plochách směřujících na sever. Je možné, že populace dlouho existujících alpínských druhů, které přežily významné výkyvy klimatických změn v minulosti, se v budoucnu nebudou výrazně měnit v počtu jedinců v populacích (Diemer 2002).

Zkrácení zimního období pravděpodobně nemá přímé účinky na růst klíčících rostlin – konkrétně na druhu *Aciphylla glacialis* ze studie (Hoyle et al. 2014). Rostlinnému druhu stačilo dosáhnout nízké teploty 5°C během chladné periody k prolomení dormance a tím i zlepšení klíčivosti semen. Ale mladé semenáče ze semen klíčících po působení kratšího zimního období nebyly nijak znevýhodněny oproti semenům, na která působila delší zimní období (Hoyle et al. 2014).

Navození výraznějšího sucha a oteplení během 4 let v mediteránní oblasti ve výzkumu (Lloret et al. 2004) snížilo druhovou diverzitu mladých semenáčků, ale ne jejich počet. Také ve studii (Fonty et al. 2009) byla vysledována redukce druhového bohatství rostlinstva na území Jižní Ameriky z důvodu oteplování až o 2°C a sucha v posledních 50 letech. Toto oteplení má negativní účinky na mladé semenáčky. Bylinné patro není tímto jevem příliš ovlivněno.

Zvýšení srážek dopadajících na pevninu v aridních oblastech Jižní Ameriky během El Niño jevu podporuje rostlinnou produkci a tím se i zvyšuje produkce semen. V oblasti Chile byla hustota semen větší během El Niño roků než během regulárních roků. S vhodnými podmínkami se klíčení zvýšilo a bylo následováno zvýšenou produkcí nových semen (Gutiérrez & Meserve 2003; Gutiérrez et al. 2000). Výsledky ukazují důležitost tohoto jevu v souvislosti s obnovením a udržení efemérní vegetace v aridní oblasti Chile. Ve studii (Horvitz & Schemske 1994) bylo uchycení semenáčků tropického druhu *Calathea ovandensis* mnohem výraznější během El Niño roků oproti jiným roků.

Mezidruhové studie také převládají při výzkumu teplotních změn na semenáčky. Ze studií vyplývá, že působením oteplování a nedostatku srážek dochází k redukci počtu přeživších jedinců především u horských a arktických druhů. Dále došlo k oddálení jejich růstu z letní sezóny na podzimní sezónu či rostly brzy na jaře hned po roztátí sněhu.

U vnitrodruhových studií (Gimenez-Benavides et al. 2006) a (Hoyle et al. 2014) se ukázalo, že semenáče populací druhů nacházejících se ve středních nadmořských výškách svého výskytu si vedou nejlépe. Délka zimního období signifikantně neovlivnila uchycení semenáček a největší abiotický stres způsobující mortalitu semenáček při zvýšení teploty bylo také sucho během letního období. Semenáče jsou převážně ovlivněny aktuálními podmínkami ve kterých rostou, oproti semenům, která mohou být předem adaptována na prostředí, ze kterého pocházejí.

4.5. Vliv variability množství oxidu uhličitého na klíčení a semenáčky

Nárůst množství oxidu uhličitého v atmosféře ovlivňuje vegetativní růst rostlin, ale do jaké míry nárůst oxidu uhličitého v ovzduší ovlivňuje jeho množství v půdě a klíčení semen není tolik zřejmé (Fenner & Thompson 2005). 2-5% oxidu uhličitého v půdě může klíčení iniciovat a hladiny vyšší než 5% v půdě mohou klíčení některých druhů podpořit (Baskin & Baskin 2014). Například u druhu *Trifolium pratense* bylo klíčení urychleno a u druhu *Briza media* prodlouženo při koncentracích 650 ppm oxidu uhličitého v atmosféře (Thurig et al. 2003).

Ve studii (Andalo et al. 1996) sledovali produkci semen a jejich klíčení u druhu *Arabidopsis thaliana* při zvýšené hodnotě atmosférického oxidu uhličitého na 700 ppm a při současné hodnotě 350 ppm. Zvýšené množství oxidu uhličitého při produkci semen a jejich zrání na mateřské rostlině snížilo jejich klíčivost. Zatímco zvýšené množství plynu působícího pouze při klíčení semen nemělo žádné významné účinky, účinky zvýšené hodnoty oxidu uhličitého při produkci i klíčení semen zároveň zpomalily a snížily klíčení. Naopak v podobné studii (Wulff & Alexander 1985) působením 350 ppm a 675 ppm oxidu uhličitého na druhu *Plantago lanceolata* se ukázalo, že vyšší koncentrace oxidu uhličitého u většiny jedinců zvýšily klíčivost semen a zvětšily velikost plochy listů mladých rostlin. Klíčení *Triticum aestivum* v podmínkách s koncentrací oxidu uhličitého 350 ppm, 700 ppm a 1000 ppm ukázalo vnitrodruhovou variabilitu v klíčení druhu (Bai et al. 2003). Semena klíčila podle tří schémat: 1) semena klíčila lépe ve vyšších koncentracích oxidu uhličitého, 2) semena klíčila méně ve vyšších koncentracích a 3) semena méně klíčila při 700ppm oxidu uhličitého, ale při

1000ppm nedošlo ke snížení klíčení (Bai et al. 2003). Výsledky studií (Miao 1995; Wulff & Alexander 1985) také ukázaly vnitrodruhovou variabilitu v odpovědi na zvýšené množství oxidu uhličitého ve velikosti semen a jejich klíčivosti.

Ve výzkumu (Edwards, Newton, et al. 2001) porovnávali účinky 360 ppm a 475 ppm oxidu uhličitého na klíčení a semenáčky 6 druhů. Výsledky byly dost variabilní. Růst semenáčků druhů *Cerastium glomeratum* a *Poa pratensis* nebyly nijak ovlivněny. Druhy *Anthoxanthum odoratum*, *Lolium perenne* a *Trifolium repens* lépe klíčily ve zvýšených koncentracích oxidu uhličitého a biomasa semenáčků *Trifolium repens* byla větší při 475 ppm než při 360 ppm. Naopak druh *Leontodon saxatilis* méně klíčil a měl menší semenáčky při zvýšených hodnotách oxidu uhličitého. Další studie (Edwards, Clark, et al. 2001) zaměřená na semenáčky ukázala, že koncentrace 475 ppm oxidu uhličitého v atmosféře podpořila počet vyklíčených semenáčků u některých druhů, ale u žádného druhu nijak neovlivnila jejich přežití.

Objevuje se velká mezidruhová i vnitrodruhová variabilita v reakci klíčení na zvýšené hladiny oxidu uhličitého. To může znamenat, že některé druhy by mohly v budoucnosti z vyššího množství oxidu uhličitého profitovat a více se rozšířit a druhy, které reagují negativně na vyšší koncentraci oxidu uhličitého by mohly svůj výskyt zúžit nebo dokonce by mohly postupně vymizet. Vliv zvýšeného obsahu oxidu uhličitého na semenáčky se projevuje u většiny druhů pozitivně a to jejich větší biomasou a větší plochou listů.

5. Metodika studování klíčení semen

Před zahájením pokusů na klíčení je nutné zvolit vhodný způsob sběru semen. Semena by měla být sbírána až při plné zralosti, která je u odlišných druhů v různém ročním období. Variabilita v období dozrávání semen se může objevovat i u různých populací stejného druhu. Nebo pokud semena dozrávají postupně je nutné nezralá semena nechat ve vhodných podmínkách uzrát. Dále u dormantních semen je nutné vhodným způsobem prolomit dormanci ať už se jedná o fyziologickou nebo fyzickou dormanci. (Baskin & Baskin 2014)

Po sběru je nutné semena vhodně skladovat do začátku pokusu. Nasbíraná semena se často ukládají do látkových pytlíčků a uchovávají se při pokojové teplotě v suchu nebo v kontrolovaných laboratorních podmínkách nastavených podle nasbíraných dat v původní lokalitě (Baskin & Baskin 2014; Mondoni et al. 2015). V látkových obalech lze semena vystavit přirozeným podmínkám v terénu přímo v lokalitě odkud semena pocházejí (Baskin et al. 2002). To simuluje přirozené teplotní a vlhkostní okolnosti (Baskin & Baskin 2014).

Semena se dále nechají otestovat na klíčivost (náhodně se vyberou semena ze všech nasbíraných semen, která jsou k dispozici a ty se nechají vyklíčit) a životaschopnost semen (nejčastěji barvení tetrazoliem) před samotným zahájením pokusů.

Pokusy na klíčení a uchycení semenáčků probíhají jak v kontrolovaných laboratorních podmínkách tak i externě v terénu. Většina studií používá optimální inkubační teploty k testování klíčivosti, které se pohybují v rozmezí od 10 do 25 °C (Baskin & Baskin 2014). Nicméně výsledky v laboratorních podmínkách se nedají spolehlivě srovnávat s reálnými podmínkami (Shimono & Kudo 2005).

5.1. Testování klíčení semen v kontrolovaných laboratorních podmínkách

Klíčení v průměru 30 semen se často provádí v plastových či skleněných Petriho miskách. Lze použít i jiné menší nádoby. Velikost misky a počet semen v jedné misce závisí na velikosti semen. Do Petriho misky lze použít jako substrát zemina (Baskin et al. 2002; Milbau et al. 2009), filtrační papír (Giménez-Benavides et al. 2005), navlhčené papírové ubrousky (Cavieres & Arroyo 2000) či agar (Bernareggi et al. 2015; Hoyle et al. 2014). Vlhkost je zajištěna navlhčením substrátu destilovanou vodou (Baskin & Baskin 2014). Petriho misky lze zalepit Parafilmem proti úniku vlhkosti (Hoyle et al. 2014; Milbau et al. 2009). Semena se nechají klíčit a po určitém intervalu v rozmezí dnů až jednoho týdne se již vyklíčená semena spočítají a odstraní z misky. Nevyklíčená semena jsou vráceny do kontrolovaných podmínek a

experiment dál probíhá. Jako vyklíčené semeno se považuje semeno s viditelnou radikulou nebo s radikulou do určité délky. Ve studiích (Bernareggi et al. 2015; Mondoni et al. 2015) radikula musela dosáhnout 2mm. Již vyklíčená semena lze dále použít třeba k pozorování uchycení semenáček (Hoyle et al. 2014). Pokus končí, když po určité době již žádná další semena v celém experimentu nevyklíčí. Tyto nevyklíčená semena jsou testována na životaschopnost nebo rozříznuta a je zkontrolováno zda uvnitř nechybí embryo (Bernareggi et al. 2015).

Kromě účinků teploty případně i její variability lze také sledovat účinky různé vlhkosti na klíčení semen. Místo vody ke zvlhčení filtračního papíru v Petriho misce byl ve studii (Walder & Erschbamer 2015) použit polyetylene glykol, který simuloval suché podmínky. Také ve studii (Pérez-Fernández et al. 2006) použili různé poměry polyetylen glykolu s destilovanou vodou jako simulaci nedostatku srážek.

Misky jsou umístěny do růstových komor nebo klimaboxů (Bernareggi et al. 2015; Baskin et al. 2002; Milbau et al. 2009) či do skleníků (Hoyle et al. 2013), kde lze kontrolovat kvalitu, kvantitu a délku denního světla, teplotu a vlhkost ovzduší, v některých případech i složení vzduchu. Použité hodnoty klimatických podmínek jsou získané z meteorologických stanic, z odborné literatury nebo jsou získané vlastním měřením. Ve studii (Mondoni et al. 2015) udržovali teplotu půdy ve skleníku změnou teploty ovzduší a data byla sbírána snímači zahrabanými pod povrchem půdy.

Pozoruje se klíčivost, rychlost a míra klíčení, časování klíčení a nároky na klíčení mezi druhy nebo v rámci jednoho druhu z různých populací. Misky se mohou v růstových komorách pravidelně přemísťovat, aby se zabránilo nerovnoměrnému působení kontrolovaných podmínek.

5.1.1. Barvení semen tetrazoliem chloridu

Barvení semen tetrazoliem chloridu se zjišťuje životaschopnost embrya. Semena se nechají nasát vodou na vlhkém filtračním papíře při pokojové teplotě po dobu 24 hodin. Poté se skalpelem rozříznou podélně a obě půlky semene necháme v 0,1% roztoku tetrazolia chloridu po dalších 24 hodin při pokojové teplotě (Giménez-Benavides et al. 2005), popřípadě v temnu (Cavieres & Arroyo 2000) či vyšších teplotách až 30 °C (Hoyle et al. 2014). Tmavě růžově až červeně zbarvená semena jsou považována za životaschopná a neobarvená semena za neživotaschopná.

5.2. Testování klíčení semen v terénních podmínkách, pozorování semenáčků

Semena se zasadí do předem vymezených ploch nejčastěji obdélníkového tvaru nebo do květináčů. Plochy mohou být plošně vymezené (Diemer 2002) nebo ohraničené od okolní půdy bednami (Shevtsova et al. 2009). Plochy lze ochránit před predátory a vybranými nežádoucími vlivy. Semena se sází do půdy, která může pocházet z původní lokality sběru semen (Mondoni et al. 2015), z podobné lokality (Shevtsova et al. 2009) nebo z koupené komerční směsi. Semena a vyklíčené semenáče jsou do nových podmínek vysázeny a tyto podmínky jsou přirozené a nekontrolované a odpovídají potřebným podmínkám k experimentu (Müller et al. 2011; Mondoni et al. 2015). Nebo lze podmínky částečně kontrolovat třeba zahříváním (Shevtsova et al. 2009) nebo pravidelným zavlažováním (Shevtsova et al. 2009; Marcante et al. 2014). Pozorované plochy můžeme pravidelně přemísťovat v částečně kontrolovaných podmínkách, pokud je to technicky možné (třeba v případě vysazení do beden a květináčů), aby se zamezilo nerovnoměrnému působení faktorů.

Lze ponechat některou vymezenou plochu bez studovaného druhu, bez zásahu či s působením původních podmínek pro porovnání s výsledky experimentu. Data o teplotě, popřípadě vlhkosti, jsou sbírány speciálními přístroji a čidly nebo jsou použity záznamy z nejbližší meteorologické stanice od lokality.

Plochy je třeba pravidelně navštěvovat a kontrolovat v určitých intervalech – například ve studii (Diemer 2002) po 10 dnech. Nejčastěji se pozoruje počet semenáčků, vitalita, jejich úspěšné uchycení se a sleduje se míra mortality semenáčků (Mondoni et al. 2015). Jedince je třeba spočítat popřípadě vhodně označit do další kontroly (Meineri et al. 2013). Lokality se sledují delší dobu – nejkratší je zhruba 2 roky až po desítky let.

5.3. Speciální metody kontroly venkovních podmínek

Existují speciální zařízení a metody ke změně aktuálních okolních podmínek. Dále popsané metody jsou používány v terénních podmínkách.

5.3.1. FATI – Free Air Temperature Increase systém

FATI systém byl použit v práci (Nijs et al. 1996). Tato technika umožňuje zvýšit teplotu okolní atmosféry nad porostem v terénních podmínkách bez potřeby uzavření prostoru nad porostem. Díky tomuto systému je na malé ploše do omezené výšky simulována zvýšená teplota podobná teplotě, která by mohla nastat při globálním oteplení. Zahřívání probíhá pomocí infračervených lamp, ze kterých je dále díky filtrům odstraněno záření pod délkou

800nm, z důvodu zabránění dalších účinků světla na rostliny a tím dosažení pouze působení zvýšené teploty. Teplota plochy se zvýšenou teplotou se řídí pomocí čidel umístěných na ploše bez FATI systému. Tento systém zajišťuje zvýšení teploty o 2,5 °C nebo více na zahřívání plochách oproti aktuální teplotě na nezahřívané ploše.

Tato metoda byla využita v mnoho studiích – konkrétně při studiu klíčení a uchycení se semenáčků byla použita ve studii (Shevtsova et al. 2009) a ve studii (Graae et al. 2009) byla použita na simulaci vln veder na semenáčky v arktické oblasti.

5.3.2. FACE – Free Air Carbon dioxide Enrichment systém

Poprvé byl FACE systém představen v práci (Hendrey et al. 1993). Tento systém spočívá v obohacování okolního vzduchu oxidem uhličitým v otevřeném prostoru. Do kruhu rozmístěné trubky jsou zapíchnuté vertikálně v půdě a jsou napojené na zdroj. Průměr kruhu se může měnit od pár metrů po desítky metrů. Po spuštění tyto trubky směrem do středu kruhu do okolního vzduchu emitují vzduch obohacený o požadovanou větší koncentraci oxidu uhličitého. Ve zdroji se nachází kapalný oxid uhličitý a nechá se pod tlakem postupně převést do plynu a následně je vypuštěn do okolní atmosféry. Celý systém je řízen počítači, které měří koncentraci, rychlost vypouštění obohaceného plynu, rychlost a směr větru, aby byla udržena požadovaná koncentrace oxidu uhličitého.

Ve studii (Edwards, Newton, et al. 2001) za použití této metody sledovali účinky vyšší koncentrace oxidu uhličitého na klíčení a velikost semenáčků a ve studii (Edwards, Clark, et al. 2001) na přežití a počet semenáčků.

6. Diplomová práce

Dosud zveřejněné studie sledují především vliv klimatických změn na mezidruhovou variabilitu v klíčení. Studií vlivu klimatických změn na vnitrodruhovou variabilitu klíčení je podstatně méně a proto bych se chtěla v budoucí práci zaměřit na vnitrodruhovou variabilitu. V diplomové práci bych se věnovala vlivu klimatických změn na vybraný modelový druh a jeho klíčení a uchycování semenáčků. Jednalo by se o sledování vlastností klíčení u druhu *Festuca rubra* (kostřava červená) při působení variabilních teplot a vlhkosti. Dále chci sledovat zda reakce druhu na různé klimatické podmínky závisí na původu rostliny a jejích semen, jak se tato reakce liší u různých populacích tohoto druhu a jak probíhá selekce genotypů při vysazení semen z jedné populace do různých prostředí.

Diplomová práce bude využívat rostlinný materiál z 12 lokalit popsaných v již zmíněné studii (Meineri et al. 2013). Tento klimatický gradient se nachází v západním Norsku. Jednotlivé lokality se od sebe liší 3 různě teplými letními obdobími a 4 různými mírami průměrných ročních srážek. Tyto faktory jsou přirozeně kombinovány v gradientu. Tímto lze pozorovat jednotlivé teplotní a vlhkostní faktory nezávisle na sobě. Na 1 z 12 ploch se *Festuca rubra* nevyskytuje. Tento druh má velký areál rozšíření a snáší široké rozmezí klimatických podmínek. Rozmnožuje se vegetativně i generativně.

7. Závěr

Účinky klimatických změn souvisejících s dnešním globálním oteplováním na klíčení rostlin a uchycování jejich semenáčků nejsou zatím důkladně prozkoumány. Globální oteplování se týká vegetace celého světa. Nejvíce se změny dotknou arktických a horských oblastí. Z již získaných výsledků je zřejmé, že pomalu dochází ke změnám v časování klíčení některých druhů a i míře klíčivosti semen. Výsledky ukazují redukci v klíčení u většiny druhů vlivem vyšších teplot a nedostatku srážek. Pozorujeme delší vegetativní sezónu, která může negativní účinky na klíčení vykompenzovat stejně jako zrychlení klíčení. Budoucí změna klimatu může ovlivnit rozšíření některých druhů na nové lokality. Může dojít k zvýšení počtu jedinců druhu díky rychlejšímu klíčení a lepší klíčivosti semen a zároveň také lepšímu přežívání semenáčků. Na druhou stranu může dojít ke zhoršení schopnosti klíčit a to může znamenat snížení konkurenceschopnosti a úbytek až zánik populací některých rostlinných druhů.

V současnosti převažují mezidruhové studie této problematiky nad studiiemi vnitrodruhovými. Výsledky vnitrodruhových výzkumů ukazuje, že klíčení v rámci jednoho druhu z různých populací je lepší při vyšších teplotách než současných teplotách, ale je nutná dostatečná dostupnost vody během klíčení. Původ rostliny může hrát roli při klíčení tím, že semena vyprodukovaná v teplých podmínkách jsou adaptována na vyšší teplotní stres než semena z chladných oblastí.

Z dosud získaných dat vyplývá, že u většiny druhů celkově převažují pozitivní účinky nad negativními účinky oteplování klimatu na klíčení semen. Globální oteplování podporuje a zlepšuje klíčení většiny druhů.

Seznam použité literatury

- Abatzoglou, J. et al., 2007. Climate-change effects: Global and local views. In J. F. C. DiMento & P. Doughman, eds. *Climate Change: What it means for us, our children, and our grandchildren*. The MIT Press.
- Andalo, C. et al., 1996. Elevated CO₂ decreases seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Global Change Biology*, 2(2), pp.129–135.
- Angevine, M.W. & Chabot, B.F., 1979. Seed Germination Syndromes in Higher Plants. In *Topics in Plant Population Biology*. London: Macmillan Education UK, pp. 188–206.
- Bai, Y. et al., 2003. Variations in germination and grain quality within a rust resistant common wheat germplasm as affected by parental CO₂ conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 50(2), pp.159–168.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M., 2014. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination* Second edi., Academic Press.
- Baskin, C.C., Zackrisson, O. & Baskin, J.M., 2002. Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. *American Journal of Botany*, 89(3), pp.486–493.
- Beniston, M., 2003. Climatic Change in Mountain Regions : *Climate Change*, 59, pp.5–31.
- Beniston, M., Diaz, H.F. & Bradley, R.S., 1997. Climatic change at high elevation sites: An overview. *Climatic Change*, 36, pp.233–251.
- Bernareggi, G. et al., 2015. Climate warming could increase seed longevity of alpine snowbed plants. *Alpine Botany*, 125(2), pp.69–78.
- Bewley, J., 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant cell*, 9(7), pp.1055–1066.
- Bradford, K.J., 1990. A Water Relations Analysis of Seed Germination Rates. *Plant Physiology*, 94(2), pp.840–849.
- Briceño, V.F., Hoyle, G.L. & Nicotra, A.B., 2015. Seeds at risk: How will a changing alpine climate affect regeneration from seeds in alpine areas? *Alpine Botany*, 125(2), pp.59–68.
- Callaghan, T. V et al., 2004. Biodiversity, Distributions and Adaptations of Arctic Species in the Context of Environmental Change. *Ambio*, 33(7), pp.404–417.
- Cavieres, L.A. & Arroyo, M.T.K., 2000. Seed Germination Response to Cold Stratification Period and Thermal Regime in *Phacelia secunda* (Hydrophyllaceae): Altitudinal Variation in the Mediterranean Andes of Central Chile. *Plant Ecology*, 149(1), pp.1–8.
- Connolly, B.M. & Orrock, J.L., 2015. Climatic variation and seed persistence: freeze–thaw cycles lower survival via the joint action of abiotic stress and fungal pathogens. *Oecologia*, 179(2), pp.609–616.

- Densmore, R. V., 1997. Effect of Day Length on Germination of Seeds Collected in Alaska. *American Journal of Botany*, 84(2), pp.274–278.
- Diemer, M., 2002. Population stasis in a high-elevation herbaceous plant under moderate climate warming. *Basic and Applied Ecology*, 3(1), pp.77–83.
- Easterling, D.R., 2000. Climate Extremes: Observations, Modeling, and Impacts. *Science*, 289(5487), pp.2068–2074.
- Edwards, G.R., Newton, P.C.D., et al., 2001. Seedling performance of pasture species under elevated co2. *New Phytologist*, 150(2), pp.359–369.
- Edwards, G.R., Clark, H. & Newton, P.C.D., 2001. The effects of elevated CO2 on seed production and seedling recruitment in a sheep-grazed pasture. *Oecologia*, 127(3), pp.383–394.
- Fenner, M. & Thompson, K., 2005. *The Ecology of Seeds*, New York: Cambridge University Press.
- Fernandez-Pascual, E., Seal, C.E. & Pritchard, H.W., 2015. Simulating the germination response to diurnally alternating temperatures under climate change scenarios: comparative studies on *Carex diandra* seeds. *Annals of Botany*, 115(2), pp.201–209.
- Finch-Savage, W.E. & Leubner-Metzger, G., 2006. Seed dormancy and the control of germination - Finch-Savage - 2006 - New Phytologist - Wiley Online Library. *The New phytologist*, 171(3), pp.501–23.
- Fonty, E. et al., 2009. A 10-year decrease in plant species richness on a neotropical inselberg: Detrimental effects of global warming? *Global Change Biology*, 15(10), pp.2360–2374.
- Germaine, H.L. & McPherson, G.R., 1998. Effects of timing of precipitation and acorn harvest date on emergence of *Quercus emoryi*. *Journal of Vegetation Science*, 9(2), pp.157–160.
- Gimenez-Benavides, L., Escudero, A. & Iriondo, J.M., 2006. Local Adaptation Enhances Seedling Recruitment Along an Altitudinal Gradient in a High Mountain Mediterranean Plant. *Annals of Botany*, 99(4), pp.723–734.
- Giménez-Benavides, L., Escudero, A. & Pérez-García, F., 2005. Seed germination of high mountain Mediterranean species: altitudinal, interpopulation and interannual variability. *Ecological Research*, 20(4), pp.433–444.
- Graae, B.J. et al., 2009. The effect of an early-season short-term heat pulse on plant recruitment in the Arctic. *Polar Biology*, 32(8), pp.1117–1126.
- Graae, B.J., Alsos, I.G. & Ejrnaes, R., 2008. The impact of temperature regimes on development, dormancy breaking and germination of dwarf shrub seeds from arctic,

- alpine and boreal sites. *Plant Ecology*, 198(2), pp.275–284.
- Grime, J.P. et al., 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*, 69(3), pp.1017–1059.
- Gutiérrez, J.R., Arancio, G. & Jaksic, F.M., 2000. Variation in vegetation and seed bank in a Chilean semi-arid community affected by ENSO 1997. *Journal of Vegetation Science*, 11(5), pp.641–648.
- Gutiérrez, J.R. & Meserve, P.L., 2003. El Niño effects on soil seed bank dynamics in north-central Chile. *Oecologia*, 134(4), pp.511–517.
- Harsch, M.A. et al., 2009. Are treelines advancing? A global meta-analysis of treeline response to climate warming. *Ecology Letters*, 12(10), pp.1040–1049.
- Harvell, C.D., 2002. Climate Warming and Disease Risks for Terrestrial and Marine Biota. *Science*, 296(5576), pp.2158–2162.
- Hendrey, G.R., Lewin, K.F. & Nagy, J., 1993. Free air carbon dioxide enrichment : development , progress , results. *Vegetatio*, 104(January), pp.16–31.
- Heydecker, W. & Orphanos, P.I., 1968. The effect of excess moisture on the germination of *Spinacia oleracea* L. *Planta*, 83(3), pp.237–247.
- Horvitz, C.C. & Schemske, D.W., 1994. Effects of Dispersers, Gaps, and Predators on Dormancy and Seedling Emergence in a Tropical Herb. *Ecology*, 75(7), p.1949.
- Houghton, J., 1998. *Globální oteplování: Úvod do studia změn klimatu a prostředí*, Praha: Academia.
- Hoyle, G.L. et al., 2014. Effects of reduced winter duration on seed dormancy and germination in six populations of the alpine herb *Aciphyllia glacialis* (Apiaceae). *Conservation Physiology*, 2, pp.1–11.
- Hoyle, G.L. et al., 2013. Soil warming increases plant species richness but decreases germination from the alpine soil seed bank. *Global Change Biology*, 19(5), pp.1549–1561.
- Hunter, J.R. & Erickson, A.E., 1952. Relation of seed germination to soil moisture tension. *Agronomy Journal*, 44(3), pp.107–109.
- IPCC, Team, C.W. & Pachauri RK, R.A., 2014. *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis* Intergovernmental Panel on Climate Change, ed., Cambridge: Cambridge University Press.
- Jump, A.S. & Peñuelas, J., 2005. Running to stand still: Adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, 8(9), pp.1010–1020.
- Klady, R.A., Henry, G.H.R. & Lemay, V., 2011. Changes in high arctic tundra plant

- reproduction in response to long-term experimental warming. *Global Change Biology*, 17(4), pp.1611–1624.
- Körner, C., 2003. *Alpine Plant Life*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Kullman, L., 2002. Rapid recent range-margin rise of tree and shrub species in the Swedish Scandes. *Journal of Ecology*, 90(1), pp.68–77.
- Leishman, M.R. & Westoby, M., 1994. The Role of Seed Size in Seedling Establishment in Dry Soil- Conditions - Experimental-Evidence from Semiarid Species. *Journal of Ecology*, 82(2), pp.249–258.
- Lenoir, J. et al., 2008. A Significant Upward Shift in Plant Species Optimum Elevation During the 20th Century. *Science*, 320(5884), pp.1768–1771.
- Liu, K. et al., 2011. Effect of storage conditions on germination of seeds of 489 species from high elevation grasslands of the eastern Tibet Plateau and some implications for climate change. *American Journal of Botany*, 98(1), pp.12–19.
- Lloret, F., Penuelas, J. & Estiarte, M., 2004. Experimental evidence of reduced diversity of seedlings due to climate modification in a Mediterranean-type community. *Global Change Biology*, 10(2), pp.248–258.
- Marcante, S. et al., 2012. Frost as a limiting factor for recruitment and establishment of early development stages in an alpine glacier foreland? F. Bello, ed. *Journal of Vegetation Science*, 23(5), pp.858–868.
- Marcante, S. et al., 2014. Heat tolerance of early developmental stages of glacier foreland species in the growth chamber and in the field. *Plant Ecology*, 215(7), pp.747–758.
- McCabe, G.J. & Wolock, D.M., 2010. Long-term variability in Northern Hemisphere snow cover and associations with warmer winters. *Climatic Change*, 99(1), pp.141–153.
- Meineri, E., Spindelböck, J. & Vandvik, V., 2013. Seedling emergence responds to both seed source and recruitment site climates: A climate change experiment combining transplant and gradient approaches. *Plant Ecology*, 214(4), pp.607–619.
- Miao, S., 1995. Acorn mass and seedling growth in *Quercus rubra* in response to elevated CO₂. *Journal of Vegetation Science*, 6(5), pp.697–700.
- Milbau, A. et al., 2009. Effects of a warmer climate on seed germination in the subarctic. *Annals of Botany*, 104(2), pp.287–296.
- Mondoni, A. et al., 2015. Climate warming could increase recruitment success in glacier foreland plants. *Annals of Botany*, 116(6), pp.907–916.
- Mondoni, A. et al., 2012. Climate warming could shift the timing of seed germination in alpine plants. *Annals of Botany*, 110(1), pp.155–164.

- Müller, E., Cooper, E.J. & Alsos, I.G., 2011. Germinability of arctic plants is high in perceived optimal conditions but low in the field. *Botany*, 89(5), pp.337–348.
- Nijs, I. et al., 1996. Free Air Temperature Increase (FATI): a new tool to study global warming effects on plants in the field. *Plant, Cell and Environment*, 19(4), pp.495–502.
- Nishimoto, R.K. & McCarty, L.B., 1997. Fluctuating Temperature and Light Influence Seed Germination of Goosegrass (*Eleusine indica*). *Weed Science*, 45(3), pp.426–429.
- Nyunt, S. & Grabe, D.F., 1987. Induction of secondary dormancy in seeds of meadowfoam (*Limnanthes alba benth.*). *Journal of Seed Technology*, 11(2), pp.103–110.
- Orlowsky, B. & Seneviratne, S.I., 2012. Global changes in extreme events: Regional and seasonal dimension. *Climatic Change*, 110(3-4), pp.669–696.
- Penfield, S. & King, J., 2009. Towards a systems biology approach to understanding seed dormancy and germination. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*.
- Pérez-Fernández, M.A., Calvo-Magro, E. & Ferrer-Castán, D., 2006. Simulation of germination of pioneer species along an experimental drought gradient. *Journal of Environmental Biology*, 27(4), pp.679–685.
- Shevtsova, A. et al., 2009. Critical periods for impact of climate warming on early seedling establishment in subarctic tundra. *Global Change Biology*, 15(11), pp.2662–2680.
- Shimono, Y. & Kudo, G., 2005. Comparisons of germination traits of alpine plants between fellfield and snowbed habitats. *Ecological Research*, 20(2), pp.189–197.
- Shinomura, T., 1997. Phytochrome regulation of seed germination. *Journal of Plant Research*, 110(1), pp.151–161.
- Smith, R.I.L., 1994. Vascular plants as bioindicators of regional warming in Antarctica. *Oecologia*, 99(3-4), pp.322–328.
- Springfield, H.W., 1968. Germination of Winterfat Seeds under Different Moisture Stresses and Temperatures. *Journal of Range Management*, 21(5), p.314.
- Stewart, I.T., 2009. Changes in snowpack and snowmelt runoff for key mountain regions. *Hydrological Processes*, 23(1), pp.78–94.
- Taylorson, R.B., 1979. Response of Weed Seeds to Ethylene and Related Hydrocarbons. *Weed Science*, 27(1), pp.7–10.
- Thompson, K. & Grime, J.P., 1983. A Comparative Study of Germination Responses to Diurnally-Fluctuating Temperatures. *The Journal of Applied Ecology*, 20(1), p.141.
- Thurig, B., Körner, C. & Stöcklin, J., 2003. Seed production and seed quality in a calcareous grassland in elevated CO₂. *Global Change Biology*, 9(6), pp.873–884.

- Totland, O., 1999. Effects of temperature on performance and phenotypic selection on plant traits in alpine *Ranunculus acris*. *Oecologia*, 120(2), pp.242–251.
- Verdú, M. & Traveset, A., 2005. Early emergence enhances plant fitness: A phylogenetically controlled meta-analysis. *Ecology*, 86(6), pp.1385–1394.
- Walck, J.L. et al., 2011. Climate change and plant regeneration from seed. *Global Change Biology*, 17(6), pp.2145–2161.
- Walder, T. & Erschbamer, B., 2015. Temperature and drought drive differences in germination responses between congeneric species along altitudinal gradients. *Plant Ecology*, 216(9), pp.1297–1309.
- Westoby, M. et al., 1996. Comparative ecology of seed size and dispersal. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 351(1345), pp.1309–1318.
- Westoby, M. et al., 2002. PLANT ECOLOGICAL STRATEGIES: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33(1), pp.125–159.
- Wetherald, R.T., 2002. Simulation of hydrologic changes associated with global warming. *Journal of Geophysical Research*, 107(D19), p.4379.
- Wulff, R.D. & Alexander, H.M., 1985. Intraspecific variation in the response to CO₂ enrichment in seeds and seedlings of *Plantago lanceolata* L. *Oecologia*, 66(3), pp.458–460.