



Pedagogická  
fakulta  
Faculty  
of Education

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Pedagogická fakulta

Katedra Biologie

**Studium vlivu stresových faktorů na fotosyntézu,  
vodivost průduchů a transpiraci brukve řepky olejky  
(*Brassica napus L. var. napus*)**

Diplomová práce

Vypracovala: Bc. Laura Bicanová

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Renata Ryplová, Ph.D.

České Budějovice 2016

## ANOTACE

Diplomová práce se zabývá vlivem ošetření semenáčků chladným plazmatem jako stresového faktoru na rychlost čisté fotosyntézy, transpiraci a vodivost průduchů brukve řepky olejky (*Brassica napus L. var. napus*). V teoretické části je věnována pozornost chladnému plazmatu, jeho využití a účinky na fyziologii rostlin, procesu fotosyntézy a popisu studované plodiny řepky olejné. Na literární přehled dané problematiky navazuje samotný experiment, který studuje vliv chladného plazmatu na fyziologické procesy rostliny. Semena řepky olejky byla ošetřena chladným plazmatem v několika různě dlouhých intervalech a vypěstované rostliny byly podrobeny měření přístrojem Licor Li 6400 XT. Z výsledků experimentu vyplývá, že ošetření semenáčků brukve řepky olejné chladným plazmatem má vliv na fyziologické pochody rostliny v závislosti na délce ozáření a stáří rostliny.

Klíčová slova: fotosyntéza, chladné plazma, brukev řepka olejka, LI-COR 6400 XT

## ANOTATION

The thesis deals with the influence of cold plasma treatment of seeds such as stress factor to the photosynthesis rate, transpiration and stomatal conductance of brassica oilseed rape (*Brassica napus L. var. napus*). The theoretical part is focused on the cold plasma, its application and effects on plant physiology, photosynthetic process and description of examined oilseed rape crops. The literature review is followed by the experiment which studies the influence of cold plasma on the physiological processes of plants. The seeds of oilseed rape have been treated with cold plasma in various intervals and cultivated plants were subjected to measuring device Licor Li 6400 XT. The results show that cold plasma treatment of brassica oilseed rape influences the physiological processes depending on the length of exposure and the plant age.

Key words: photosynthesis, cold plasma, brassica oilseed rape, LI-COR 6400 XT

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě Pedagogickou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledky obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Podpis studenta:

Ráda bych touto cestou poděkovala RNDr. Renatě Ryplové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, za čas, který mi věnovala při práci v laboratoři, při zpracovávání a vyhodnocování výsledků, cenné rady a odborný dohled.

## OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	3
2.1	ROSTLINA A JEJÍ PROSTŘEDÍ.....	3
2.2	FYZIOLOGIE STRESU .....	4
2.2.1	Stres .....	4
2.2.2	Stresové faktory .....	5
2.3	PLAZMA.....	6
2.3.1	Co je plazma .....	6
2.3.2	Výskyt plazmatu .....	6
2.3.3	Vlastnosti plazmatu.....	7
2.3.4	Druhy plazmatu.....	7
2.3.5	Použití netermálního plazmatu.....	8
2.4	ODEZVA ROSTLIN NA OŠETŘENÍ PLAZMATEM.....	9
2.5	FOTOSYNTÉZA .....	13
2.5.1	Faktory prostředí.....	13
2.5.2	Fotosyntetické struktury.....	14
2.5.3	Fotosyntetické pigmenty .....	16
2.5.4	Fotosyntetické procesy .....	16
2.5.5	Limitující faktory fotosyntézy.....	16
2.6	METODY MĚŘENÍ FOTOSYNTÉZY .....	18
2.7	STUDOVANÁ PLODINA .....	20
2.7.1	Morfologie a anatomie .....	21
2.7.2	Podmínky prostředí.....	23
3	METODIKA.....	24
3.1	ROSTLINNÝ MATERIÁL .....	24
3.1.1	Kultivace rostlinného materiálu.....	24
3.2	MĚŘENÍ FOTOSYNTETICKÉ VÝMĚNY PLYNŮ .....	26
3.2.1	LI-COR 6400.....	26
3.2.2	Realizace výzkumu .....	28
3.3	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ .....	29

4	VÝSLEDKY .....	30
4.1	POČET VYKLÍČENÝCH A PRŮMĚRNÉ VÝŠKY ROSTLIN .....	30
4.2	FOTOSYNTETICKÁ VÝMĚNA PLYNŮ.....	32
4.2.1	První cyklus měření (17. den od kultivace) .....	32
4.2.2	Druhý cyklus měření (24. den od kultivace).....	36
4.2.3	Třetí cyklus měření (31. den kultivace) .....	40
4.3	ILUSTROVANÝ PRŮBĚH RŮSTU ROSTLIN V KULTIVAČNÍM BOXU .....	44
4.3.1	Závěrečné porovnání habitu (41. den kultivace) .....	47
5	DISKUZE .....	49
6	ZÁVĚR .....	51
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	52
8	PŘÍLOHY.....	57

# 1 ÚVOD

Brukev řepka olejka patří k nejrozšířenějším a nejstarším hospodářským plodinám v ČR. Ačkoliv bylo za posledních 35 let dosaženo nevídaného šlechtitelského pokroku, má řepkový olej z hlediska kvality v očích mnoha spotřebitelů špatnou pověst. Stále totiž přetrvávají předsudky o problematických vlastnostech oleje vyráběného ze starých odrůd řepky. Realita je ale odlišná, současné odrůdy řepky umožňují výrobu vysoce kvalitního oleje, který je velmi vhodný jak pro potravinářské využití, tak pro technické aplikace. V České republice se nejčastěji využívá pro výrobu bionafty právě olej získaný z řepky olejné (Baranyk, 2013).

Moderní agrikulturní technologie hledají nové postupy, jak dosáhnout co nejvyšší produktivity této plodiny. V době globálních klimatických změn je důležitá znalost fyziologické odpovědi rostliny na stresové faktory okolního prostředí. Produkční proces je v přirozeném prostředí periodicky anebo systematicky ovlivněn řadou limitujících faktorů prostředí, které v rostlinách způsobují stres. Použití různých fyzikálních metod způsobilo revoluci v současném výzkumu agrikultury. Například ionizující záření, laser, elektromagnetické pole a další byly použity pro stimulaci růstu rostlin, zvýšení životaschopnosti osiva a stimulaci pučení osiva, růstu sazenic, zvýšení úrody a stimulaci fotosyntetické činnosti (Henselová et al., 2012). Jedním z aktuálních témat v této oblasti je v současné době možnost ošetření semen chladným plazmatem. Plazma je ionizovaný plyn složený z iontů, elektronů a dalších částic (Bruchanov, 2005). Nejnovější poznatky poukazují na výhody této moderní technologie pro stimulaci růstu rostlin či odolnosti vůči chorobám (Baier et al., 2013, Jiang et al., 2014b).

V posledních letech bylo interpretováno několik prací zabývajících se agrikulturními technologiemi s využitím plazmatu. Práce poukazují na pozitivní vliv ošetření semen plazmatem např. na následnou produktivitu některých rostlin (Jiang et al, 2014a). Jiné studie prokázaly pozitivní vliv na klíčivost semen a počáteční růst rostlin (Šerá et al, 2009). Mráz et al. (2014) doporučuje aplikaci plazmatu jako sterilizaci povrchů.



Podrobnější analýzy dokumentující vliv ošetření semen chladným plazmatem na fyziologické procesy v rostlinném těle nebyly však doposud provedeny. Cílem diplomové práce proto je s využitím gazometrické metody objasnit vliv ošetření semenáčků chladným plazmatem na rychlost fotosyntézy, rychlost transpirace a vodivost průduchů řepky olejné v počáteční fázi ontogeneze. Byl proveden experiment, v jehož rámci byly vypěstovány rostliny v plně kontrolovaných podmínkách v kultivačním boxu ze semen ošetřených při různých časových expozicích (0 min, 3 min a 10min) studeným plazmatem. K modifikaci semen bylo použito atmosférické plazma generované mezi hliníkovými elektrodami. V průběhu experimentu byla sledována rychlost počátečního růstu rostlin jednotlivých variant a následně v pravidelných intervalech měřeny sledované fyziologické parametry. Fotosyntetická produktivita, intenzita transpirace a vodivost průduchů byla měřena přístrojem Licor LI 6400 XT.

V teoretické části je rozebrán dosavadní výzkum plazmatu o vlivu na fyziologické aktivity rostlin, stresové faktory, proces fotosyntézy a popis studované plodiny řepky olejky. Praktická část je věnována vlastnímu výzkumu, vyhodnocení dat a vyvození závěrů.

Hlavním cílem této diplomové práce bylo objasnit odpovědi na následující výzkumné otázky:

- 1) Má ošetření semen studeným plazmatem vliv na hodnoty čisté fotosyntézy, transpirace a vodivosti průduchů?
- 2) Jsou změny ve sledovaných fyziologických hodnotách semenáčků závislé na délce ozáření semen?

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 ROSTLINA A JEJÍ PROSTŘEDÍ

Živé systémy představují dynamické, vysoce uspořádané struktury se stálou výměnou látek. Biologické procesy jsou aktivní děje, které neustále vyžadují tok energie, který je buď uvolňován štěpením organických látek, nebo je rostlinami asimilována energie slunečního záření. Přitom energie nemizí ani nevzniká, což je jeden ze základních podstat života. Rostlina je jako celek otevřená, dynamická, heterotrofní soustava, která je v rovnovážném stavu. Podstatou stability otevřeného systému je schopnost udržovat vlastní dynamickou rovnováhu tím, že se dokáže vracet do výchozího stavu bez podstatných změn své struktury (Kincl a Krpeš, 2006).

Rostlina neustále přijímá signály z vnitřního a vnějšího prostředí a reaguje na ně. Signály jsou přijímány specifickými receptory a senzory a přenáší je po celém těle. Mezi možné signály řadíme světlo, cukry, fytohormony, patogeny, změny vektorového rozložení mechanických tlaků, gradienty iontů a mnohé další faktory ovlivňující růst a vývoj rostlin. Většina signálů způsobuje změny genové exprese, reakce rostliny na signál závisí na vývojovém stádiu rostliny a předchozích vlivech (Luštinec a Žárský, 2003). Jedním ze signálů, který by mohl ovlivnit fyziologické procesy, je ošetření semen chladným plazmatem.

Prostředí, v němž rostlina žije, má podle Kincla a Krpeše (2006) významný vliv na její růst, který je úzce spjat s ostatními životními procesy. Pro růstové a vývojové procesy jsou stanoveny kardinální body. V minimu a v maximu se růst zastavuje, v optimu rostlina roste. Během adaptace rostliny se mohou tyto kardinální body posouvat. Voda je důležitým faktorem ovlivňující růst rostliny, při dehydrataci pletiv se růst zpomaluje. Zvadlé rostliny nerostou. Složení vzduchu ovlivňuje růst, ale i rychlost fotosyntézy. Jedním z nejdůležitějších faktorů životního prostředí, ovlivňující růst a vývoj je záření. Podle Duškové (2009) je množství zářivé energie vhodné vlnové délky a přiměřené hustoty základní životní podmínkou pro autotrofní rostliny.

## **2.2 FYZIOLOGIE STRESU**

Rostliny jsou podle Procházky a kol. (1998) v průběhu života vystavovány velmi proměnlivým podmínkám vnějšího prostředí. Ty mohou značně ovlivňovat jejich životní funkce, ale také poškozovat jednotlivé orgány nebo mohou dokonce vést k jejich uhynutí. Častěji ale působí jen na část rostliny, kde dochází k lokální stresové reakci a ta pak může následně působit i na ostatní orgány. Nepříznivé vlivy, které výrazně ohrožují rostlinu, označujeme jako stresové faktory (stresory). I produkční proces je v přirozeném prostředí periodicky anebo systematicky ovlivněn jedním, často však řadou limitujících faktorů prostředí, které v rostlinách způsobují stres. Problematika stresu u rostlin je komplikovanější nežli ve fyziologii živočichů. Je to dáno tím, že rostliny žijí přisedlým způsobem života a nemohou uniknout před stresorem, ale také větší mezidruhovou variabilitou a heterogenitou prostředí.

### **2.2.1 Stres**

Stres je Luštinem a Žárským (2003) definován jako stav fyziologické zátěže vyvolaný jedním nebo i několika mimořádně nepříznivými vnějšími vlivy nebo podmínkami (stresory) a může, ale i nemusí, vyvolat ohrožení života rostliny. Stres je také definován jako významná odchylka od optimálních podmínek prostředí. Působením stresoru dochází k vychýlení z homeostázi, tedy z relativní stálosti vnitřního prostředí organismu. Vyvolané změny a reakce mohou být na počátku reversibilní, postupně se ale mohou stát permanentními, nevratnými. Rostliny na rozdíl od živočichů mají vyvinuté specifické způsoby rezistence proti stresovým faktorům. Vytvoření této rezistence je obvykle spjato se zvýšenou spotřebou energie na úkor jiných životních funkcí. Na druhou stranu může být mírný stres užitečný, protože zvyšuje odolnost proti extrémním zátěžím.

### 2.2.2 Stresové faktory

Fyzikální, chemické či biotické stresové faktory mohou pronikat do vnitřního prostředí rostlin různých druhů nestejně snadno, a to v důsledku odlišně vyvinutých ochranných struktur (Procházka a kol., 1998).

#### ➤ Fyzikální faktory

- mechanické účinky větru
- nadměrné záření (UV, viditelné)
- extrémní teploty (horko, chlad, mráz)

#### ➤ Chemické faktory

- nedostatek vody (sucho)
- nedostatek živin v půdě
- nedostatek kyslíku
- nadbytek iontů solí a vodíku v půdě
- toxické kovy v půdě či toxické plyny ve vzduchu

#### ➤ Biotické faktory

- herbivorní živočichové (spásači)
- patogenní mikroorganismy (viry, houby, mikroby)
- vzájemné ovlivňování (alelopatie, parazitismus)

## 2.3 PLAZMA

### 2.3.1 Co je plazma

Krčma (2006) ve své publikaci definuje plazma jako kvazineutrální ionizovaný plyn, jehož částice vykazují kolektivní chování. Tím se rozumí, že plazma je schopné jako celek svými projevy generovat globální elektrická a magnetická pole a na taková globální pole reagovat a kvazineutralita vzniká díky přítomnosti volných nabitých částic, kdy se v objemu plazmy vytváří prostorový náboj a elektrostatické pole, které zpětně silově působí na nabitě částice (Bruchanov, 2005).

Jedná se tedy o soubor neutrálních částic, volných elektronů a iontů (kladných i záporných), přičemž v přesně definovaném objemu v tzv. Debyeho kouli je počet záporných i kladných nábojů stejný. Plazma se tedy navenek jeví jako neutrální. Za kolektivní chování je považován vztah částic k vnějšímu elektromagnetickému poli. Záporné částice se pohybují jedním směrem a kladné pak směrem opačným (Stach, 1987).

Plazma představuje nejrozšířenější formu materiální hmoty ve vesmíru a zhruba 99 % hmoty ve vesmíru je ve stavu plazmatu. Tvoří hvězdy, plynoprachové mlhoviny a další kosmické objekty. V pozemských podmínkách se pak s plazmatem běžně setkáváme v podobě blesku a exotické polární záře. Kromě přírodního plazmatu se dnes spíše můžeme setkat s plazmatem uměle generovaným pomocí elektrických výbojů, které se stává základem soudobých pokročilých technologií. Některé názory tvrdí, že plazma je čtvrté skupenství hmoty, protože se naprosto odlišuje od ostatních fází hmoty (Krčma, 2006).

### 2.3.2 Výskyt plazmatu

Většina plazmatu, se kterým je možno se setkat na Zemi je za atmosférického tlaku a má teplotu několik tisíc stupňů Celsia, a proto bychom těžko mohli využít jeho vlastností pro každodenní aplikace. Koncem devadesátých let minulého století byla však vyvinuta technologie, která dokáže připravit plazma za běžného tlaku a pokojové teploty (Bruchanov, 2005).

V běžném životě se nejčastěji můžeme setkat se slabě ionizovaným plazmatem v podobě výbojek (zářivky, výbojky, plazmové displeje a obrazovky ve spotřební elektronice). Za slabě ionizované plazma je označováno plazma, ve kterém koncentrace nabitých částic je podstatně menší nežli koncentrace neutrálních molekul. Nabité částice se převážně srážejí s molekulami plynu. Zatímco v případě silně ionizovaného plazmatu koncentrace nabitých částic převládá a koncentrace neutrálních molekul je, zanedbatelná. Plazma tvořící vesmírné hmoty převažuje v podobě silně ionizované. Podle velikosti střední energie částic je plazma na základě konvence rozdělováno na plazma vysokoteplotní a nízkoteplotní. Za vysokoteplotní je považováno plazma, které má střední energii nabitých částic větší než 100eV. Silně ionizované a vysokoteplotní plazma se v pozemských podmínkách nevyskytuje, zatímco nízkoteplotní plazma je přítomno například ve výše zmíněných zářivkách, výbojkách a také v elektrickém oblouku (Makovec, 2011).

Barák (2003) uvádí prudký rozvoj interdisciplinární oblasti vědecko-výzkumné činnosti. V dnešní době je úspěšně používána řada plazmových technologií i v praxi. Z hlediska technických aplikací je nejrozšířenějším typem výboje v plynech elektrický oblouk, který se vyznačuje velkými hustotami proudu podmiňujícími jeho existenci a malými elektrodoými úbytky napětí.

### **2.3.3 Vlastnosti plazmatu**

Stach (1987) uvádí, že plazma je v mnoha ohledech podobné plynům, liší se pouze tím, že částice v plazmatu jsou elektricky nabité. Klíčovými vlastnosti plazmatu je právě elektrická vodivost, velká tepelná kapacita, působení elektrického i magnetického pole a šíření různých druhů vln. Děje, které probíhají uvnitř plazmatu, se řadí ionizace, srážky nabitých částic, excitace, pohlcování a vyzářování záření a při extrémních podmínkách může docházet i k termojaderným reakcím.

### **2.3.4 Druhy plazmatu**

Plazma v závislosti na pracovní teplotě můžeme dělit na nízkoteplotní a vysokoteplotní.

Termín nízkoteplotní, také užívané chladné či netermální plazma se používá pro teploty 30 – 60°C. Obvykle se vytváří chladné mikrovlnné plazma za vakua, ale také se můžeme setkat s plazmatem vytvářejícím se za atmosférického tlaku, pak je ale nutné při výrobních postupech zajistit účinné chlazení. S tím souvisí výběr použitých plynů, mezi které patří kyslík, dusík nebo helium. Takto vytvořené plazma po vytvoření zůstává v uzavřené komoře přístroje. Suková (2009) uvádí, že se v posledních letech začalo chladné plazma používat k inaktivaci mikroorganismů na povrchu potravin.

Studené plazma se podle Bruchanova (2005) vyrábí tak, že mezi dvě kruhové elektrody s malým otvorem uprostřed se vstříkuje směs helia (97 %) a kyslíku (3 %). Na elektrody je přivedeno napětí několik kilovoltů s frekvencí 50Hz a v prostoru mezi elektrodami se plynná směs ionizuje a promění se na nízkoteplotní plazma mikrosekundovými pulsy elektrického napětí. Za zásadní výhodu je považováno to, že plyn se nezahřívá a nedochází ke vzniku elektrického oblouku.

Vysokoteplotní plazma vzniká při působení vysokých teplot a používá se hlavně pro termonukleární reakce. Při hledání obnovitelné energie se výzkumy zaměřují na možnost ovládat termonukleární fúzi, která je například příčinou hvězdného a slunečního záření (Stach, 1987).

### **2.3.5 Použití netermálního plazmatu**

Nízkoteplotní plazma nachází široké spektrum uplatnění, používá se v různých průmyslových odvětvích. Ošetření povrchu netermálním plazmatem má za následek snížení nebo zvýšení povrchové energie modifikované látky a tím můžeme ovlivňovat smáčivost povrchu nebo se může projevat i dezinfekčními účinky. Největší sterilizační efektivitu má plazma, které obsahuje kyslíkové ionty a radikály. Aktuálně se ošetření plazmatem zkoumá v kontextu se stimulací povrchu osiva. Plazma se vyznačuje schopností dodávat energii a urychlovat reakce (Straňák a kol., 2007).

## 2.4 ODEZVA ROSTLIN NA OŠETŘENÍ PLAZMATEM

Využití chladné plazmy je zavedeno již v několika různých průmyslových procesech a také nachází své místo jako inovativní technologie v potravinářském sektoru. Vliv chladného plazmatu na fyziologické aktivity rostlin není zatím zcela objasněn a v posledních letech je prováděno mnoho studií, které se zabývají vlivem plazmatu jako stresového faktoru na vybrané rostliny. Tématem prozkoumávání je charakter plazmatu, doba jeho aplikace, použité hnací plyny a v neposlední řadě také druh rostliny. Všechny tyto parametry podle Gavřila et al. (2012) silně ovlivňují efekt použité aplikace.

Li Ling et al. (2015) zkoumali vliv ošetření studeným plazmatem na úrodu osiva, růst sazenic a osmotické přizpůsobení řepky stresu sucha. Výsledky ukazují, že při ošetření semen plazmatem a nedostatku vody se zvýšila úrodnost. Navíc se výrazně zvýšil obsah rozpustných cukrů a proteinů. Z výsledků je také patrné, že ošetření semen plazmatem zlepšuje toleranci vůči suchu u řepky tím, že se zvýšila činnost antioxidantních enzymů, zvýšila se osmotická úprava a redukovala se lipidová peroxidáza. Lze tedy konstatovat, že ošetření studeným plazmatem může být použito ke zlepšení úrodnosti a ochraně sazenic řepky proti poškození suchem. Nedostatek vody je jedním z nejhlavnějších stresových faktorů, které limitují růst a úrodu řepky.

Henselová et al. (2012) sledovali vliv ošetření studeným plazmatem na osivo kukuřice seté. Osivo kukuřice seté bylo vystaveno nízkoteplotnímu plazmatu a hodnoceny byly parametry růstu, anatomie kořenů a aktivita některých enzymů. Výsledky poukazují, že růst sazenic byl ovlivněn v závislosti na délce ozáření. Při ozáření 60 vteřin byl zaznamenán pozitivní vliv na pučení, raný růst sazenic a hmotnost sušiny kořenů. Na druhou stranu, prodloužení času ozáření na dobu 120 vteřin mělo potlačující efekt na všechny měřené parametry v porovnání s neošetřeným osivem. Z dalších výsledků bylo zřejmé, že ošetření osiva chladným plazmatem má větší vliv na růst kořenů než výhonků.

Výsledky (Hruškové et al, 2011) prokázali vliv plazmatu na klíčivost máku setého. Bohužel nebyl potvrzen na statisticky významné hladině, jak tomu bylo



u pšenice jarní nebo u ovsu setého. To může být zapříčiněno tím, že testovaná semena patří do různých taxonomických skupin. Obiloviny jsou jednoděložné rostliny, oproti tomu mák patří mezi olejninu a je to dvouděložná rostlina. Plazma tak pravděpodobně interaguje se semeny máku odlišným způsobem, než je tomu u obilnin. Ovšem i nízké zvýšení klíčivosti nebo zrychlení počátečního růstu může být z ekonomického hlediska motivující. Po těchto okolnostech byl v dalších testech (Gavril et al., 2012) zvolen jiný zdroj plazmového výboje a pokus byl proveden na dvou různých kultivarech máku setého. Vzorky u jednotlivých kultivarů se od sebe odlišovaly, a proto byly hodnoceny odděleně. U obou vzorků nedošlo k pozitivnímu ovlivnění klíčivosti, ale byl zjištěn pozitivní vliv k nárůstu délek klíčků u kultivaru v odlišný den. Snadná propustnost osetí máku setého je mimořádně limitující vlastnost pro využití některých úprav kultivarů osiv.

Zkoumán byl také vliv plazmatu u merlíku bílého, u kterého byl aplikován nízkotlaký výboj za účelem stimulace klíčení semen. Šerá et al. (2009) pozorovali po ozáření plazmatem změnu povrchu semen, zlepšení a zrychlení klíčení. Jednotlivé vzorky byly vystaveny různým délkám ošetření studeným plazmatem a výsledky naznačují, že reakce není náhodná.

Jiang et al. (2014a) zkoumal vliv ozáření studeným heliovým plazmatem na klíčení osiva, růst a úrodu pšenice. Studovány byly vlivy různých intenzit ozáření a bylo zjištěno, že ošetření 80W má nejvýraznější potenciál. Při porovnání ošetřených semenáčků s kontrolní skupinou byla zaznamenána výrazně větší výška rostliny i délka kořenů. Současně se zvýšil obsah chlorofylů. Ošetření studeným plazmatem je považováno jako stimulační ošetření k přerušení vegetačního stádia. Důležitým faktorem je ale intenzita ozáření pro jednotlivý druh osiva. Jiang et al. (2014b) zkoumal i možné účinky studeného plazma na rajčatech, které jsou často rychle napadány bakteriemi a vadnou a výrazně se tím snižuje výtěžek. Patogen vstupuje kořeny do rostliny a znemožňuje dopravu vody a to způsobuje vadnutí rajčat. Plazmová úprava má za následek zvýšenou odolnost rajčat až o 25% díky vyšší koncentraci vápníku a boru a vyšší hydrataci a významně zvýšila klíčivost a růst rostlin.

Bahrami et al. (2016) se zaměřil výzkumem, který by mohl modulovat fyzické vlastnosti povrchu pšeničné mouky, kterou ošetřil nízkou úrovní studené plazmy po dobu 60-120 vteřin. Nebyla zjištěna změna v množství bakterií ani v koncentraci škrobu a glykolipidů. Nicméně došlo ke snížení celkového množství volných mastných kyselin a fosfolipidů, díky kterým se urychluje oxidace lipidů. Inovativní složení mouky napomohlo při zpracovávání vzniku silnější a pevnějšího těsta. Je zde tedy potenciál využití studené plazmy k úpravě funkčnosti mouky.

Bormashenko et al. (2012) vystavili spory plavuně vidlačky studenému oxygenovému a nitrogenovému plazmatickému ošetření. Ošetření neovlivnilo morfologii plavuní, ale smáčivé vlastnosti povrchu, které se změnily z hydrofobních na hydrofilní.

Další možnost využití plazmatu je posklizňová sanitační technika. Baier et al. (2013) pokládá použití netermálního nerovnovážného plazmatu za slibný fyzikální přístup vhodný k eliminaci patogenních mikroorganismů, jimiž bývá kontaminována čerstvá kukuřice. Posléze se zabýval další šetrnou sanací čerstvého ovoce a zeleniny aplikací plazmatu. Celé kusy ovoce a zeleniny byly ošetřeny v expoziční komoře po dobu až 10 min a významné účinky byly zaznamenány u barvy rajčat a mrkve, množstvím chlorofylu u okurky, jako nejvhodnější pro takto prováděnou sanaci se jevila jablka (Baier et al., 2015).

Vedle schopnosti inaktivovat nežádoucí mikroorganismy se také ošetření plazmatem může podílet na zintenzivnění sekundárního metabolismu u zemědělsky využívaných rostlin. Bußler et al. (2015) zkoumali vliv ošetření plazmatem na množství flavonoidů u hrachu v různých růstových fázích. Ošetřená semena hrachu dosáhla vyšší klíčivosti a obsahu sušiny, ale snížilo se tempo růstu. Odpovědi hrachu závisí na časovém bodu a trvání ozáření. Míra klíčení semen se zvyšuje s délkou expozice plazmy. Tato studie představuje první krok pro cílenou modifikaci hodnotných sekundárních metabolit.

Jiné užití nerovnovážného nízkoteplotního plazmatu je biomedicínské použití, které ovšem vyžaduje jen minimální zahřátí okolního vzduchu. Teplota plynu by neměla překročit 40°C, aby nedocházelo k poškození živých tkání.

V biomedicínském použití slouží k diagnostice nebo při lékařských postupech. Byly vyvinuty unikátní sondy, které umožňují kontrolu síly ozáření udržet do 1W. Předběžné výsledky ukazují velkou míru selektivity na nádorových buňkách, podporu hojení ran, ošetření plísní a léčení vředů. Výsledky jsou působivé především díky minimálnímu poškození okolních tkání (Petrovič et al, 2012). Mráz et al. (2014) popisuje nízkoteplotní plazmu jako slibný nástroj pro biologickou dekontaminaci a sterilizaci povrchů. Provedl pokus na dvou fytopatogenních bakteriích a výsledky ukázaly, že se výrazně zpomalil růst a rychlost reprodukce.

## 2.5 FOTOSYNTÉZA

Udržení každé formy života je závislé na přísunu energie a hmoty z prostředí. Příjem většiny energie a velké části hmoty se v rostlinách děje v procesu fotosyntéza. Fotosyntéza je ústředním metabolickým procesem v kterémkoli ekosystému a patří k nejstarším a nejdůležitějším biologickým pochodům na Zemi. Autotrofní organismy stojí na počátku potravního řetězce a představují tak primární producenty, které jsou schopné vázat sluneční energii a přeměňovat ji na energii chemických vazeb (Ryplová, 2014). Procházka a kol. (1998) uvádí, že fotoautotrofní rostliny fixací energie ze záření zpřístupní energii nejen pro vlastní metabolismus, ale doslova pro všechny organismy na celé planetě. Kindl a Wober (1981) uvádí, že fotoautotrofní výživa předpokládá na světle závislý elektron-transportní řetězec, který dokáže zásobovat organismus chemickou energií v podobě ATP a redukčními ekvivalenty. Autotrofní organismus je pak primárně odkázán na karboxylující a redukující systém, který přeměňuje CO<sub>2</sub> na organickou sloučeninu.

### 2.5.1 Faktory prostředí

Světlo patří mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující průběh fotosyntézy. Důležité je ale jeho spektrální složení i intenzita světla. Pro průběh fotosyntézy je nejvýhodnější oblast červeného světla, dávající sice méně energie, avšak s velkou využitelností (Šebánek et al., 1989). Pokud jsou listy vystaveny zvyšující se intenzitě světla, zvyšuje se i příjem CO<sub>2</sub> nejdříve úměrně s intenzitou, ale posléze pomaleji až k maximální hodnotě příjmu do tzv. saturační ozáření. Při delším působení vysoké ozáření dochází k poškození fotosyntetického aparátu a výnos fotosyntézy začne klesat. Tento proces nazýváme fotoinhibice (Larcher, 1988).

Teplota na fotosyntézu působí pouze prostřednictvím sekundárních procesů, samotný fotochemický proces je na teplotě téměř nezávislý. Ale pokud je teplota extrémně vysoká nebo nízká, je příjem CO<sub>2</sub> zcela potlačen. Optimum teploty se pohybuje mezi 20 – 30°C (Larcher, 1988).

Voda je důležitá pro zajištění vysokého vodního potenciálu cytoplazmy, ztrátou vody dochází k přímé inhibici fotosyntézy. Nedostatek vody v listu způsobuje

totiž uzavírání průduchů, které chrání rostlinu před nadměrnou ztrátou vody. Faktory prostředí nepůsobí na rostlinu izolovaně, rychlost výměny plynů je výsledkem spolupráce mnoha vnitřních faktorů a faktorů prostředí. Z mnoha faktorů obvykle jeden rychlost fotosyntézy v dané situaci limituje, ale ostatní ji nadále podporují. Při vzájemném prolínání těchto vlivů lze jen zřídka dosáhnout maxima. Ve středních zeměpisných šířkách je z klimatického hlediska nejdůležitějším faktorem světlo. Z globálního hlediska je ale nejvýznamnějším faktorem limitující asimilaci CO<sub>2</sub> nedostatek vody (Larcher, 1988).

## **2.5.2 Fotosyntetické struktury**

Schopnost chlorofylu absorbovat světelné záření je podstatou fotosyntézy, proto její děj probíhá pouze v zelených strukturách. U vyšších rostlin je fotosyntéza soustředěna do listů, které jsou považovány jako hlavní asimilační orgán (Ryplová, 2014).

### *2.5.2.1 Listy*

List je plochý útvar, vývojově uzpůsobený k maximální absorpci slunečního záření a k maximálnímu zkrácení transportních drah. Vnitřní povrch listu je 10-20 krát větší než povrch vnější, tím se výrazně zvětšuje plocha, na které probíhá výměna plynů mezi buňkami mezofylu a vzduchem v intercelulárách. Interceluláry zaujímají 25 až 50 % celkového objemu listu a buňky mezofylu interceluláry ohraničují (Luštinec a Žárský, 2003). Na úrovni celého listu se fotosyntéza projevuje tvorbou asimilátů, tedy zvýšením hmotnosti sušiny, difúzním tokem CO<sub>2</sub> do listu a současně dochází k uvolnění O<sub>2</sub> do atmosféry.

### *2.5.2.2 Chloroplasty*

Ryplová (2014) uvádí, že chloroplasty jsou semiautonomní organely, které mají vlastní chloroplastovou DNA a jejich původ je vysvětlován na základě teorie endosymbiózy. Předpokládá se, že chloroplasty byly prvotně nezávislé mikroorganismy, které pronikly do buňky vyšší rostliny, se kterou se v průběhu symbiózy sžily.

Organely chloroplasty se ve světelném mikroskopu jeví jako zelená tělíška o průměru 5-10  $\mu\text{m}$ , zpravidla bochníčkovitého tvaru. Jedna buňka jich v cytoplazmě obsahuje několik desítek až stovek. Chloroplasty mají na povrchu dvojitou cytoplazmatickou membránu, která obklopuje stroma (Luštinec a Žárský, 2003).

Kindl a Wober (1981) uvádí, že chloroplasty jsou na rozdíl od jiných buněčných kompartmentů svébytný reakční prostor, protože jsou selektivní permeabilním membránovým systémem odděleny od cytoplazmy. Vnější obal chloroplastů má vztah k endoplasmatickému retikulu a vnitřní membrána přechází do lamelového systému tylakoidů, který prochází celým prostorem. Systém lamel je zabudován do stromatu a může být zhuštěna do vrstev, které jsou viditelné ve světelném mikroskopu a označují se jako grana. Chloroplasty také slouží jako rezerva zásobních látek, která je reprezentována jako škrobová zrna nebo tukové globule. Chloroplasty jsou konkrétním druhem plastidů, k nimž můžeme zařadit také chromoplasty nebo amyloplasty.

Do membrán tylakoidů jsou vestavěny membránové proteiny, na které se vážou fotosyntetické pigmenty, a vznikají tak pigmentoproteinové komplexy, které zachycují světelnou energii. Probíhá zde první, tzv. světelná fáze fotosyntézy. Ve stromatu se vyskytují enzymy důležité pro vlastní fixaci oxidu uhličitého v tzv. temnostní fázi fotosyntézy (Ryplová, 2014).

Chloroplasty patří mezi geneticky semiautonomní organely, a proto jejich jednotlivé bílkovinné složky tylakoidní membrány jsou kódovány odlišně. Bílkoviny anténního systému jsou kódovány jadernou DNA, bílkoviny reakčních center fotosystému I a fotosystému II chloroplastovou DNA. Vnější membrána je propustná pro většinu metabolitů a hlavní transportní bariérou je membrána vnitřní. Tylakoidy vznikají vchlípením vnitřní membrány chloroplastu. Podle endosymbiotické teorie vzniku plastidů vnitřní membrána byla plazmatickou membránou endosymbionta (fotosyntetizující sinice), zatímco vnější membrána náležela hostitelské buňce (Barber et Andersson 1992).

Podle Procházky a kol. (1998) je chloroplast nejmenší strukturní i funkční jednotkou, která je i po izolaci schopna absorbovat záření, fixovat CO<sub>2</sub> a zabudovávat uhlík do sacharidů. Většina molekul chlorofylu vytváří tzv. anténní systém, zachycující kvanta záření a předávající excitační energii do reakčního centra.

### 2.5.3 Fotosyntetické pigmenty

Všechny fotosyntetizující organismy obsahují jeden nebo více organických pigmentů absorbujících energii viditelného záření, která spouští fotochemické reakce fotosyntézy. Nejdůležitějším fotosyntetickým pigmentem je **chlorofyl a** nezbytný pro transformaci energie záření v chemickou a ostatní chlorofyly, karotenoidy a fykobiliny lze chápat jako doplňkové pigmenty. Jednotlivé pigmenty jsou vázány na bílkoviny a vytváří pigmentoproteinové komplexy (Kincl a Krpeš, 2006).

### 2.5.4 Fotosyntetické procesy

Fotosyntéza není založena na jediné reakci, ale je to soubor několika dílčích reakcí zahrnujících jednak biofyzikální procesy (absorpce záření a přenos zachycené energie k reakčním centrům), jednak primární fotochemické a redoxní procesy (fotolýza vody, přenos elektronů a vznik adenosintrifosfátu) a jednak sekundární biochemické reakce podílející se na tvorbě organických sloučenin (Krulová, 2007).

Jak uvádí Soukupová a Roháček (2003), fotosyntézu je možné rozdělit na dvě fáze: fázi světelnou (fotofyzikální) a fázi temnostní (chemosyntetickou). Světelná fáze probíhá v tylakoidní membráně, kde dochází k zachycení sluneční energie a její přeměně na energii chemickou, akumulovanou v ATP a NADPH+H<sup>+</sup>. V temnostní fázi je energie v podobě ATP a redukované kofaktory použity k fixaci atmosférického CO<sub>2</sub> a zabudování uhlíku do sacharidů v Calvin-Bensonově cyklu.

### 2.5.5 Limitující faktory fotosyntézy

Dušková (2009) poukazuje, že využití fotosynteticky aktivního záření a rychlost fotosyntézy ovlivňuje celá řada vnitřních a vnějších faktorů. V rámci vnitřních faktorů se jedná o tvar buněk, strukturu intercelulár, ale především

o průběh ontogeneze, stáří listů, otevřenost a počet průduch, typ metabolismu a aktivitu Rubisca. Mezi další patří anatomické a morfologické uspořádání asimilačních orgánů. Maximální rychlost fotosyntézy dosahuje list v období, kdy dosahuje 50-80% své konečné velikosti, jedná se o stav tzv. fotosyntetické dospělosti. V takovémto listu se vyskytuje 4-5 mg chlorofylu na  $0,01\text{m}^2$  listové plochy a poměr chlorofylu a:b je 3:1 až 4:1. V tomto období je v listu největší obsah rostlinných hormonů podporující růst. Nejvyšší rychlost fotosyntézy je v listech ve střední části lodyhy. Mezi vnější faktory ovlivňující využití fotosynteticky aktivního záření a rychlost fotosyntézy zařazujeme obsah minerálních živin, délka vegetačního období, intenzita a spektrální složení světla, koncentrace  $\text{CO}_2$ , teplota a dostupnost vody. Ze všech vnějších faktorů je voda mimořádně významným abiotickým faktorem.



## 2.6 METODY MĚŘENÍ FOTOSYNTÉZY

Ryplová (2014) uvádí, že mírou fotosyntézy je množství asimilovaného  $\text{CO}_2$ . Ale současně s fotosyntetickou asimilací probíhají i procesy opačné, kdy je  $\text{CO}_2$  uvolňováno (respirace a fotorespirace). Celková neboli hrubá fotosyntéza je těmito procesy snižována. Z tohoto důvodu se pro fotosyntetickou aktivitu užívá tzv. čistá fotosyntéza, označována jako  $P_N$ , která je snížena o množství  $\text{CO}_2$  uvolněného dýchacími procesy. Rychlost čisté fotosyntézy se udává v mikromolech oxidu uhličitého na metr čtvereční listové plochy za sekundu.

Podle Procházky (1998) může členění metod vycházet i z obecné rovnice fotosyntézy, kde každá změna z jednotlivých členů může být využita pro měření fotosyntézy. Mezi základní metodické postupy patří stanovení změn rychlosti absorpce  $\text{CO}_2$ . Technicky schůdnější, ale výjimečně využívané je stanovení množství fixované energie. Měření rychlosti tvorby produktů fotosyntézy je základem první, dodnes využívané metody. S rozvojem kyslíkových elektrod se stále častěji využívá stanovení rychlosti na základě výdeje kyslíku.

- **Gravimetrické metody** jsou založeny na stanovení přírůstku hmotnosti sušiny. Při fotosyntéze se vytvářejí asimiláty, které tvoří vlastní biomasu rostliny a dochází tedy k nárůstku hmotnosti sušiny rostliny. Z rostliny se odebere soubor poloviny listů na počátku experimentu a druhá polovina na konci experimentu. Rozdíl v hmotnosti sušiny obou polovin listových čepelí přepočtený na jednotku jejich plochy je mírou čisté fotosyntézy. Gravimetrická metoda patřila ke klíčovým metodám studia fotosyntézy v 60. letech 20. století a dnes je nahrazena metodami gazometrickými. Výhodou této metody je nenáročné přístrojové vybavení (sušárna a analytické váhy). Na druhou stranu se ale jedná o metody nepřilíš přesné a je vždy třeba porovnávat velké množství vzorků rostlinného materiálu (Procházka, 1998).
- **Gazometrické metody** měření fotosyntézy patří mezi metody nepřímé, založené na stanovení rychlosti příjmu oxidu uhličitého plošnou jednotkou asimilačního aparátu rostlin. Koncentrace plynů je měřena

infračervenými analyzátory, které jsou založeny na principu pozitivní filtrace. Tyto analyzátory pracují se selektivním detektorem záření, kterého je dosaženo tím, že vlastním přijímačem energie je druh plynu, jehož koncentraci chceme zjišťovat. Tento plyn pohltí pouze záření ve svém absorpčním pásmu a na záření ostatních vlnových délek, které tento plyn neabsorbuje, detektor nereaguje (Šesták a Čatský, 1966). Ryplová (2014) poukazuje na nutnost pracovat v uzavřeném prostoru, který však zároveň zajišťuje optimální podmínky pro život rostliny. K těmto účelům jsou používány kyvety, tzv. asimilační komory, do kterých je vháněn vzduch o známé koncentraci oxidu uhličitého. Vzduch je posléze z kyvety opět nasáván do přístroje, kde je změřena změna koncentrace oxidu uhličitého. Zároveň je nutné zajistit přístup světla průhledností kyvety. Tyto metody, především s použitím moderních komerčních přístrojů, jsou rychlé, nedestruktivní a umožňují měření celkové bilance uhlíku v rostlině.

- **Oxymetrické metody** využívají Clarkovu kyslíkovou elektroda stanovující koncentraci kyslíku nejčastěji u vodních rostlin. Jedná se o dvě elektrody propojené elektrolytem z chloridu draselného.
- **Fluorometrické metody** měří indukovanou fluorescenci molekul chlorofylu. Jedná se o nedestruktivní metodu a patří mezi moderní metody využívané v rostlinné ekofyziologii. Fluorescence chlorofylu spočívá na schopnosti molekul absorbovat a emitovat záření o určité vlnové délce. Fluorescenční záření vzniká, jakmile se molekula chlorofylu dostává z excitovaného stavu zpět do stavu základního. Při poklesu fotosyntetické aktivity z důvodu působení stresových faktorů dochází zároveň k únikům tepla a fluorescenčního záření. Tohoto vztahu lze využít k zjištění funkční aktivity fotosyntetického aparátu (Ryplová, 2014).

## 2.7 STUDOVANÁ PLODINA

**Řepka olejná** (*Brassica napus* L. var. *Napus*) je dvouděložná rostlina řazena do čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Jedná se o fylogeneticky mladý a vitální druh, který vznikl křížením brukve zelné (*B. oleracea*) a brukve řepice (*B. campestris*). Pěstuje se ve dvou formách, jarní a ozimá řepka, která má výrazně užší areál rozšíření. Na našem území se předpokládá začátek pěstování již v 8. - 10. století. V období středověku byla semena řepky využívána pro výrobu olejů na svícení či pro mydlářství. Od roku 1942 je řepka v Čechách pěstována ve velkém rozsahu. Po roce 1990 se začala také využívat jako energetická surovina. Lisovaná řepková sláma se může využívat jako biomasa pro spalování nebo k výrobě pelet na topení a řepkový olej se velmi často používá při výrobě bionafty. Mezi další možné využití této hojně pěstované plodiny patří výroba mazacích a hydraulických olejů, kosmetických produktů, mýdel, pracích prostředků a masážních olejů (Vašák a kol., 2000).

Hlavní výhodou bionafty je velmi dobrá biologická rozkladnost a nízká tvorba skleníkových plynů ani jiných toxických látek pro životní prostředí. Naopak mezi nevýhody se řadí velká spotřeba jako pohonné hmoty a tím i tedy vyšší produkce řepky olejky (Baranyk a kol., 2010).

Baranyk a kol. (2010) zařazuje řepku jako celosvětově nejvýznamnější olejninu s přibližnou produkcí 55 milionů tun semen. Mezi největší producenty patří Evropská unie, která svou produkci i zpracovává. Za další největší výrobce je považována Čína a Kanada, která je výrazným vývozcem řepky s výrazným vlivem na cenu. Kanadští šlechtitelé také mají zásluhu v genetickém šlechtění, kdy dokázali snížit obsah nežádoucí kyseliny erukové. Díky tomu začal být řepkový olej schopen konkurovat kvalitou oleji olivovému, slunečnicovému či sójovému. Naopak polskému šlechtiteli Krzymanskému se podařilo zlepšit kvalitu extrahovaných šrotů pro krmivářské účely díky snížení obsahu sirných sloučenin (glukosinolátů).

Hlavním řepkovým produktem je již zmiňovaný olej, který nabízí hojně využití v chemickém průmyslu i ve farmacii. Řepka patří mezi první rostliny, které

mohou včely opylovat a včelaři tak mohou vyrábět řepkový med, který se vyznačuje světlou barvou (Malina, 2013).

Baranyk (2013) poukazuje na mimořádně rychlý šlechtitelský pokrok, jenž byl umožněn její vynikající genetickou tvárností a přizpůsobivostí během posledních 35 let. Ale olej ze současných odrůd řepky se svým složením podle Suchánka (2013) blíží oleji olivovému a v některých parametrech ho dokonce předčí, zejména díky vysokému obsahu omega-3 nenasycených mastných kyselin. Zdravotní přínos spočívá v nízkém obsahu nasycených mastných kyselin a velmi vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin. Velmi pozitivní vliv na lidský organismus má přítomnost kyseliny linolenové, která má přínos v prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

### **2.7.1 Morfologie a anatomie**

Řepka olejka patří mezi jednoleté plodiny a v našem podnebném pásu má vegetační dobu 300 – 340 dnů. Semeno řepky vyžaduje pro klíčení 60 hmotnostních procent vody. Minimální teplota je 1°C, ale optimální teplota je 20 až 25 °C. Kořeny rostou již při 2,9 °C a nadzemní biomasa při 5 °C. Zárodečný kořínek začíná vznikat množím meristematických buněk vzrostného vrcholu kořenového systému. Při vzházení se nejprve objevuje ohnutý hypokotyl a tmavě zelené delší lístky, v další fázi se objevují mírně ochlupené pravé lístky (Vašák a kol., 2000).

Listy řepky jsou lyrovitě peřenodílné. Mají tmavozelenou barvu, jsou pokryté hladkým a lesklým voskovým povlakem. Rozlišují se listy rostoucí ve spodní a vrchní části lodyhy. Spodní listy jsou řapíkaté a mají chlupy, horní listy chlupy nemají, jsou celokrajné či ozubené a částečně objímají lodyhu. Délka lodyhy je variabilní, od 125 – 200 cm. Nadzemní část ozimé řepky se vyskytuje ve dvou proměnách. Fáze listové růžice označována jako vegetativní a fáze prodlužovací nebo rychlého růstu označována jako generativní (Baranyk a kol., 2007).

Jak můžeme vidět na obr. č. 1, vytváří řepka hroznovité květenství, jednotlivé květy jsou tvořeny čtyřmi kališními a čtyřmi žlutými korunními plátkami bledě žluté až tmavě žluté barvy. Čtyři tyčinky s delšími nitkami jsou částečně obrácené k blizně

a podporují opylení vlastním pylem a dvě tyčinky s kratšími nitkami jsou částečně od blizny odsunuté. Řepka patří mezi fakultativně cizosprašné rostliny a stavba květu umožňuje uplatnění heterozního efektu nebo. Nejprve začínají rozkvétat hrozny na hlavním stonku a postupně se kvetené přesouvá na spodní části. V závislosti na vnějších podmínkách může kvetení trvat až 21 dnů. Plody řepky jsou úzké a dlouhé asi 4 cm. Plodem je šešule se dvěma chlopněmi a blanitou přepážkou obsahující 15 až 20 malých kulatých semen (Baranyk a kol., 2007). Semena řepky olejky jsou červenohnědé až modročerné, většinou kulovité o velikosti okolo 2 mm (Baranyk a kol., 2010).



**Obr. č. 1: Řepka olejná (autor J. Dohnal, převzato z [www.botanickafotogalerie.cz](http://www.botanickafotogalerie.cz))**

### 2.7.2 Podmínky prostředí

Vašák a kol. (2000) zdůrazňují výhody řepky olejky při pěstování, je nenáročná na teplotu, nadmořskou výšku nebo typ půdy a lze ji vypěstovat téměř kdekoliv. Optimální podmínky pro pěstování jsou polohy, kde je roční průměr teplot v rozpětí 6,5 – 8,5 °C a roční úhrn srážek 500 – 700 mm.

Pro nejurodnější pěstování řepky olejky by měla být půda hlinitá, písčitohlinitá až hlinitopísčité a měla by obsahovat dostatek kyslíku a humusu s vyšším množstvím vody a živin. Půda by měla mít neutrální až slabě kyselé pH. Na konci svého vegetačního období poskytuje řepka zpětně živiny do půdy a tím pozitivně působí na následnou úrodnost půdy. Z tohoto důvodu bývá často řepka olejka pěstována jako předplodina pro pšenici. Pro správný růst a vývoj vyžaduje řepka dostatek vláhy a světla. Je řazena mezi dlouhodobé rostliny (Baranyk a kol., 2010).

## 3 METODIKA

### 3.1 ROSTLINNÝ MATERIÁL

Pro experiment byla vybrána brukev řepka olejka (*Brassica napus* L. Var. *Napus*), na které byla aplikována moderní technologie - ozařování semen chladným plazmatem. Ošetření atmosférickým plazmatem proběhlo v reaktoru Gliding Arc na univerzitě v Iasi v Rumunsku týmem prof. E. Hnatiuca. Následně celý experiment probíhal v laboratoři Pedagogické fakulty v Českých Budějovicích za plně kontrolovaných podmínek v kultivačním boxu.

#### 3.1.1 Kultivace rostlinného materiálu

Ze semen ošetřených chladným plazmatem byly v plně kontrolovaných laboratorních podmínkách vypěstovány rostliny. V kultivačním boxu byla vyseta semena ozářená chladným plazmatem po dobu 3min, 10min a vzorek kontrolní (0min). Vybraná semena byla vyseta do komerčně vyráběné zeminy (Garden Forestina, Střelské Hoštice) o kyselosti pH= 4,5-6,5 do plastových květináčů o rozměrech 11 x 11 x 12 cm. Do každého květináče bylo umístěno 5 semen v pravidelném uspořádání. Pro každou variantu bylo k dispozici 15 květináčů umístěných po pěti na tři plata tak, aby na každém platě byly květináče s rostlinami shodné pokusné varianty (viz obr. č. 3).



**Obr. č. 2: Kultivace rostlinného materiálu (foto autor Laura Bicanová)**

Každý květináč byl popsán a očíslovaný, celkem bylo vyseto 75 semen od každé varianty (10min, 3min a 0min). Takto připravená plata byla umístěna do kultivačního boxu a pravidelně zavlažována do plat odstátou vodou z vodovodu. Na počátku výzkumu byly rostliny zalévány každý den 0,5l vody v pravidelných intervalech. Na konci výzkumu, adekvátně kvzrůstu rostlin již 1l vody. Plně automatizovaný kultivační box Fytoscope zajistil pěstování pod režimem uvedeným v tabulce č. 1.

**Tab. 1: Podmínky kultivace rostlinného materiálu**

Fáze	Teplota °C	Relativní vlhkost (%)	Ozářenost ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
<i>Rozednívání 2 hod.</i>	17 → 24	80 → 65	0 → 286
<i>Den 10 hod.</i>	24	65	286
<i>Stmívání 2 hod.</i>	24 → 17	65 → 80	286 → 0
<i>Noc 10 hod.</i>	17	80	0

První vyklíčené rostlinky se objevily již třetí den od vysetí. Počínaje tímto dnem byly rostlinky pravidelně kontrolovány a měřeny v termínech: 3., 4., 5., 7., 10., 11., 12. a 14. den od kultivace. Počty vyklíčených rostlin a jejich výšky byly porovnány. Jakmile byly rostliny dostatečně velké a jejich první listy umožňovaly měření fotosyntézy, probíhalo toto měření ve třech intervalech: 17., 24. a 31. den od kultivace. V poslední řadě bylo provedeno závěrečné porovnání zcela vzrostlých rostlin z pohledu velikosti, barvy a nakonec i hmotnosti sušiny. Zjištění podílu sušiny bylo provedeno 41. den od vysazení.



## 3.2 MĚŘENÍ FOTOSYNTETICKÉ VÝMĚNY PLYNŮ

### 3.2.1 LI-COR 6400

Pro výzkum bylo použito gazometrické měření čisté fotosyntézy pomocí přístroje **LI-COR 6400**. Toto zařízení měří fotosyntézu na základě výměny plynů. Čistá fotosyntéza je vyjadřována množstvím přijatého CO<sub>2</sub> rostlinou. Měření výměny plynů v přístroji LI-COR 6400 se provádí v otevřeném režimu na rozdíl od starších modelů. To umožňuje udržovat stabilní koncentraci CO<sub>2</sub>. Tento přenosný systém obsahuje dva nedisperzní infračervené analyzátory plynů poskytující vynikající výkon. Jedná se o nejpoužívanější gazometrické stanovení fotosyntetické aktivity rostlin ve fyziologii a ekofyziologie rostlin.

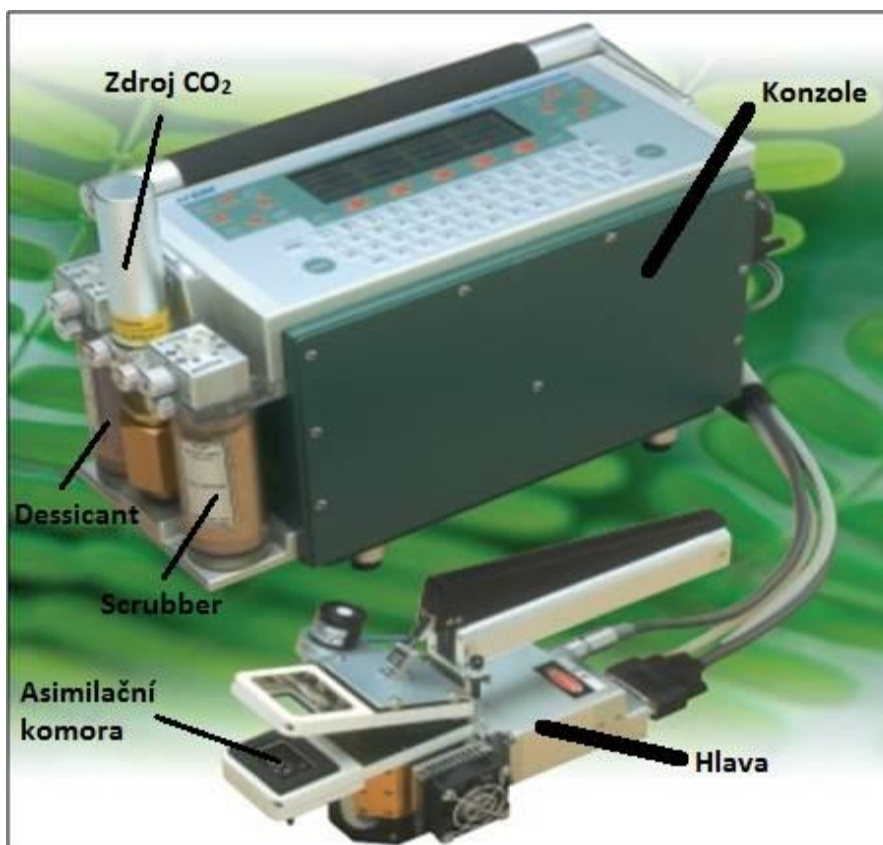
List během fotosyntézy fixuje CO<sub>2</sub> a současně při respiraci CO<sub>2</sub> uvolňuje. Na světle u nestresovaného listu převládá většinou fotosyntéza nad respirací. Bilance obou procesů se nazývá rychlost čisté fotosyntézy a vyjadřuje se jako hustota toku CO<sub>2</sub> na jednotku plochy listu za čas. Při gazometrickém měření zjišťuje změnu v koncentraci CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O ve vzduchu vstupujícím do komory s asimilačním objektem a ve vzduchu vystupujícím z komory pomocí infračerveného analyzátoru IRGA (infrared gas analyzer). Analyzátory jsou založeny na rozdílné absorpci záření v infračervené oblasti spektra molekulami plynů. Jelikož se absorpční spektra CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O částečně překrývají, musí se vzduch před vstupem do analyzátoru vysoušet.

Přístroj je tvořen konzolou s hardware systémem a hlavou s asimilační komorou. Komora těsně uzavírá list o minimálně ploše 6 cm<sup>2</sup> bez deformace. Hlava obsahuje senzory pro monitorování světla a tepla. Můžeme tedy kontrolovat a upravovat úroveň ozáření. Infračervené analyzátory se nacházejí také v sensorové hlavě a díky tomu dochází k rychlému měření koncentrace plynů, které jsou zobrazovány v reálném čase. Sensorová hlava je s konzolí spojena pomocí kabelu a dvou hadic přivádějících vzduch do příslušných komor.

Všechny parametry lze sledovat a ovládat na displeji konzole. Konzole obsahuje procesor, pracuje s daty jako počítač a získané údaje jsou uloženy v paměti pevného disku. Tento systém je napájen dvěma bateriemi, které umožňují provoz

4 až 8 hodin. Na konzoli jsou umístěny dvě tuby s chemikáliemi a zařízení pro připojení zdroje CO<sub>2</sub>. Modrá chemikálie CaSO<sub>4</sub> (dessicant) slouží jako vysoušeč. Bílá chemikálie natronového vápna NaOH + Ca(OH)<sub>2</sub> (scrubber) pohlcuje CO<sub>2</sub>. Pomocí klávesnice lze tedy nastavit podmínky v asimilační komoře (koncentrace CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O ve vzduchu, teplota vzduchu, ozáření a rychlost průtoku).

Vzduch, který do systému přichází zvenčí, je nejprve vysušen dessicantem na určitou vlhkost, zbaven CO<sub>2</sub> pomocí scrubberu a nakonec obohacen o přesné množství CO<sub>2</sub> pomocí bomby se stlačeným CO<sub>2</sub> (Using the LI-6400).



Obr. č. 3: Příklad LI-COR 6400 (převzato z <http://www.licor.com> a upraveno)

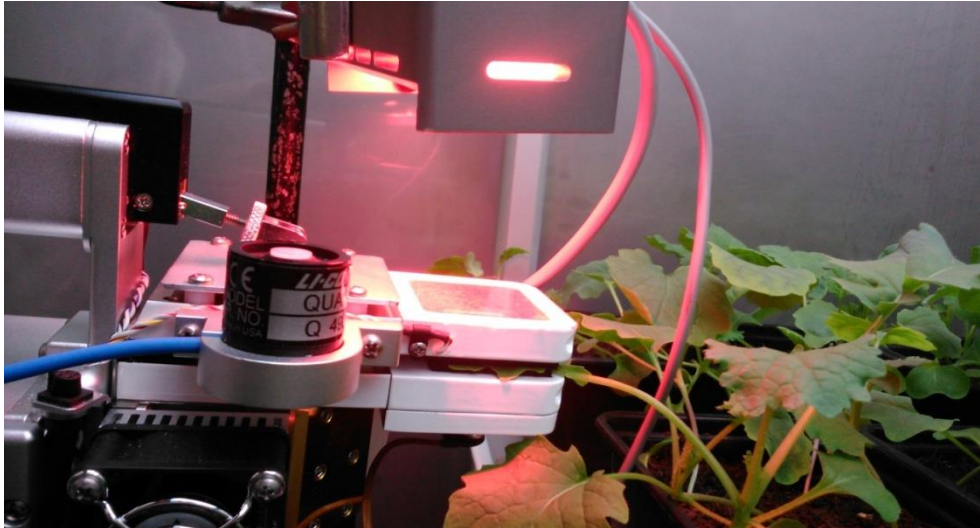
### 3.2.2 Realizace výzkumu

Jakmile velikost prvního listu dosahovala požadované velikosti, tj. možné uzavření do asimilační komory o ploše  $6\text{cm}^2$ , byla ve třech pravidelných intervalech měřena čistá fotosyntéza, transpirace a vodivost průduchů. První měření proběhlo 17. den od zasazení, druhé 24. a poslední 31. den od kultivace. Čistá fotosyntéza byla měřena gazometricky pomocí přístroje LI-COR 6400 XT přímo v kultivačním boxu. Podmínky v měřící kyvetě během měření byly  $\text{CO}_2$  400ppm, relativní vlhkost 56 – 60 % a teplota listu  $23^\circ\text{C}$ .

Po uzavření každého listu do asimilační komory byla potřeba doba 10 – 15 min do ustálení měřených parametrů. Během každého cyklu bylo změřeno vždy pět náhodně vybraných rostlin od každé varianty. Jak můžeme vidět na fotografiích (obr. č. 4 - 5), měření probíhalo přímo v kultivačním boxu, aby bylo zamezeno odlišným podmínkám vnějšího prostředí a měření mohlo být co nejpřesnější.



**Obr. č. 4: Měření fotosyntetických plynů v kultivačním boxu (foto autor Laura Bicanová)**



*Obr. č. 5: Detail uzavřeného listu v asimilační kyvetě (foto autor Laura Bicanová)*

### **3.3 STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ**

Naměřená data byla statisticky zpracována v programech EXEL a STATISTICA. Byla použita jedno faktorová analýza variace (one-way ANOVA) a poté HSD Tukey test na hladině významnosti 0,05.

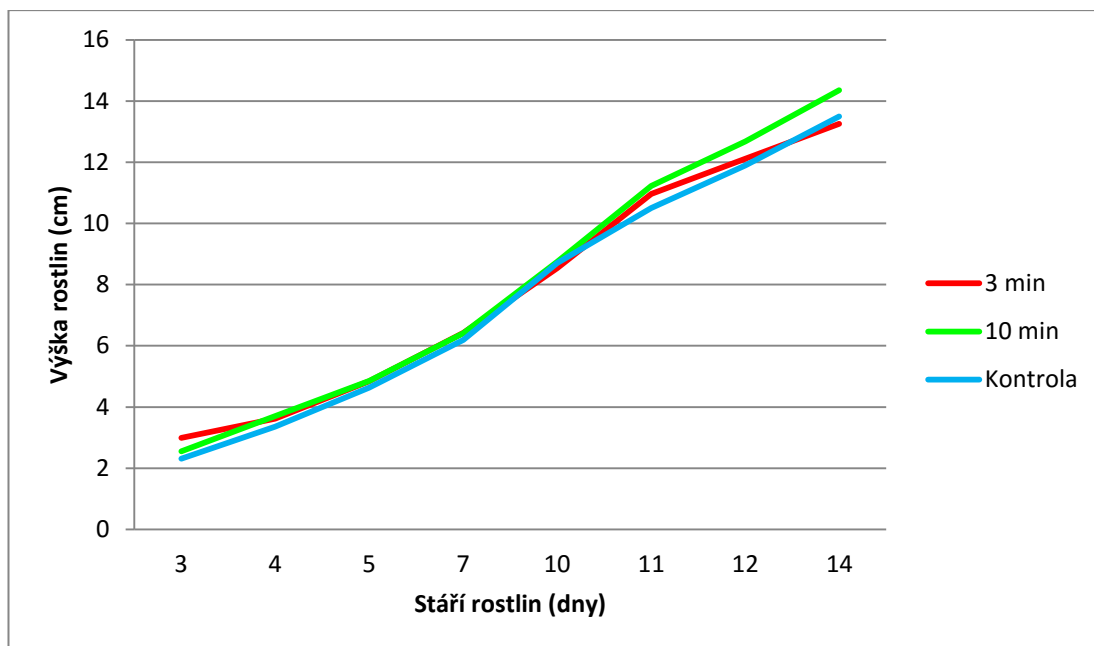
## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 POČET VYKLÍČENÝCH A PRŮMĚRNÉ VÝŠKY ROSTLIN

Třetí den od vysetí semen byly zaznamenány první vyklíčené rostliny. Počet vyklíčených a délka jednotlivých rostlin byla pravidelně zaznamenávána do tabulky. Celkový počet vyklíčených i průběh ukazuje tabulka č. 2. Ze 75 zasazených semen od každé varianty vyklíčilo 54 semen ozářených 3 min, tj. 72 %, 66 semen ozářených 10 min, tj. 88% a 63 semen kontrolních, tj. 84 %.

**Tab. 2: Počet vyklíčených semen**

Varianta		3 min	10 min	Kontrola
Měření	Den kultivace	Nově vyklíčené / Vyklíčené celkem		
1)	3. den	47 / 47	41 / 41	48 / 48
2)	4. den	4 / 51	21 / 62	10 / 58
3)	5. den	1 / 52	3 / 65	3 / 61
4)	7. den	0 / 54	1 / 66	1 / 62
5)	10. den	0 / 54 → 72 %	0 / 66 → 88 %	1 / 63 → 84 %
		Při dalších měření již žádná nová semena nevyklíčila		



**Obr. č. 6: Graf 1: Časový průběh růstu rostlin v prvních dnech ontogeneze**

Jak vyplývá z Obr. č. 6, průměrné výšky všech variant v počátečním stádiu ontogeneze se nevyznačovaly žádným výrazným rozdílem. Poslední měření bylo uskutečněno čtrnáctý den od vysetí.

## 4.2 FOTOSYNTETICKÁ VÝMĚNA PLYNŮ

### 4.2.1 První cyklus měření (17. den od kultivace)

#### 4.2.1.1 Fotosyntéza

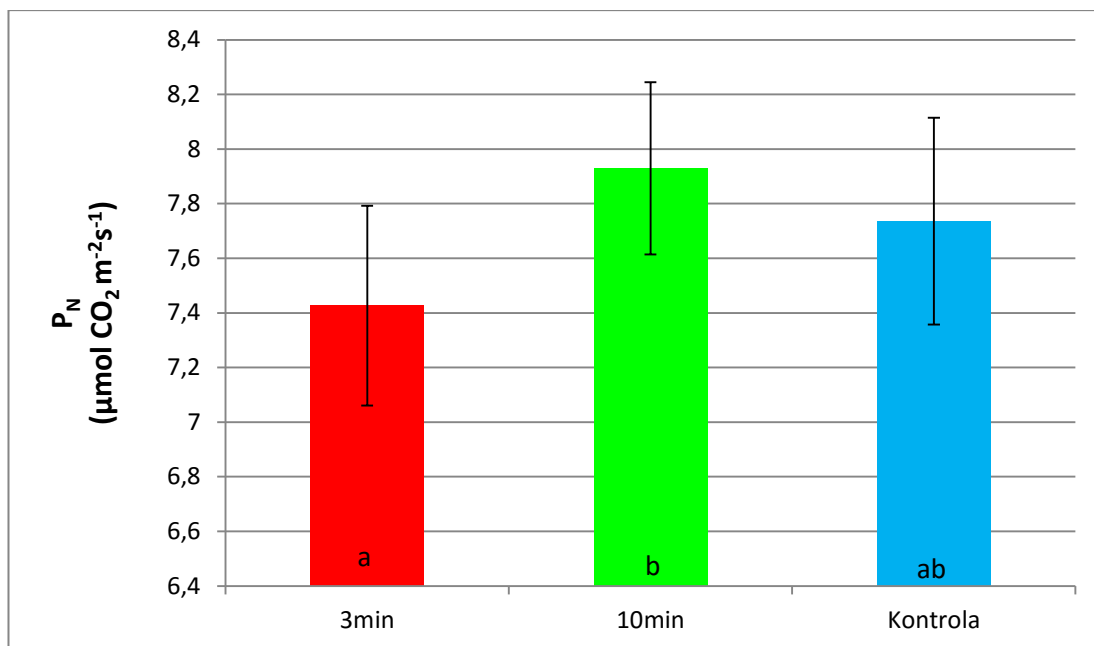
**Tab. 3: Analýza rozptylu fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	p
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	Chyba		
Fotosyntéza	1,2885	2	0,6442	3,3891	27	0,1255	5,1325	0,0129

**Tab. 4: Tukey HSD test fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
	M=7,7360	M=7,4263	M=7,9295
0min		0,1431	0,4515
3min	0,1431		0,0102
10min	0,4515	0,0102	

Na základě statistického vyhodnocení byl pozorován významný rozdíl v rychlosti čisté fotosyntézy na hladině významnosti 0,05 mezi variantami ozářenými 3 min a 10 min. Nejvyšší průměrné hodnoty čisté fotosyntézy prvního listu byly zaznamenány první cyklus měření u semenáčků ozářených chladným plazmatem po dobu 10 min, nejnižší u vzorku 3 min.



**Obr. č. 7: Graf 2: Průměrná rychlost čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.1.2 Vodivost průduchů

**Tab. 5: Analýza rozptylu vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

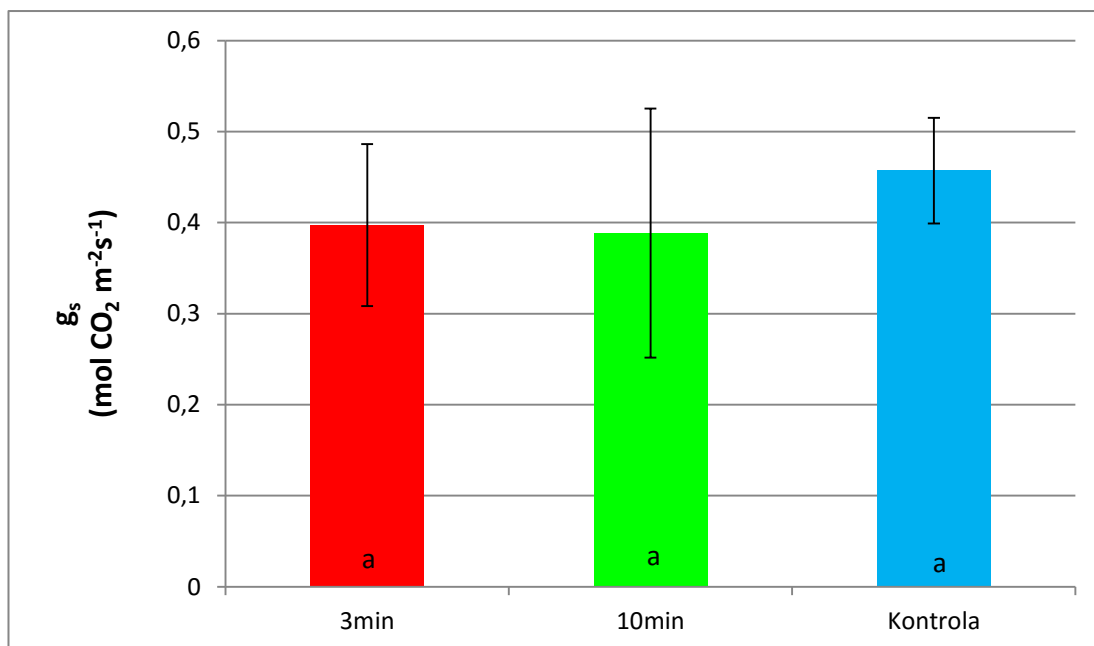
	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	P
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Vodivost průduchů	0,0278	2	0,0139	0,2699	27	0,0099	1,3905	0,2662

**Tab. 6: Tukey HSD test vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
	M=0,4570	M=0,3973	M=0,3884
0min		0,3889	0,2918
3min	0,3889		0,9786
10min	0,2918	0,9786	



Mezi naměřenými hodnotami vodivosti průduchů nebyl stanoven žádný statisticky významný rozdíl. Varianty se nelišily.



**Obr. č. 8: Graf 3: Průměrná hodnota vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.1.3 Transpirace

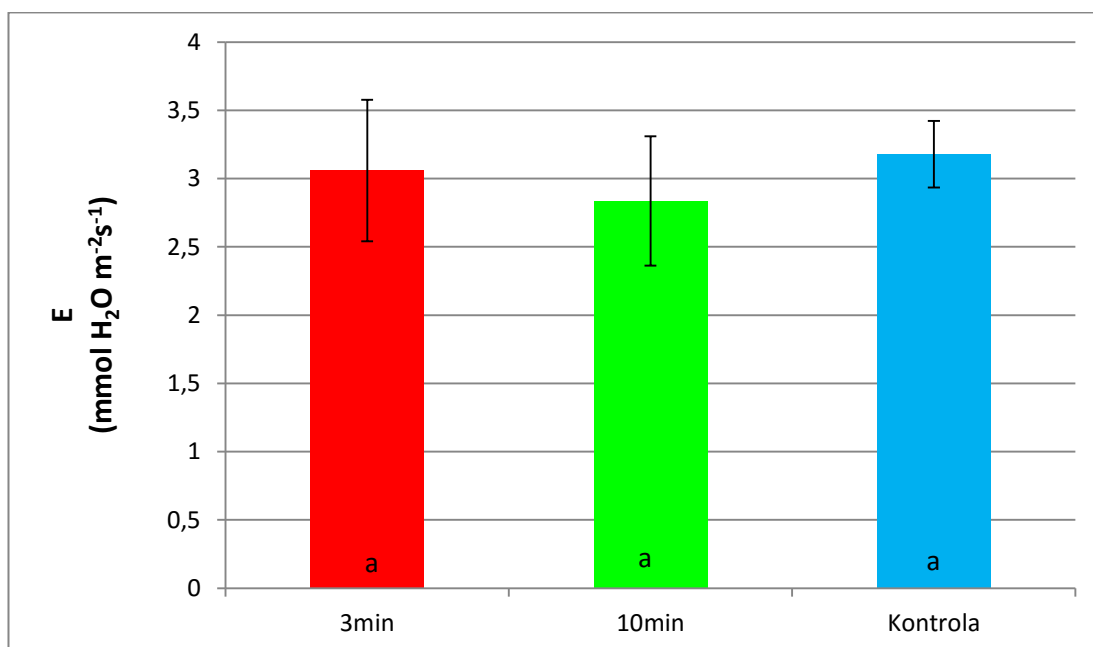
**Tab. 7: Analýza rozptylu transpirace ( $E$ ) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	p
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	Chyba		
Transpirace	0,8996	2	0,4498	6,0899	27	0,2256	1,9943	0,1557

**Tab. 8: Tukey HSD test transpirace (E) prvního listu, měřena 17. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
	M=3,1779	M=3,0582	M=2,7656
0min		0,8404	0,1468
3min	0,8404		0,3667
10min	0,1468	0,3667	

Mezi naměřenými hodnotami transpirace nebyl stanoven žádný statisticky významný rozdíl. Varianty se nelišily.



**Obr. č. 9: Graf 4: Průměrná hodnota transpirace (E) prvního listu, měřena 17. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.2 Druhý cyklus měření (24. den od kultivace)

##### 4.2.2.1 Fotosyntéza

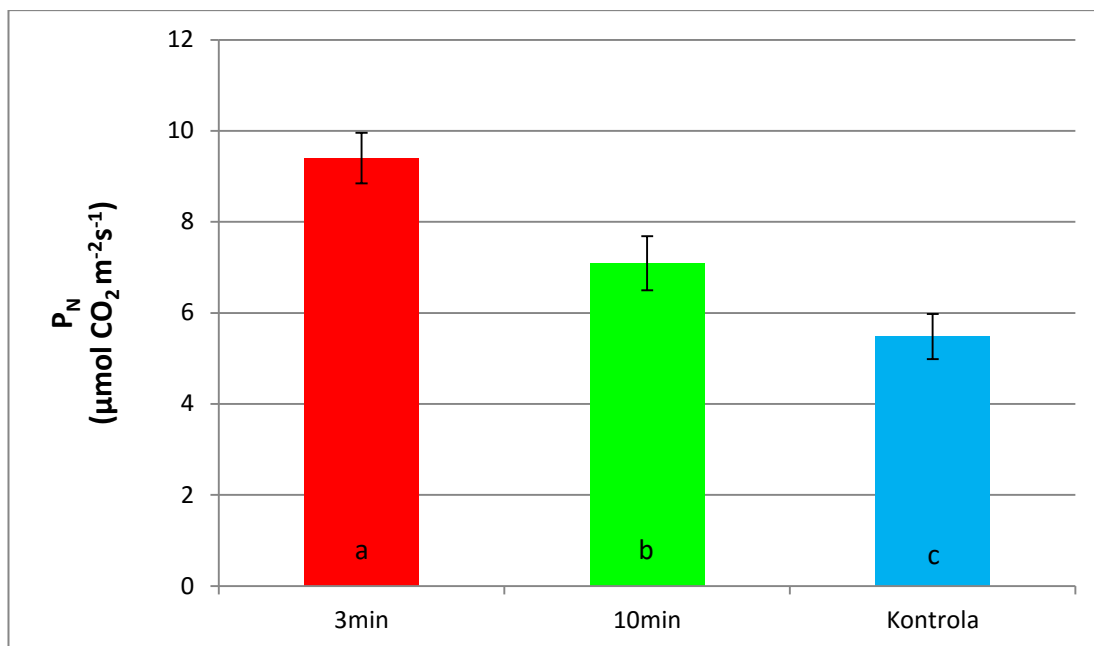
**Tab. 9: Analýza rozptylu čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	p
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Fotosyntéza	77,5699	2	38,7849	8,1716	27	0,3027	128,1510	0,00

**Tab. 10: Tukey HSD test čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
	M=5,4817	M=9,3400	M=7,0913
0min		0,000127	0,000128
3min	0,000127		0,000127
10min	0,000128	0,000127	

Během druhého měření byly zaznamenány u všech variant mírně nižší hodnoty čisté fotosyntézy v porovnání s prvním měřením. Důvodem tohoto poklesu je probíhající senescence prvních listů. Na základě statistického vyhodnocení byly stanoveny významné rozdíly mezi naměřenými hodnotami čisté fotosyntézy u všech variant v porovnání každý s každým. Nejvyšší průměrné hodnoty  $P_N$  byly zaznamenány u semenáčků varianty 3 min a nejnižší u vzorku kontrolního.



**Obr. č. 10: Graf 5: Průměrná rychlost čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každým s každým.**

#### 4.2.2.2 Vodivost průduchů

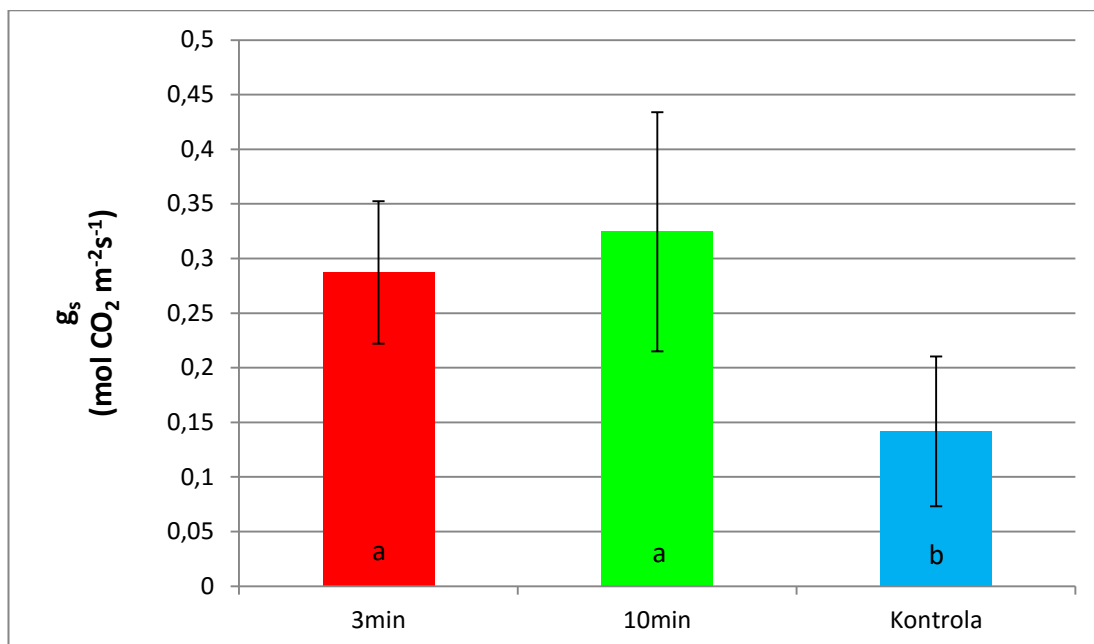
**Tab. 11: Analýza rozptylu vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	P
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	Chyba		
Vodivost průduchů	0,1865	2	0,0932	0,1884	27	0,0070	13,3620	0,0001

**Tab. 12. Tukey HSD test vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
	M=0,1418	M=0,2873	M=0,3245
0min		0,0017	0,0002
3min	0,0017		0,5853
10min	0,0002	0,5853	

Statisticky významné rozdíly na hladině významnosti 0,05 byly stanoveny mezi variantami 3 min a vzorkem kontrolním a mezi vzorkem 10 min a vzorkem kontrolním. Průměrné hodnoty vodivosti průduchů se ale významně nelišily mezi ozářenými vzorky navzájem.



**Obr. č. 11: Graf 6: Průměrná hodnota vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.2.3 Transpirace

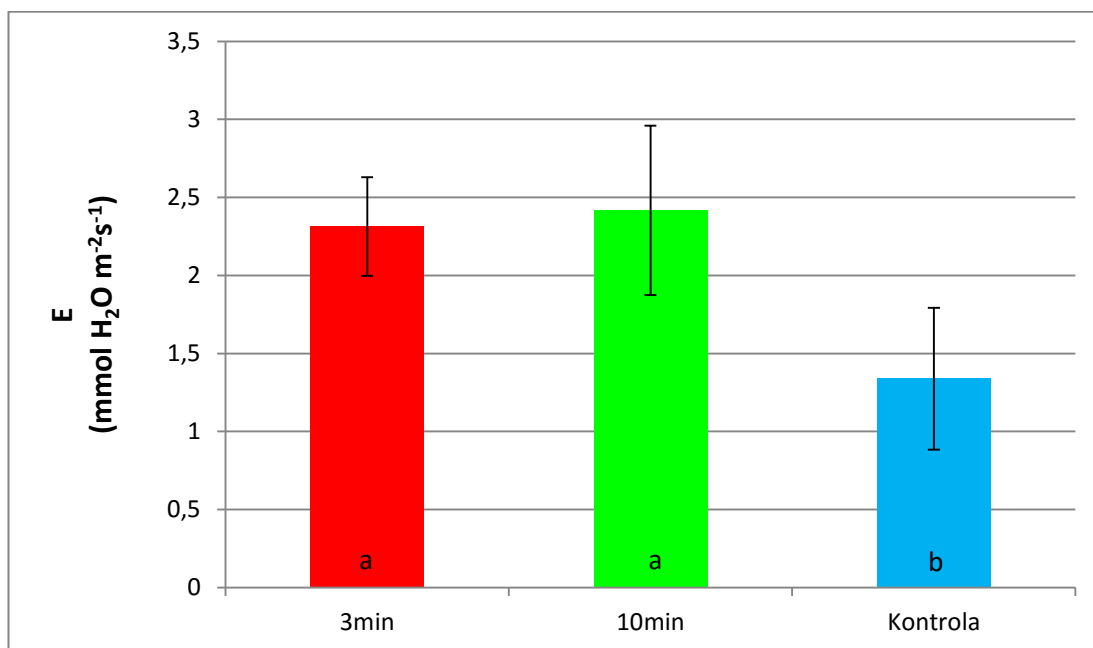
**Tab. 13: Analýza rozptylu transpirace ( $E$ ) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	P
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Transpirace	7,08	2	3,54	5,40	27	0,20	17,68	0,00001

**Tab. 14: Tukey HSD test transpirace (E) prvního listu, měřena 24. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
0min		0,00024	0,00015
3min	0,00024		0,86
10min	0,00015	0,86	

Statisticky významné rozdíly byly také stanoveny u průměrných hodnot transpirace mezi variantami 3 min a vzorkem kontrolním a mezi vzorkem 10 min a vzorkem kontrolním. Průměrné hodnoty transpirace se také statisticky významně nelišily mezi ozářenými vzorky navzájem.



**Obr. č. 12: Graf 7: Průměrná hodnota transpirace (E) prvního listu, měřena 24. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.3 Třetí cyklus měření (31. den kultivace)

##### 4.2.3.1 Fotosyntéza

**Tab. 15: Analýza rozptylu čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 31. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

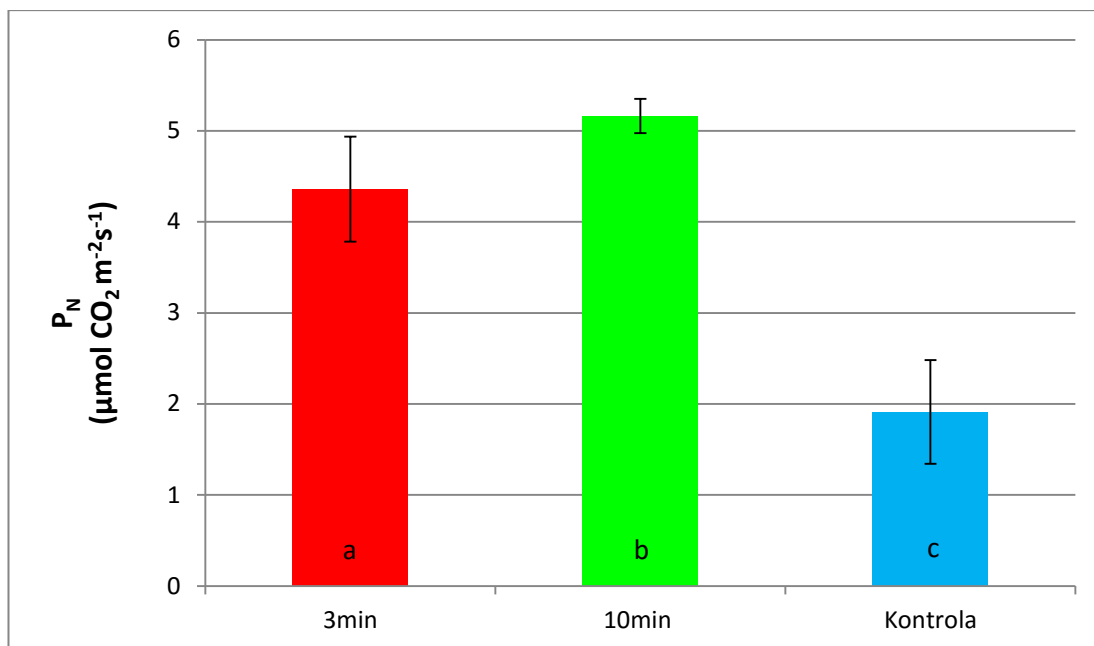
	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	p
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Fotosyntéza	57,34	2	28,67	6,24	27	0,23	124,13	0,00

**Tab. 16: Tukey HSD test čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 31. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
0min		0,00013	0,00013
3min	0,00013		0,0026
10min	0,00013	0,0026	

Během třetího cyklu měření (31. den od kultivace) byly naměřeny výrazně nižší hodnoty než v předcházejících cyklech. Důvodem je výrazná senescence prvních listů. Nejvyšší průměrné hodnoty čisté fotosyntézy prvního listu byly pozorovány u semenáčků ozářených 10min. Vzorek kontrolní dosáhl nejnižších hodnot.

Na základě statistického vyhodnocení byly stanoveny významné rozdíly na hladině významnosti 0,05 mezi průměrnými hodnotami čisté fotosyntézy mezi všemi měřenými variantami v porovnávání každý s každým.



**Obr. č. 13: Graf 8: Průměrná rychlost čisté fotosyntézy ( $P_N$ ) prvního listu, měřena 31. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchytky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.3.2 Vodivost průduchů

**Tab. 17: Analýza rozptylu vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 30. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

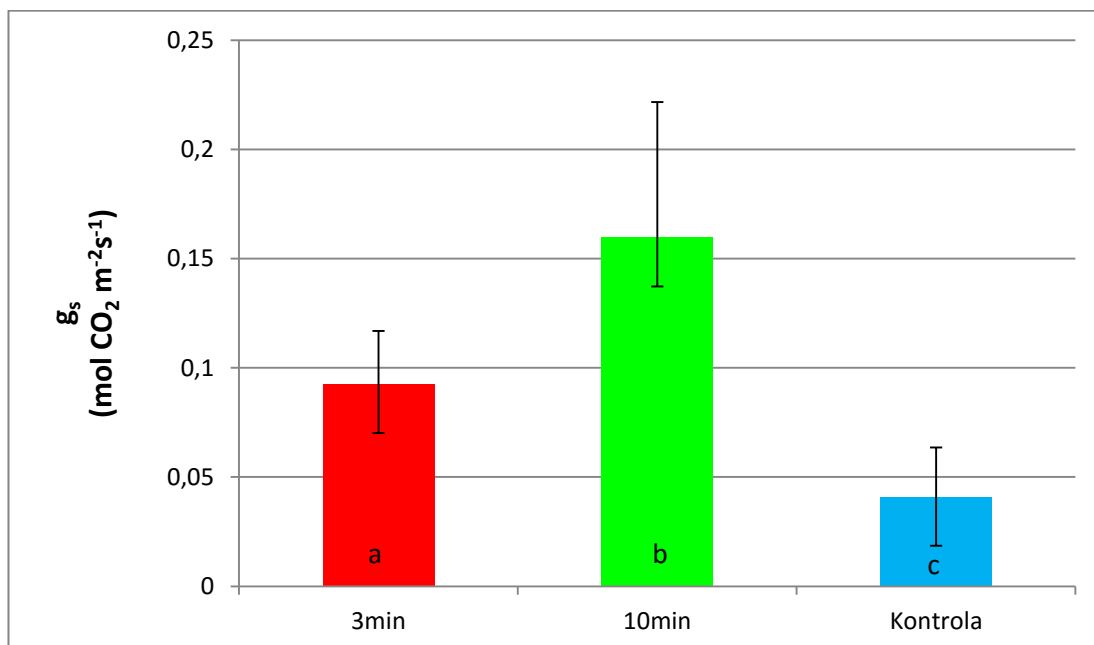
	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	p
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Vodivost průduchů	0,07	2	0,035	0,054	27	0,002	17,72	0,000012

**Tab. 18: Tukey HSD test vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 30. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	0min	3min	10min
0min		0,013	0,00013
3min	0,013		0,021
10min	0,00013	0,021	



Na základě statistického vyhodnocení byly také stanoveny významné rozdíly na hladině významnosti 0,05 mezi průměrnými hodnotami vodivosti průduchů mezi všemi zkoumanými variantami v porovnávání každý s každým.



**Obr. č. 13: Graf 9: Průměrná hodnota vodivosti průduchů ( $g_s$ ) prvního listu, měřena 30. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.2.3.3 Transpirace

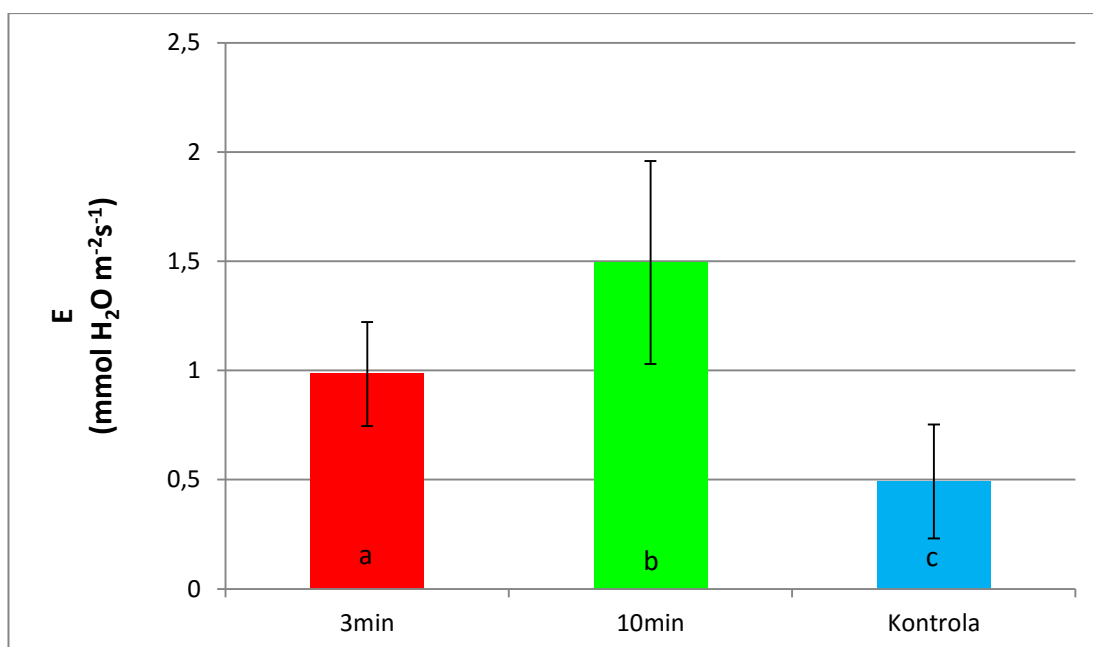
**Tab. 19: Analýza rozptylu transpirace (E) prvního listu, měřena 31. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

	SČ	SV	PČ	SČ	SV	PČ	F	P
Proměnná	efekt	efekt	efekt	chyba	chyba	chyba		
Transpirace	5,03	2	2,52	3,49	27	0,13	19,46	0,000006

**Tab. 20: Tukey HSD test transpirace (E) prvního listu, měřena 31. den kultivace (Označené efekty jsou na významné hladině  $P < 0,05000$ )**

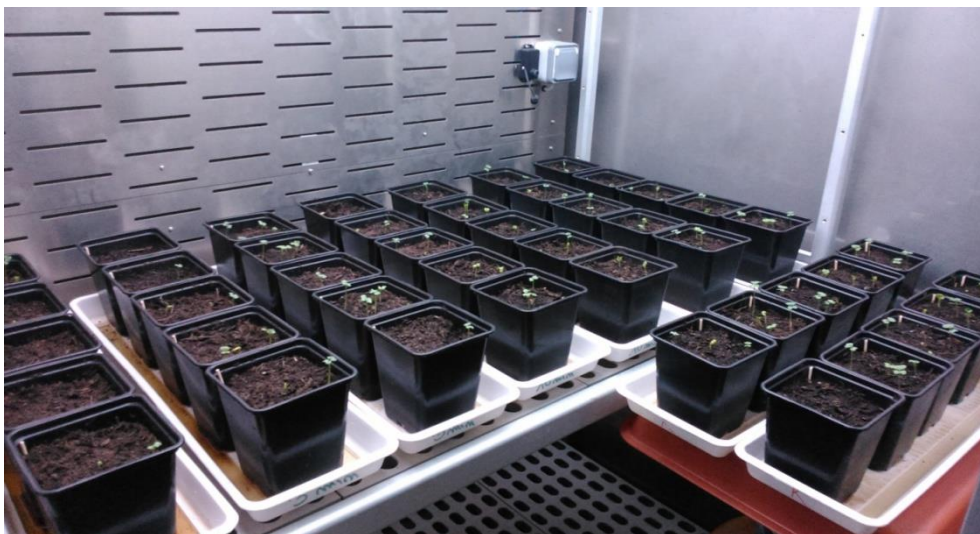
	0min	3min	10min
0min		0,0063	0,00013
3min	0,0063		0,021
10min	0,00013	0,021	

Na základě statistického vyhodnocení byly taktéž stanoveny významné rozdíly transpirace mezi všemi sledovanými variantami v porovnání každý s každým na hladině významnosti 0,05.



**Obr. č. 14: Graf 10: Průměrná hodnota transpirace (E) prvního listu, měřena 31. den kultivace. Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena v jednotlivých sloupcích značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnání každý s každým.**

#### 4.3 ILUSTROVANÝ PRŮBĚH RŮSTU ROSTLIN V KULTIVAČNÍM BOXU



**Obr. č. 15: Třetí den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 16: Čtvrtý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 17: Pátý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 18: Sedmý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 19: Desátý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 20: Jedenáctý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 21: Dvanáctý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 22: Čtrnáctý den kultivace (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 23: Sedmáctý den kultivace, první cyklus měření (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 24: Čtyřicetý den kultivace, druhý cyklus měření (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 25: Jednatřicetý den kultivace, třetí cyklus měření (foto autor Laura Bicanová)**

#### **4.3.1 Závěrečné porovnání habitu (41. den kultivace)**



**Obr. č. 26: Rostliny varianty 3 min (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 27: Rostliny varianty 10 min (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 28: Rostliny kontrolní varianty (foto autor Laura Bicanová)**



**Obr. č. 29: Rostliny všech zkoumaných variant (foto autor Laura Bicanová)**

## 5 DISKUZE

Během celého experimentu byly vizuálně porovnávány rostlinky všech variant, v osmi intervalech měřena jejich výška a posléze v třech intervalech měřena gazometrickou metodou jejich čistá fotosyntéza, vodivost průduchů a transpirace. Z výsledků růstu rostlin nelze usuzovat žádné závěry, protože se jednotlivé hodnoty výrazně neodlišovaly. Ani celkový počet vyklíčených rostlin se nevyznačoval významnými rozdíly. Nejvíce semen vyklíčilo od varianty 10 min, a to 66 semen ze 75 zasazených.

Gazometrické měření výměny plynů poskytlo přínosnější výsledky, probíhalo 17., 24. a 31. den od kultivace a lze konstatovat, že každé měření poskytuje cenné výsledky. Během první měření produkce čisté fotosyntézy byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi variantou 3 min a 10 min, kdy varianta 10 min dosahovala nejvyšších hodnot a naopak varianta 3 min nejnižších. Druhé měření čisté fotosyntézy je charakteristické výrazným zvýšením čisté produkce u varianty 3 min, která se statisticky významně odlišovala od obou variant zbývajících. Naopak průměrná hodnota čisté fotosyntézy u kontrolního vzorku výrazně klesla. Varianta semenáčků ozářených 10 min se vyznačovala pouze mírným poklesem. I třetí cyklus měření poskytoval statisticky významné rozdíly u všech variant. Nejvyšších hodnot dosahovala varianta 10 min, nejnižších varianta kontrolní. Vzorek semenáčků ozářených 3 min vypovídá o možné nestálosti, protože při posledním měření se jeho hodnota zmenšila na polovinu z měření druhého.

Během první měření vodivosti průduchů nebyly stanoveny žádné statisticky významné rozdíly, pouze nepatrně vyšších hodnot dosahovaly rostlinky varianty kontrolní. Během druhého měření došlo naopak k velice výraznému poklesu průměrných hodnot vodivosti průduchů a je pozorován statisticky významný rozdíl mezi vzorkem kontrolním a mezi vzorky ozářenými. Ozářené varianty se již významně nelišily, pouze nepatrně vyšší hodnoty byly zaznamenány u varianty 10 min. Třetí měření již poskytlo významné rozdíly mezi všemi variantami. A nejvyšší hodnoty byly opět naměřeny u varianty 10 min a nejnižší u vzorku kontrolního.



Statisticky významné rozdíly u prvního měření transpirace nebyly zaznamenány a dosahovaly téměř shodných hodnot. Druhé měření již poskytuje průkazné rozdíly mezi vzorkem kontrolním a vzorky ozářenými, kdy vzorek kontrolní měl nejnižší hodnoty. Také i třetí měření u transpirace přináší nejužitečnější informace a významné rozdíly. Taktéž jako u fotosyntézy a vodivosti průduchů tak i u transpirace nejvyšší hodnoty byly naměřeny u vzorků ozářených chladným plazmatem 10 min, poté vzorky ozářené 3 min. Hodnoty kontrolního vzorku během třetího cyklu byly charakteristické u všech měřených parametrů nejnižšími hodnotami. Lze tedy s určitostí konstatovat, že v 31. den kultivace jsou prokazatelné důkazy u všech měřených parametrů, že ozáření semen řepky olejky chladným plazmatem má pozitivní vliv na fyziologické procesy v daném ontogenetickém stádiu. Významný vliv na výsledky má také doba ozáření semen plazmatem. Při experimentu byly k dispozici semena ozářená po dobu 3 a 10 min, kde z výše uvedených výsledků vyplývá, že pozitivnější vliv byl zaznamenán u vzorků 10 min. Pro důkladnější prozkoumání této problematiky by bylo vhodné využít např. semena ozářená po dobu 5 min a realizovat více cyklů měření pro stanovení přesného ovlivnění vývoje rostliny plazmatem.

V této oblasti je zatím málo studií, které by poskytovaly výsledky, s nimiž by bylo možné závěry diplomové práce porovnat. Lze shrnout, že ošetření semenáčků chladným plazmatem mělo pozitivní vliv na fyziologické pochody brukve řepky olejky a jiné experimenty prokázaly příznivý vliv na klíčivost semen dvou kultur máku setého (Gavril et al., 2012), kukuřice seté (Henselová et al., 2012) nebo merlíku bílého (Šerá et al., 2009). Jiang et al. (2014a) zaznamenal pozitivní účinky plazmatu u růstu pšenice. Ošetření chladným plazmatem zlepšuje růst vybraných rostlin a výrazně se podílí na zvýšení odolnosti proti chorobám (Baier et al., 2013). Z dosavadních výsledků je patrné, že právě ošetření semen chladným plazmatem má vysoký potenciál v agrikulturní technologii.

## 6 ZÁVĚR

Z výsledků získaných během celého experimentu lze konstatovat, že většina naměřených hodnot se statisticky významně odlišovala. Tyto rozdíly se ale diferencovaly se stářím rostliny. Během prvního cyklu měření byly zaznamenány rozdíly pouze u rychlosti čisté fotosyntézy, nikoliv u vodivosti průduchů a transpirace. Během druhého cyklu měření byly stanoveny významné rozdíly taktéž u čisté fotosyntézy a vodivosti průduchů. Hodnoty transpirace se neodlišovaly.

Třetí cyklus měření lze popsat jako statisticky konstantní a významné rozdíly byly definovány u všech měřených parametrů ve stejném trendu. U všech parametrů nejvyšších hodnot dosahovala varianta 10 min a nejnižších varianta kontrolní.

Hlavním cílem této diplomové práce bylo také zodpovězení výzkumných otázek:

- 1) Ano, ošetření semenáčků chladným plazmatem má statistický významný vliv na fyziologické pochody (čistá fotosyntéza, vodivost průduchů a transpirace) použité rostliny.
- 2) Ano, změny ve sledovaných fyziologických parametrech jsou závislé na délce ozáření semen, ale závislost není zcela konstantní a záleží také na stáří rostliny.

Část výsledků této práce byla publikována na odborné konferenci se sborníkem zařazeným na Web of Science viz. Ryplová a kol. (2015).

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BAHRAMI N., BAYLISS D., CHOPE G., PENSON S., PEREHINEC T., FISK D.I., 2016: Cold plasma: A new technology to modify wheat flour functionality. *Food Chemistry*, 202, 247-253.

BAIER M., FOERSTER J., SCHNABEL U., KNORR D., EHLBECK J., HERPPICH W.B., SCHLUTER O., 2013: Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh green salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy. *Postharvest Biology and Technology*, 84, 81-87.

BAIER M., EHLBECK J., KNORR D., HERPPICH W.B., SCHLUTER O., 2015: Impact of plasma processed air (PPA) on quality parameters of fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 120-126.

BARÁK, J., 2003: Záření plazmatu elektrického oblouku. Vysoké učení technické, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav výkonové elektrotechniky a elektroniky.

BARBER, J., ANDERSSON, B., 1992: Too much of a good thing: Light can be bad for photosynthesis. *Trends in biochemical sciences*, 17(2), 61-66.

BARANYK P., 2013: Pěstování a zpracování řepky olejné. Česká zemědělská univerzita v Praze. Tisková konference: Řepkový olej – olej nad zlato. 5 s.

BARANYK P. a kol., 2010: Olejiny Praha: Profi Press s.r.o., 206 s.

BARANYK P., FÁBRY A. a kol., 2007: Řepka - pěstování, využití a ekonomika. Praha: Profi Press s.r.o., 208 s.

BORMASHENKO E., GRINYOV R., 2012: Plasma treatment allows water suspending of the natural hydrophobic powder (lycopodium). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 97, 171-174.

BRUCHANOV M. 2005: Plazmová sterilizace. *Fyzikální metody v medicíně II.*, 9 s.

- BUßLER S., HERPPICH W. B., NEUGART S., SCHREINER M., EHLBECK J., ROHN S., SCHLUTER O., 2015: Impact of cold atmospheric pressure plasma on physiology and flavonol glycoside profile of peas. *Food research international*, 76, 132-141.
- DUŠKOVÁ S., 2009: Studium adaptačních změn ve fotosyntéze a transpiraci rostlin *Hordeum vulgare* L. při vodním stresu. Disertační práce, školitel doc. Ing. Václav Hejnák, Ph.D.: Česká zemědělská univerzita v Praze.
- GAVRIL B., GAIDOVÁ I., ŠERÁ B., KUČTOVÁ P., ŠERÝ M., ŠPATENKA P., HNATIUC E., 2012: Různá reakce semen kultivarů máku setého o ošetření netermálním plazmatem., 23, 231-235.
- HENSELOVÁ M., SLOVÁKOVÁ L., MARTINKA M., ZAHORANOVÁ A., 2012: Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. *Biologia*, 67(3), 490-497.
- HRUŠKOVÁ, I., ŠERÁ B., PETŘÍK V., ŠPATENKA P., 2011: Stimulace klíčivosti máku setého pomocí plazmatu. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2011 (Sborník příspěvků), 64.
- JIANG J., HE X., LI L., LI J., SHAO H., XU Q., YE R. a DONG Y., 2014a: Effect of cold plasma treatment on seed germination and growth of wheat. *Plasma Science and Technology*, 16(1), 54-58.
- JIANG J., LU Y., LI J., LI L., HE X., SHAO H a DONG Y., 2014b: Effect of seed treatment by cold plasma on the resistance of tomato to *Ralstonia solanacearum* (bacterial wilt). *Plos one*, 9(5), e97753.
- KINCL M. a KRPEŠ V., 2006: Základy fyziologie rostlin. Ostrava: Tiskárny Baloušek, 220 s.
- KINDL H. a WOBER B., 1981: Biochemie rostlin. Praha: Nakladatelství Academia, 392 s.
- KRČMA, F., 2006: Plazma za sníženého tlaku, vlastnosti a aplikace. *Zpravodaj České Vakuové Společnosti*, 14, 1-2.

- KRULOVÁ J., 2007: Biochemické a fyziologické markery antropogenního stresu. Disertační práce, školitel doc. RNDr. Marie Kummerová, CSc. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 65 s.
- LARCHER, W., 1988: Fyziologická ekologie rostlin. Praha: Academia Praha, 361 s.
- LING L., JIANGANG L., MINCHONG S., CHUNLEI Z., YUANHUA D., 2015: Cold plasma treatment enhances oilseed rape seed germination under drought stress. Scientific reports, 4, 58-59.
- LUŠTINEC J. a ŽÁRSKÝ V., 2003: Úvod do fyziologie vyšších rostlin. Praha: Nakladatelství Karolinum, 261 s.
- MAKOVEC M., 2011: Sestavení a testování vysokofrekvenčních plazmových trysek a aerosoly. Bakalářská práce, vedoucí práce Mgr. Miloš Klíma, PhD. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 42 s.
- MALINA J., 2013: Přednost řepky: mnohostranné využití. Odborný a stavovský týdeník Zemědělec.
- MRÁZ I., BERAN P., ŠERÁ B., GAVRIL B., HNATIUC E., 2014: Effect of low-temperature plasma treatment on the growth and reproduction rate of some plant pathogenic bacteria. Journal of plant pathology, 96(1), 63-67.
- PETROVIČ Z. Lj., PUAČ N., LAZOVIČ S., MALETIČ D., SPASIČ K., MALOVIČ G., 2012: Biomedical applications and diagnostics of atmospheric pressure plasma. Journal of Physics: Conference Series. Vol. 356. No. 1, p. 012001.
- PROCHÁZKA S., MACHÁČKOVÁ I., KREKULEJ., NÁTR L. a kol., 1998: Fyziologie rostlin. Praha: Akademie Praha, 484 s.
- RYPLOVÁ, R., 2014: Fyziologie rostlin. Skriptum pro studující Učitelství přírodopisu pro 2. stupeň ZŠ. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 113 s.
- SOUKUPOVÁ, J.; ROHÁČEK, K., 2003: Fluorescence, fotosyntéza a stress: Jak to spolu souvisí. Ústav fyzikální biologie JU, AVČR.

STACH V., 1987: Úvod do problematiky fyziky plazmatu. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta. 80 s.

SUCHÁNEK, P., 2013: Řepkový olej nám prospívá. Laboratoř pro výzkum aterosklerózy, IKEM. Tisková konference: Řepkový olej – olej nad zlato. 4 s.

SUKOVÁ, I., 2009: Chladná plazma generovaná mikrovlnami k inaktivaci mikroorganismů. Food Australia, 8, 344-347.

STRAŇÁK V., TICHÝ M., KŘÍHA V., SCHOLTZ V., ŠERÁ B., ŠPATENKA P., 2007: Technological applications of sulfatron produced discharge. Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, 9(4), 852-857.

ŠEBÁNEK, J. a kol., 1989: Fyziologie rostlin. Brno: Vysoká škola Zemědělská v Brně, 203 s.

ŠERÁ B., ŠERÝ M., ŠTRAŇÁK V., ŠPATENKA P., TICHÝ M., 2009: Does cold plasma chase the seed dormancy? A study on Seeds of Lambs Quarters. Plasma Science and Technology, 11(6), 750-754.

ŠESTÁK, Z., ČATSKÝ, J. a kol., 1966: Metody studia fotosyntetické produkce rostlin. Praha: Academia Praha, 394 s.

VAŠÁK, J. a kol., 2000: Řepka. Souhrnná pěstitelská technologie řepky. Agrospoj Praha: 332 s.

#### Seznam použitých internetových zdrojů:

Gazometrická stanovení fotosyntetických parametrů (2008). Dostupné z: [http://kebr.prf.jcu.cz/download/lectures/KEBR220/KEBR220\\_U05-Gazometrie-2008.pdf](http://kebr.prf.jcu.cz/download/lectures/KEBR220/KEBR220_U05-Gazometrie-2008.pdf) [cit. 1. 6. 2015]

[http://www.licor.com/env/products/photosynthesis/precise\\_accurate.html](http://www.licor.com/env/products/photosynthesis/precise_accurate.html) [cit. 2. 6. 2015]

Description of the LI-COR 6400. Dostupné z: [http://hydrology1.nmsu.edu/Teaching/soil698/Student\\_Material/Photosynthesis/6400.html](http://hydrology1.nmsu.edu/Teaching/soil698/Student_Material/Photosynthesis/6400.html) [cit. 3. 6. 2015]

Zdroj obrázků:

**Obr. č. 1: Řepka olejná** (Dostupné:

[http://www.botanickafotogalerie.cz/fotogalerie.php?lng=cz&latName=Brassica%20napus%20subsp.%20napus&czName=brukev%20%C5%99epka%20olejka&title=Brassica%20napus%20subsp.%20napus%20%7C%20brukev%20%C5%99epka%20olejka&showPhoto\\_variant=photo\\_description&show\\_sp\\_descr=true&spec\\_syntax=species&sortby=lat](http://www.botanickafotogalerie.cz/fotogalerie.php?lng=cz&latName=Brassica%20napus%20subsp.%20napus&czName=brukev%20%C5%99epka%20olejka&title=Brassica%20napus%20subsp.%20napus%20%7C%20brukev%20%C5%99epka%20olejka&showPhoto_variant=photo_description&show_sp_descr=true&spec_syntax=species&sortby=lat) [cit. 28. 4. 2015])

**Obr. č. 3: Příklad LI-COR 6400** (Dostupné:

<https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6400XT/> [cit. 4. 6. 2015])

## 8 PŘÍLOHY

RYPLOVA, R., SERA, B., BICANOVA, L., LANDOVA, T., PETRASKOVA, K.,  
RAKOSNIKOVA, L. 2015: The response of Rape Seedlings to Cold Plasma Treatment  
of Seeds. In: K.Pazderu, (ed.): Proceedings of the 12th Scientific and technical  
seminar Seed and Seedlings, CULS Prague, 5th February 2015. 35 – 40



## ODEZVA SEMENÁČKŮ ŘEPKY NA OŠETŘENÍ SEMEN CHLADNÝM PLAZMATEM

*The Response of Rape Seedlings to Cold Plasma Treatment of Seeds*

**Renata Ryplová, Božena Šerá, Laura Bicanová, Tereza Landová,  
Kamila Petrášková, Tamara Rákosníková  
Katedra biologie PF JU v Českých Budějovicích**

### **Abstract**

This study investigated the effect of cold plasma treatment of rape seeds (*Brassica napus* L. var. *napus*) on germination, initial growth and basic physiological characteristics of first leaf (net photosynthesis - PN, and total chlorophyll content). The effects of different duration (0 min, 3 min, 5 min, and 10 min) of cold plasma treatment of rape seeds were studied. Although no significant influence of cold plasma treatment on seed germination was detected, initial growth of rape seedlings was affected. The cold plasma treatment of 5 min improved initial growth, but, on the other hand, negative impact of the 3 min cold plasma treatment on initial growth was found. Net photosynthesis and total chlorophyll content of the first leaf of rape seedlings were affected by cold plasma treatment as well. The effect varied according to the duration of cold plasma treatment and also according to the first leaf ontogeny. Higher PN values were reached by 20 days old plants of 3 min variant. At the age of 27 days significantly higher net photosynthesis values were reached by the plants of 3 min and 10 min treated variants. On the other hand, in senescent leaves, at the age of 34 days, lower PN values were detected in 10 min variant. Higher total chlorophyll content was measured in first leaf of 21 days old plants of 3 min as well as 10 min variant, but no significant changes were detected in older plants.

**Key words:** *rape seed, cold plasma, chlorophyll, net photosynthesis*

### **Souhrn**

Ošetření semen chladným plazmatem je moderní high-tech metoda s potenciálem využití v zemědělství ke zvýšení klíčivosti a produktivity hospodářských plodin. Detailní znalosti vlivu ošetření semen chladným plazmatem na fyziologické charakteristiky rostlin však doposud chybějí. Z tohoto důvodu byl proveden experiment, v jehož průběhu byl sledován vliv ošetření semen brukve řepky olejky (*Brassica napus* L. var. *napus*) na klíčivost, počáteční růst a fyziologické charakteristiky prvního listu (čistou fotosyntézu PN a množství chlorofylu). Semena byla ošetřena chladným plazmatem po dobu 0 min, 3 min, 5 min a 10 min. Ošetření chladným plazmatem ani v jedné z pokusných variant neovlivnilo klíčivost, avšak počáteční růst ovlivněn byl. Pozitivní vliv bylo možno pozorovat u varianty 5 min, naopak u varianty 3 min se projevil efekt negativní. U rostlin kultivovaných následně ze semen v plně kontrolovaných podmínkách byl zjištěn také vliv ošetření semen na základní fyziologické charakteristiky prvního listu. Efekt ovlivnění se lišil v závislosti na délce oplazmování semen. 20. den kultivace byl zjištěn pozitivní vliv oplazmování na čistou fotosyntézu PN u varianty 3 min, 27. den byly zjištěny vyšší hodnoty čisté fotosyntézy u varianty 3 min i 10 min. Naopak 34. den kultivace vykazovaly rostliny varianty 10 min snížené hodnoty čisté fotosyntézy. U varianty 3 min i 10 min byl také zjištěn v 21. dnu kultivace vyšší celkový obsah chlorofylu a+b, během dalšího průběhu pokusu však již odchylky v obsahu chlorofylu a+b mezi variantami oplazmovanými a variantou kontrolní zjištěny nebyly. Vliv ošetření chladným plazmatem na čistou fotosyntézu i obsah chlorofylu vykazoval variabilitu v průběhu ontogeneze prvního listu.

**Klíčová slova:** *semena řepky, chladné plazma, chlorofyl, fotosyntéza*

## Úvod

Brukev řepka olejka je rostlina světového hospodářského významu a mnohostranného využití. Proto je důležité hledat moderní metody vedoucí ke zvýšení klíčivosti semen i zvýšení produkce biomasy této hospodářské plodiny. V této souvislosti je v posledních letech zkoumán vliv ošetření semen plazmatem. Plazma je ionizovaný plyn složený z iontů, elektronů a dalších částic, který vzniká odtržením elektronů z elektronového obalu atomů plynu nebo ionizací molekul. Plazma se může používat ke sterilizaci povrchů (např. Mráz et al., 2013), ale může mít uplatnění i v pěstování rostlin. Předcházející studie prokázaly pozitivní vliv na klíčivost semen a počáteční růst různých druhů rostlin (Kuchtová et al., 2013a; 2013b; Šerá et al. 2009; 2012a; 2012b; 2013). U některých rostlin byl pozorován také pozitivní vliv ošetření semen plazmatem na následnou produktivitu rostlin (Jiang et al., 2014). Doposud však chybí hlubší studie popisující detailní odpověď fotosyntetického aparátu semenáčků na ošetření semen chladným plazmatem. Z těchto důvodů jsme provedli experiment, během něhož byl sledován vliv ošetření semen chladným plazmatem na klíčivost, rychlost fotosyntézy a obsah chlorofylu u semenáčků brukve řepky olejky.

## Metodika

Semena brukve řepky olejky (*Brassica napus* L. var. *napus*), dále jen řepky, byla ošetřena chladným plazmatem. K modifikaci semen bylo použito atmosférické plazma generované mezi hliníkovými elektrodami, použitým plynem byl vzduch. Detailní popis aparatury je v práci Gavril et al., (2011). Semena byla ošetřena při různých časových expozicích (0 min, 3 min, 5 min, 10 min) v počtu 150 kusů na jednu variantu.

V průběhu experimentu byla zjišťována klíčivost a rychlost počátečního růstu rostlin jednotlivých variant a základní fyziologické charakteristiky prvního listu, konkrétně rychlost fotosyntézy a obsah fotosyntetických pigmentů.

### Klíčivost a rychlost počátečního růstu

Pro testy klíčivosti byly použity plastové Petriho misky o průměru 9 cm. Na jednu Petriho misku byly umístěny 4 filtrační papíry KA0/80, 6 ml destilované vody a rozmístěno 30 semen. Na jedno ošetření bylo založeno 5 Petriho misek. Misky byly uloženy do tmy při teplotě cca 20 °C.

Experiment klíčení byl založen 12. 5. 2014 a trval 19 dnů. Během pokusu byl sledován počet klíčících semen a jejich přírůstky. Poslední den byly vyrostlé rostliny sklizeny, usušeny a byla určena jejich hmotnost.

### Fyziologické charakteristiky prvního listu

#### Kultivace rostlinného materiálu

Ze semen ošetřených chladným plazmatem byly vypěstovány rostliny v plně kontrolovaných laboratorních podmínkách. Vzhledem k omezení prostorovými možnostmi kultivačního boxu byly pro sledování fyziologických charakteristik prvního listu vybrány pouze varianty 3 min, 10 min a varianta kontrolní (0 min). Semena řepky byla vyseta do komerčně připravované zeminy (Garden Forestina, Střelské Hoštice) do plastových květináčů o rozměrech 11 x 11 x 12 cm. Kyselost půdy byla pH 4,5 - 6,5. Do každého květináče bylo vyseto 5 semen v pravidelných vzdálenostech od sebe. Květináče byly umístěny po pěti na plata, tak, aby na každém platě byly květináče s rostlinami téže pokusné varianty. Takto bylo připraveno vždy 10 květináčů (2 plata) od každé pokusné varianty. Rostliny byly pravidelně zavlažovány do plat odstátou vodou z vodovodu, 0,5 l na každé plato denně, v posledním týdnu kultivace bylo zavlažováno 1 l vody denně. Rostliny byly umístěny do plně automatického kultivačního boxu Fytoscope (PSI, Brno, Česká republika) a pěstovány pod režimem uvedeným v tab. 1:

**Tab. 1: Podmínky kultivace rostlinného materiálu**

Fáze	Teplota (°C)	Relativní vlhkost (%)	Ozářenost ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
Rozednívání 2 hod.	17 → 24	80 → 65	0 → 286
Den 10 hod.	24	65	286
Stmívání 2 hod.	24 → 17	65 → 80	286 → 0
Noc 10 hod.	17	80	0

**Měření fotosyntetické výměny plynů**

Počínaje 20. dnem kultivace byla v pravidelných týdenních intervalech měřena čistá fotosyntéza ( $P_N$ ) prvního vyvinutého listu pomocí přístroje LI- 6400 XT (LICOR Inc., Lincoln, NE, USA). Měření probíhalo přímo v kultivačním boxu, při denním režimu nastaveného programu (ozářenost  $286 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). List řepky byl uzavřen do měřící květy přístroje, v níž byly upraveny podmínky měření tímto způsobem:  $\text{CO}_2$  400 ppm, rel. vlhkost 56 – 60 %, teplota listu 23 °C. Před měřením byl list ponechán v květě cca 10 – 15 min, do ustálení hodnot měřených parametrů. Tímto způsobem bylo provedeno vždy 10 měření náhodně vybraných rostlin od každé pokusné varianty. Měření probíhalo 20., 27. a 34. den kultivace. Další měření již nebylo možné na prvním listu provádět z důvodu jeho senescence.

**Stanovení fotosyntetických pigmentů**

Následující den po měření fotosyntetické výměny plynů (tj. 21., 28. a 35. den kultivace) byla prováděna analýza fotosyntetických pigmentů. Z prvního listu byly pomocí korkovrtu vyřaty terčiky o známém obsahu, z nichž byly pigmenty extrahovány 80 % acetonem. Množství chlorofylu pak bylo zjišťováno spektrofotometricky podle Lichtenthalera a Wellburna (1983), pomocí spektrofotometru UV VIS 250 (Shimadzu, Japonsko).

**Statistická analýza**

Získaná data byla zpracována v programech EXCEL a STATISTICA. Data byla normalizována logaritmickou transformací a následně statisticky vyhodnocena jedno faktorovou analýzou variance (one-way ANOVA) a poté HSD Tukey testem, vše na hladině významnosti 0,05.

**Výsledky a diskuse****Klíčivost a rychlost počátečního růstu**

Klíčivost semen řepky nebyla použitým ošetřením ovlivněna. Naopak v růstových parametrech semenáčků byly nalezeny signifikantní rozdíly vzhledem ke kontrolnímu vzorku (tab. 2).

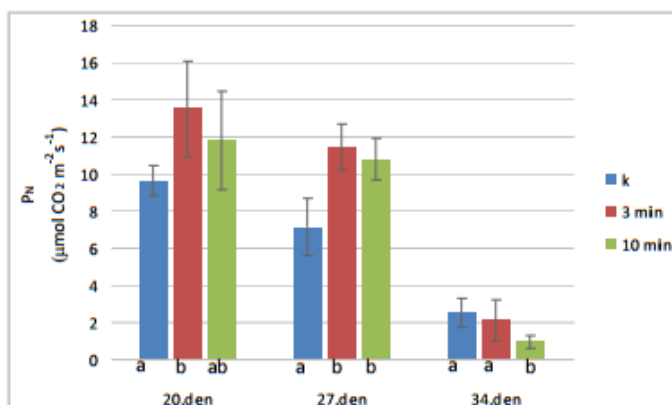
**Tab. 2: Charakteristiky klíčení a počátečního růstu oplazmovaných semen řepky olejky z posledního dne pokusu.** (Označení R znamená podzemní část rostliny a S nadzemní část rostliny. Různá písmena ve sloupcích HSD uvádí významné rozdíly zjištěné v testu Tukey ( $P < 0,05$ ) při porovnávání každých s každým. Tučně jsou vyznačené významné rozdíly u ošetřených semen vzhledem k příslušné kontrole)

	Klíčení		Délka R		Délka S		Čerstvá biomasa hmotnost R		Čerstvá biomasa hmotnost S		Sušina hmotnost R		Sušina hmotnost S	
	(%)	HSD	(%)	HSD	(%)	HSD	(%)	HSD	(%)	HSD	(%)	HSD	(%)	HSD
<b>Kontrola</b>	100	a	100	a	100	a	100	a	100	a	100	a	100	a
<b>3 min</b>	94	a	<b>74</b>	b	<b>86</b>	b	74	a	57	b	72	b	92	a
<b>5 min</b>	97	a	108	a	106	a	<b>328</b>	b	128	a	91	ab	104	a
<b>10 min</b>	102	a	97	ab	96	ab	148	a	119	a	96	a	93	a

Podle porovnání všech měřených charakteristik lze konstatovat, že nejlépe rostly rostliny ze semen ozářených chladným plazmatem po dobu 5 min. U této varianty byl zjištěn pozitivní trend v délkách nadzemních a podzemních orgánů a v množství biomasy. Pozitivní vliv byl zaznamenán především u hmotnosti čerstvých podzemních částí semenáčků po ošetření plazmatem po dobu 5 min v porovnání s kontrolním vzorkem. Naopak nejhůře rostly rostliny řepky ze semen plazmovaných po dobu 3 min. U těchto rostlin byly hodnoty všech sledovaných charakteristik pod hodnotami kontrolního vzorku.

#### Fotosyntetická asimilace CO<sub>2</sub> – čistá fotosyntéza P<sub>N</sub>

Jednotlivé varianty vykazovaly statisticky významné rozdíly v čisté fotosyntéze prvního listu během celé doby jeho vývoje (graf 1). V prvním týdnu měření, tj. 20. den kultivace, byla nejvyšší čistá fotosyntéza prvního listu u semenáčků vyrostlých ze semen ošetřených chladným plazmatem po dobu 3 min, než u rostlin kontrolních (o cca 40 %). Semenáčky řepky ze semen ošetřených chladným plazmatem po dobu 10 min se v čisté fotosyntéze od ostatních dvou variant významně neodlišovaly. Ve druhém týdnu měření (27. den kultivace) došlo u všech variant pokusných rostlin k mírnému poklesu čisté fotosyntézy prvního listu, zřejmě v souvislosti s jeho probíhající senescencí. I tentokrát byla čistá fotosyntéza semenáčků varianty 3 min výrazně vyšší než u varianty kontrolní (cca 59 %). Ve 27. dnu kultivace byla zjištěna výrazně vyšší čistá fotosyntéza také u varianty 10 min (nárůst oproti kontrolní variantě cca 50%), přičemž nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami čisté fotosyntézy prvního listu obou ovlivněných variant navzájem. Poslední měření (34. den kultivace) nízké hodnoty čisté fotosyntézy všech zkoumaných variant naznačují značný stupeň senescence. V tomto měření byl zjištěn nejvyšší pokles čisté fotosyntézy u rostlin varianty 10 min, kdy průměrná hodnota čisté fotosyntézy dosahovala pouhých cca 39 % hodnoty varianty kontrolní.

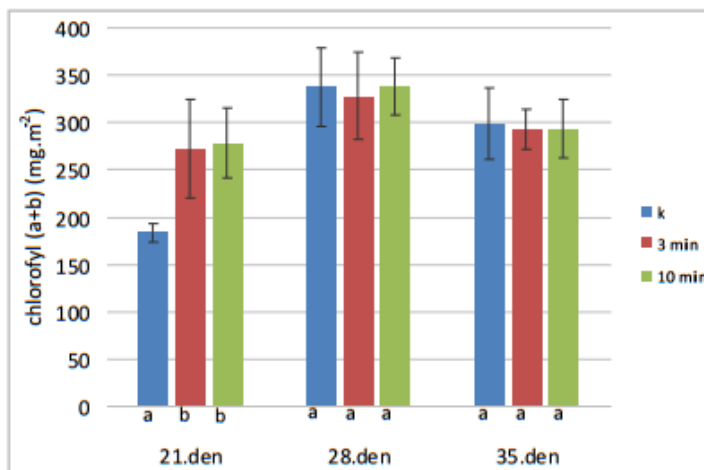


**Graf 1: Vývoj průměrné rychlosti čisté fotosyntézy (PN) prvního listu v průběhu experimentu, 20., 27. 34. den kultivace (Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena u jednotlivých sloupců v grafu značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0.05$ ) při porovnávání každých s každým)**

#### Obsah chlorofylu a+b

U obou oplazmovaných variant pokusných rostlin došlo k významnému zvýšení (cca o 20 %) obsahu celkového chlorofylu prvního listu v prvním týdnu měření, tj. 21. den kultivace, (graf 2). Ve 28. a 35. dnu kultivace již nebyly shledány žádné statisticky významné změny v obsahu celkového chlorofylu v prvního listu mezi jednotlivými zkoumanými variantami. Během vývoje v průběhu experimentu došlo u všech variant v druhém týdnu měření k mírnému nárůstu a ve třetím týdnu měření k mírnému poklesu obsahu celkového chlorofylu v prvního listu, zřejmě v souvislosti s ontogenetickými

změnami listu. Pozitivní vliv ošetření semen chladným plazmatem na obsah chlorofylu byl již v minulosti potvrzen u rostlin pšenice (Jiang et al., 2014).



**Graf 2: Změny v obsahu chlorofylu (a+b) na m<sup>2</sup> listové plochy během vývoje prvního listu, 21., 28. a 35. den kultivace** (Chybové úsečky značí směrodatné odchylky. Různá písmena u jednotlivých sloupců v grafu značí významné rozdíly dle testu Tukey ( $P < 0.05$ ) při porovnávání každých s každým)

Oplazmování semen po dobu 3 min mělo zřejmě inhibiční vliv na některé parametry počátečního růstu klíčících rostlin do 19. dne, avšak již 20. den byly zjištěny u této varianty vyšší hodnoty čisté fotosyntézy i obsahu celkového chlorofylu. Oplazmování semen po dobu 10 minut neovlivnilo klíčivost ani počáteční růst, v 21. dnu kultivace se však projevilo nárůstem obsahu celkového chlorofylu. Pozitivní vliv oplazmování semen po dobu 10 minut na rychlost fotosyntézy bylo možno pozorovat až 27. den kultivace, avšak u senescenčních listů v 34. dnu kultivace byla čistá fotosyntéza rostlin této varianty naopak nejnižší.

Celkově lze tedy konstatovat, že byl zaznamenán vliv plazmování semen řepky na fyziologické a růstové parametry semenáčků. Efekt ovlivnění se lišil v závislosti na délce trvání ošetření semen chladným plazmatem a vykazoval výrazné změny v průběhu ontogeneze prvního listu. K vysvětlení této variability je potřeba dalšího výzkumu na úrovni fyziologických i biochemických charakteristik semenáčků.

### Závěr

Ošetření semen chladným plazmatem ovlivnilo růstové a fyziologické charakteristiky v prvních fázích růstu rostlin brukve řepky olejky. Ovlivněny byly charakteristiky počátečního růstu mladých semenáčků (délky nadzemních a podzemních částí semenáčků, hmotnost jejich čerstvé biomasy a hmotnost sušiny kořenů), rychlost fotosyntézy i obsah chlorofylu v prvním listu starších semenáčků. Vliv ošetření semen chladným plazmatem se lišil u jednotlivých pokusných variant v závislosti na délce expozice semen vůči chladnému plazmatu.

## Literatura

- GAVRIL B., HNATIUC E., SERA B., HRUSKOVA I., PADUREANU S., HĂISAN C., (2011). Possibilities of performing treatments on seeds using cold plasma discharges. In: XVIXth Symposium on Physics of Switching Arc, pp. 189-192, Bmo, University of Technology.
- HENSELOVA M., SLOVAKOVA L., MARTINKA M. & ZAHORANOVA A., (2012). Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. *Biologia* 67/3: 490—497
- JIANG J., HE X., LI L., LI J., SHAO H., XU Q., YE R., DONG Y., (2014). Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat. *Plasma Science and Technology*, 16 (1), 54 – 58.
- KUCHTOVA P., SERA B., GAVRIL B., SERY M., HNAUTIC E., (2013a). Gliding arc plasma modified number of capsules in poppy seed. In: European Biotechnology Congress, Comenius Univ, Bratislava, Slovakia, May 16-18, 2013, Current Opinion in Biotechnology, 24(1). S133-S133. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.05.425
- KUCHTOVA P., SERA B., HAJKOVA M., KAZDA J., DVORAK P., GAVRIL B., SERY M., MICA L., HNATIUC E., SPATENKA P., (2013b). Response of Poppy Seed on Non-thermal Plasma Treatment. In: 11th Scientific and Technical Seminar on Seed and Seedlings, Czech Univ Life Sci Prague (CULS), Prague, Czech Republic, Feb 07, 2013, Seed and Seedlings, 53-58.
- LICHTENTHALER H. K., WELLBURN A. R., (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 591 – 592.
- MRAZ I., BERAN P., SERA B., GAVRIL B., HNATIUC E., (2014). Effect of low-temperature plasma treatment on the growth and reproduction rate of some plant pathogenic bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 96 (1). 63-67.
- SERA B., GAJDOVA I., SERY M., SPATENKA P., (2013). New physicochemical treatment method of Poppy seeds for agriculture and food industries. – *Plasma Science and Technology*, 15(9):935-938. DOI: 10.1088/1009-0630/15/9/19.
- SERA B., GAJDOVA I., GAVRIL B., HNATIUC E., SERY M., SPATENKA P., (2012a). Hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds after plasma treatment. Proceedings of the International Conference on Optimisation of Electrical and Electronic Equipment, OPTIM, art.no. 6231981, 1371-1374.
- SERA B., GAJDOVA I., CERNAK M., GAVRIL B., HNATIUC E., KOVACIK D., KRIHA V., SLAMA J., SERY M., SPATENKA P., (2012b). How various plasma sources may affect seed germination and growth. Proceedings of the International Conference on Optimisation of Electrical and Electronic Equipment, OPTIM, art.no. 6231880, 1365-1370.
- SERA B., SERY M., STRANAK V., SPATENKA P., TICHY M., (2009). Does cold plasma change the seed dormancy? Study on seeds of Lambs Quarters (*Chenopodium album* agg.). - *Plasma Science and Technology*, 11(6). 750-754.

---

**Contact address:** RNDr. Renata Ryplová, Ph.D. Katedra biologie, PF JU v Českých Budějovicích, Jeronýmova 10, 371 15 České Budějovice, E-mail: ryplova@pf.jcu.cz