

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroekologie a rostlinné produkce**



**Hydratační úpravy osiv pro zlepšení vitality osiv**

**Bakalářská práce**

**Tomáš Pecka**

**Rostlinná produkce**

**Ing. Kateřina Pazderů, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Hydratační úpravy osiv pro zlepšení vitality osiv" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. července 2020

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Kateřina Pazderů, Ph.D. za konzultace při zpracovávání práce a za trpělivost.

# Hydratační úpravy osiv pro zlepšení vitality osiv

## Souhrn

Semeno je základní rozmnožovací materiál rostlin. Musí mít určitou kvalitu, aby bylo schopné vyklíčit. Kvalitní životaschopná semena jsou základním předpokladem pro úspěšný vývoj rostliny a produkci dalšího kvalitního potomstva. Ne všechna semena jsou však stejně kvalitní a životaschopná.

V této práci byl zpracován ucelený přehled v podobě literární rešerše o hydratačních úpravách osiv zlepšujících klíčící vlastnosti semen. Tyto úpravy mají velmi kladný dopad na zlepšení klíčivosti zejména u málo životaschopných semen. V první části rešerše je popsána stavba semene, v druhé části je vysvětlen princip klíčení semene a popsány faktory ovlivňující klíčení. Třetí část se zabývá samotnými hydratačními úpravami, popisuje metodiku a principy jednotlivých úprav a zahrnuje výtah z nejnovějších vědeckých prací.

Byly popsány metody neřízeného příjmu vody, řízeného příjmu vody, jeho formy, mechanismus účinku při použití různých přídatných látek, a dopad na klíčení a vzcházení rostliny. Pozornost byla věnována primingu semen pomocí nanočástic či primingu pomocí endofytických organismů, které se zdají být šetrnější a méně nákladné než ostatní metody hydratace. Poslední část rešerše byla věnována regulaci patogenů přenosných osivem, jelikož zdravé osivo je základ pro bezproblémový vývoj rostliny.

V diskuzi bylo pojednáváno o výhodách a nevýhodách jednotlivých metod, byly shrnuty praktické dopady na zemědělství, lidstvo a životní prostředí, a to včetně dopadů potenciálních. Jako poslední bylo zhodnoceno využívání hydratačních úprav v praxi.

**Klíčová slova:** semeno, klíčivost, priming, vitalita, kvalita, osivo

# Hydration Seed Treatments for Improved Seed Vigor

## Summary

Seed is a basic reproductive material of plants. It has to have a certain quality and vigor to be able to germinate successfully. A vigorous seed is a fundamental presumption for successful seedling development and production of next generation of offsprings. Not all the seeds have the same germination qualities though.

In this paper, a review of the newest methods of hydration seed treatments for improved seed vigor was put together. These treatments have a very positive impact on germination especially on low vigorous seeds. In the first part of this review a seed structure is described. Second part defines the principles of seed emergence and factors that are effecting germination. Third part deals with methods of hydration treatments, its principles and includes results from the newest scientific papers.

Prehydration and priming techniques are described along with its forms, mechanisms of additive substances and their impact on seed emergence. Great attention was given to nanoprimering and bioprimering, as they appear to be the newest approaches to hydration treatments. They are also environmentally friendly and less expensive than other techniques. Last part of this research deals with regulation of seed borne pathogens because healthy seeds are the primary presumption for good plant growth.

Discussion includes advantages and disadvantages of various hydration methods. Practical impact on agriculture, humanity and environment was also described in this research including potential ones. Lastly, use of hydration treatment in practical sector was evaluated.

**Keywords:** seed, germination, priming, vigor, quality

# Obsah

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 Úvod.....</b>  | <b>7</b>  |
| <b>2 Cíl práce.....</b>                                       | <b>8</b>  |
| <b>3 Literární rešerše.....</b>                               | <b>9</b>  |
| <b>3.1 Stavba semene .....</b>                                | <b>9</b>  |
| <b>3.2 Klíčení semene.....</b>                                | <b>11</b> |
| 3.2.1 Faktory ovlivňující klíčení.....                        | 11        |
| 3.2.1.1 Voda.....   | 11        |
| 3.2.1.2 Teplota.....  | 12        |
| 3.2.1.3 Kyslík .....  | 13        |
| 3.2.1.4 Světlo .....  | 13        |
| 3.2.2 Dormance .....  | 14        |
| <b>3.3 Hydratační úpravy osiv.....</b>                        | <b>16</b> |
| 3.3.1 Historie.....   | 16        |
| 3.3.2 Princip úpravy osiva hydratací.....                     | 17        |
| 3.3.3 Neřízený příjem vody.....                               | 19        |
| 3.3.4 Řízený příjem vody.....                                 | 19        |
| 3.3.4.1 Priming v roztoku.....                                | 21        |
| 3.3.4.2 Kontrolovaná hydratace .....                          | 24        |
| 3.3.4.3 Priming v pevné fázi.....                             | 28        |
| 3.3.4.4 Nanopriming .....                                     | 30        |
| 3.3.4.5 Biopriming.....                                       | 32        |
| <b>3.4 Metody využívající vodu pro dezinfekci osiva .....</b> | <b>35</b> |
| 3.4.1 Moření horkou vodou.....                                | 35        |
| 3.4.2 Moření horkou párou .....                               | 36        |
| <b>4 Zhodnocení metod a využití v praxi .....</b>             | <b>38</b> |
| <b>5 Závěr .....</b>  | <b>40</b> |
| <b>6 Literatura.....</b>                                      | <b>41</b> |

# 1 Úvod

V době neolitické revoluce, kdy se lidská společnost začala měnit ze společnosti kočovné na společnost usedlou, se člověk stal existenčně závislým na zemědělství.

Dlouhodobým pobýváním na jednom místě však vyčerpal všechny zdroje potravy na stanovišti a musel si tak zajistit obživu sám. Současně s domestikací zvířat začal člověk sám účelně pěstovat obilí z nasbíraných semen divokých trav. Vznikla potřeba nechávat si část vypěstovaných semen pro další pěstování. Z počátku si každý nechával semena primárně sám pro sebe, ale v průběhu času se objevil i obchod s osivem. První případ hodnocení osiva za účelem prodeje byl zaznamenán v roce 1869 (Pazderů 2020). Vzniklo tak odvětví zabývající se množением osiva – semenářství.

Semena, jakožto základní rozmnožovací materiál rostlin, mají různé vlastnosti, které rozhodují o kvalitativních i kvantitativních parametrech jeho potomstva. Semenářství má za úkol poskytovat kvalitní rozmnožovací materiál, jenž bude splňovat tyto parametry v míře, která je žádána. Využívá k tomu znalosti i z jiných oborů – v dnešní době především z genetiky a šlechtění.

S rostoucí světovou populací a zmenšujícím se plochám, na kterých je možné pěstovat obživu pro lidstvo, je poptávka po stále výkonnějších odrůdách. Jak z hlediska kvantity, tak kvality.

Požadavek pěstitelů je samozřejmě kladen i na spolehlivost osiva. Dobrá a rovnoměrná vzcházivost vyprodukovaného osiva je základem kvalitního a uniformního porostu, od kterého můžeme čekat vyšší výnosy případně vyšší kvalitu výsledného produktu. Ke zlepšení vzcházení osiva lze použít různé speciální úpravy, jejichž cílem je rychlejší vzcházení a jednotné klíčení.

Hydratační úpravy semen významně zlepšují klíčivost, neboť hydratace je jedním ze základních předpokladů pro klíčení semene.

## **2 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce je zpracovat přehledný a ucelený souhrn problematiky hydratačních úprav osiv. Podstatnou součástí práce je i zhodnocení využívání těchto metod v zemědělské praxi a pojednání o přínosech a negativech těchto nadstandardních úprav osiv z pohledu zvýšení kvality osiv bez omezení rostlinných druhů.



### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Stavba semene

Houba & Hosnedl (2002) uvádí, že živé organismy se vyznačují schopností rozmnožovat se a mezigeneračně si předávat genetickou informaci. Základním rozmnožovacím orgánem u rostlin je semeno, které se běžně vyvíjí z oplozeného vajíčka. K základním složkám semene patří embryo, endosperm, perisperm a testa.

Embryo (zárodek) vzniká z haploidní vaječné buňky oplozené haploidní generativní buňkou pylové láčky. Embryo může být různě diferenciované. Stupeň diferenciacie embrya závisí na botanickém druhu a na době sklizně. U některých druhů je embryo málo diferencované (mrkev), u jiných je stupeň diferenciacie vysoký (hrách). Ne všechna semena obsahují při oddělení od mateřské rostliny zcela zralé embryo a jeho vývoj se může dokončovat později (Houba & Hosnedl 2002).

Endosperm vzniká z diploidního jádra zárodečného vaku oplozeného jednou z pohlavních buněk pylové láčky (endosperm je proto triploidní). Je tvořen parenchymatickým pletivem. Podle stavu endospermu ve fázi zralosti rozlišujeme semena na:

1. semena s endospermem – endosperm je dobře vyvinutý (*Poaceae*)
2. semena bez endospermu – u zralých semen endosperm buď zcela chybí, nebo byl značně vyčerpán v průběhu jejich vývinu (např. sója), někdy je redukován na tenkou tkáň utvářenou slabou vrstvou buněk.

Součástí endospermu řady druhů *Poaceae* a některých dalších botanických druhů (např. *Fagopyrum* sp.) je aleuronová vrstva, kterou tvoří jedna nebo více vrstev buněk, jenž se v určité fázi zrání diferencují od dalších buněk endospermu. Dochází pak k oddělení obvodových buněk od buněk vnitřních a buňky se přemění na tlustostěnné se ztloustlými stěnami s především proteinovým obsahem. Významný rozdíl spočívá v tom, že buňky aleuronové vrstvy zůstávají živé na rozdíl od ostatních buněk endospermu. Mrtvé buňky endospermu se plní zásobními látkami, zejména škrobem a v menším podílu proteiny. Perisperm vzniká z buněk zárodečného vaku a má diploidní stavbu. Představuje zásobní pletivo pro výživu embrya. U většiny botanických druhů se v počátečních fázích vývinu semene zcela vyčerpá, takže v plné zralosti

se vyskytuje jen u některých čeledí (*Chenopodiaceae*). V některých případech se stává hlavním zásobním orgánem živin. U těchto semen pak zcela chybí endosperm (Procházka 1998).

Testa (osemení) vzniká přeměnou vaječných obalů. Fyziologický význam testy spočívá v ovlivňování propustnosti pro vodu a plyny. Tvorbou určité míry nepropustnosti pro vodu a plyny (včetně kyslíku) může mít testa regulační vliv na metabolismus a růst vnitřních tkání a orgánů semen, čímž prakticky ovlivňuje fyziologické pochody při klíčení semen (Houba & Hosnedl 2002). To potvrzuje i Moreno et al. (2006), kteří se ve své práci zabývali vlivem osemení na klíčivost semen kaučuku (*Hevea brasiliensis* Muell.). Byl zkoumán mechanický vliv osemení na bobtnání semen. Porovnávány byly vzorky s částečným a úplným odstraněním osemení. Nejlepší imbibici a klíčivost semen vykazovaly vzorky s úplně odstraněným osemením. Autoři ve své práci tvrdí, že osemení silně zasahuje do imbibičního procesu a má negativní efekt při klíčení, kde působí jako bariéra zabraňující propustnosti a imbibici vody do embrya. Podobně prováděli výzkum i Maldonado et al. (2018). Porovnávali obsah vody v embryu a osemení u druhů *Malpighia mexicana* Juss. a *Byrsonima crassifolia* L. Byl pozorován patrný rozdíl v propustnosti osemení dvou zkoumaných druhů. U druhu *Byrsonima crassifolia* L. je průnik vody do embrya lepší a lze tedy předpokládat bezproblémové klíčení. U druhu *Malpighia mexicana* Juss. osemení díky vláknité struktuře značněji nabobtná a zabrání hydrataci embrya, které pak nemůže nastartovat metabolické procesy klíčení. U tohoto druhu by měla pro zlepšení klíčení význam skarifikace.

## 3.2 Klíčení semene

Pro život rostlin, stejně jako pro všechny živé organismy, je nejdůležitější voda. Semena ovlivňuje voda ve všech fázích života. Od jejich formování a zrání, přes období klidu a skladování, až po bobtnání a klíčení. Snížením obsahu vody pod určité procento semeno přechází do období klidu. Nejvíce patrný je význam vody právě pak při klíčení semen, kdy zvýšený obsah vody reguluje přechod semen ze stavu klidu do počátku fáze klíčení (Procházka 1998).

Semena většiny kulturních druhů rostlin vyžadují pro svůj úplný vývoj fázi vyschnutí, během které se změní metabolismus vývoje na metabolismus umožňující klíčení semene. Tato semena označujeme jako ortodoxní. Obsah vody při jejich fyziologické zralosti je 5–15 %. Nízká metabolická aktivita těchto semen zaručuje dlouhou životnost a možnost skladování v chladném a suchém prostředí bez významné ztráty životaschopnosti. Jako rekalcitranční označujeme semena obsahující 20–40 % vody. Při jejich dozrání nedochází k výraznému úbytku vody a pokud klesne obsah vody pod tuto hranici, dojde ke ztrátě klíčivosti. Patří mezi ně druhy z oblasti tropů, např. *Coffea arabica* (Houba & Hosnedl 2002).

### 3.2.1 Faktory ovlivňující klíčení

Aby mohla semena začít klíčit, musí být splněny základní podmínky, které jsou pro semena všech druhů rostlin stejné. Jsou jimi dostatek vody, vhodná teplota, kyslík a u některých rostlinných druhů také světlo či přítomnost určitých chemických látek.

#### 3.2.1.1 Voda

Voda je pro klíčení rozhodující faktor. Pokud nemá semeno dostatek vody, vstupuje do fáze klidu, kdy vykazuje nízkou metabolickou aktivitu (stav quiescence). Začne-li semeno přijímat vodu, nastává fáze bobtnání a následně přechod z fáze klidu do počáteční fáze klíčení. Osemení je pro vodu nejvíce prostupné kolem pupku semene. Dle druhu rostlin bobtnají semena různou rychlostí a intenzitou. U hrachu (*Fabaceae*) je spotřeba vody na 1 kg semen i 1850 ml, u pšenice pouze 550 ml. Největší úroveň hydratace je v embryu. Jakmile v něm stoupne obsah vody nad 60 %, začnou se v semeni aktivovat metabolické systémy, a tím započne i příprava na objemový růst embryonálních buněk. Příjem vody do embrya pak souvisí

také s transportem organických sloučenin ze zásobních částí semen. Když pak kořínek embrya prorazí osemení, dojde k dalšímu zvýšení rychlosti příjmu vody (Procházka 1998).

Hlavním ukazatelem příjmu vody je vodní potenciál. Jeho definice je známa jako rozdíl chemického potenciálu vody v rostlině a chemického potenciálu čisté vody. Jednotkou vodního potenciálu je pascal, častěji se užívá megapascal. Protože se voda vždy pohybuje ve směru koncentračního spádu, i ve vlhké půdě se pohybuje směrem do suchého semena. Suchá semena mají nízký vodní potenciál – často méně než -100 MPa. Hodnota vodního potenciálu vody je nula (Bewley 1997).

První složkou vodního potenciálu je osmotický potenciál, který souvisí s koncentrací osmoticky aktivních látek v semeni. Čím vyšší je koncentrace osmoticky aktivních látek v semeni, tím je osmotický potenciál nižší. Většinou se udává v záporných hodnotách. Další složkou je tlakový potenciál, který závisí na rozpínavosti buněčné stěny. Čím více se stěna rozpíná, tím vyšší je tlakový potenciál. Poslední složkou je matriční potenciál – jeho hodnoty jsou velmi nízké a záporné. Semena přijímají vodu právě díky rozdílným hodnotám vodního potenciálu. Rychlost příjmu vody je závislá na hodnotách rozdílů vodních potenciálů – čím větší rozdíl, tím rychleji semeno bobtná. Bobtnání je první fáze klíčení. Postupným bobtnáním se potenciály vyrovnávají a příjem vody se snižuje, až se kompletně zastaví. V druhé fázi klíčení dochází ke zaktivování biochemických procesů. Množství vody v semeni se v této fázi nemění. Třetí fáze se vyznačuje viditelným růstem klíčku a vysokou metabolickou aktivitou. Skutečností, týkajících se rychlosti příjmu vody semene, se využívá při hydratačních úpravách osiva s cílem vyšší rychlosti klíčení a uniformnosti při vzcházení (Bewley 1997).

### 3.2.1.2 Teplota

Teplota má na klíčení stejný vliv jako na růst rostlin. Lze rozlišit tři kardinální teplotní body (minimum, optimum a maximum), které jsou charakteristické pro rostlinné druhy. Stanovit teplotní minimum pro klíčení je obtížné, neboť kolísá vlivem stáří osiva či odrůdy. Při optimální teplotě je zajištěna nejvyšší procentuální klíčivost za časový úsek. Maximum udává teplotu, při níž může dojít k denaturaci bílkovin nezbytných pro klíčení (Procházka 1998).

Semena z mírných oblastí vyžadují nižší teploty než semena z oblastí tropických. Dále také semena rostlin, které rostou planě, vyžadují pro klíčení nižší teploty než semena domestikovaných druhů. Optimální teplota pro klíčení semen většiny druhů rostlin se pohybuje od 15 do 30 stupňů Celsia. Maximální teplota je mezi 30 a 40 °C. Při klíčení některých

druhů rostlin, např. broskví, je nízká teplota nutná k normální tvorbě nadzemního systému. Určité horské rostliny se také vyznačují nízkou klíčovou teplotou. Semena mnoha rostlinných druhů vyžadují také kolísání teplot. Platí to zejména u nedomestikovaných druhů (Copeland 1995).

#### 3.2.1.3 Kyslík

Procházka (1998) uvádí, že kyslík je nezbytnou podmínkou pro klíčení většiny rostlinných druhů. V průběhu klíčení semen se výrazně zintenzivňuje jejich dýchání, při němž se kyslík využívá. Dýchání je systém postupných oxidoredukčních reakcí, při kterých dochází k uvolnění chemické energie z organických látek, primárně ze sacharidů, ale i z lipidů, proteinů a organických kyselin. Energie je zachycena jako krátkodobá zásoba ve formě molekuly ATP. Dýchání probíhá ve všech živých buňkách ve specializovaných organelách mitochondriích. při oxidační fosforylaci.

Přívod kyslíku musí být zajištěn v dostatečném množství. Pokud dojde k výraznému snížení koncentrace kyslíku, klíčení semen se zásadním způsobem naruší a následkem je pokles klíčivosti (Drew et al. 1994). Jen bažinné rostliny mohou klíčit téměř bez kyslíku. Patří mezi ně např. i rýže. Její klíčící rostliny jsou schopny využívat energii glykolýzy, k jejímuž průběhu kyslík není zapotřebí. Požadavky na kyslík musí být respektovány i při hloubce setby jak podle druhu rostlin (velikosti semen) tak podle fyzikálních vlastností půdy. Menší semena se sejí mělčeji, větší semena hlouběji (Procházka 1998).

#### 3.2.1.4 Světlo

Světlo většinou není podmínkou klíčení. Některá semena však klíčí rychleji na světle než ve tmě. Semena lze dělit na kladně a záporně fotoblastická. U kladně fotoblastických semen světlo stimuluje klíčení a u záporně fotoblastických klíčení inhibuje. Kladně fotoblastická semena většinou nemívají dostatek zásobních látek a klíčící rostliny proto musejí rychleji dosáhnout podmínek, které jsou vhodné pro jejich existenci. Na klíčení má vliv červená a modrá složka světla. Světlo v semeni působí na fytochromy, které zajišťují přeměnu světla a následně umožňují klíčení (Procházka 1998).

### 3.2.2 Dormance

Zralá semena, která se oddělí od mateřské rostliny, zůstávají na povrchu půdy. Některá semena za příznivých podmínek vyklíčí, většina semen však zůstává v půdě a neklíčí. Semena rostlin kulturních a zejména plevelných druhů zpravidla procházejí po dosažení zralosti určitým obdobím klidu. Zda jsou schopna životaschopná semena ihned po sklizni klíčit, závisí na mnoha vnitřních faktorech a na podmínkách prostředí. Rozlišujeme dvě formy období klidu – dormanci a quiescenci. Dormanci lze definovat jako stav, ve kterém jsou semena chráněna před klíčením v prostředí, které je normálně pro klíčení příznivé. Dormance je tedy přirozeným fyziologickým stavem neumožňujícím klíčení, zatímco quiescence představuje klid vynucený podmínkami prostředí. Vynucený klid je zcela přirozeným stavem suchých semen, u kterých překážkou klíčení není dormance, ale absence příznivých vnějších podmínky klíčení. Zejména není k dispozici voda potřebná k bobtnání a/nebo teplota nedosahuje ani potřebného minima (Houba & Hosnedl 2002).

Dormance může být u semen dvojího typu – primární a sekundární.

Dormance primární je vyvolána v průběhu vývinu semene, prakticky se projevuje po sklizni semen. Lze ji rozdělit ještě na exogenní a endogenní dormanci. Dormance exogenní je vyvolána tím, že semenu (embryu) nejsou dostupné základní složky klíčení (voda, kyslík). Příčinou exogenní dormance bývají zpravidla semenné obaly. Je známo, že embryo izolované ze semene často klíčí, ale celé semeno je neklíčivé v důsledku zábran vytvářených obklopujícími tkáněmi, především osemením. K faktorům ovlivňujícím tento typ dormance náleží zábrana příjmu vody, vyskytující se u tvrdých semen z čeledi *Fabaceae*, *Malvaceae* a *Liliaceae*. Tvrdosemennost, jakožto neprostupnost pro vodu a plyny, je dána anatomickou stavbou semenných obalů. Její výskyt závisí především na botanickém druhu a odrůdě (vliv genetický), dále na podmínkách prostředí při dozrávání (počasí a půdní podmínky), které ovlivňují rychlost přirozeného vysychání a vysušování semen. Větší výskyt tvrdých semen zpravidla souvisí se stresovými vláhovými podmínkami v období dozrávání mateřské rostliny. Vlastní příčinou nepropustnosti semenných obalů pro vodu a plyny je zvýšený výskyt různých substancí, například suberinu, ligninu a dalších látek v obalových vrstvách semene. Dalším faktorem je zábrana výměny plynů a odvodu inhibičních látek z embrya. Jedná se především o propustnost osemení pro kyslík (vzduch), který je nezbytnou podmínkou klíčení většiny semen. Známý je výskyt dormance u semen některých peckovin a jádrovin s obsahem

amygdalinu, který je štěpen na kyanovodík, jenž při nepropustnosti obalů nemůže unikat, a tak inhibuje klíčení. K tomuto typu dormance můžeme počítat také mechanický odpor obalů, kdy embryo nemá dostatek energie k proniknutí tkáněmi obalových vrstev semene (salát, rajče, celer). Exogenní dormance se dá eliminovat úpravou semen. Například za použití speciálních roztoků peroxidu vodíku či chloridu sodného, které naruší obaly semene. Dále také skarifikací – obrušováním osiva či enzymaticky. V přírodě se exogenní dormance odstraňuje činností mikroorganismů, změnou kyselosti půdy či fyzikálními změnami (rozmrzáání a zamrzání půdy) (Procházka 1998).

Častější formou primární dormance je dormance endogenní. Ta je výsledkem vrozených vlastností semen, odpovídá druhovým a odrůdovým charakteristikám. Vyvolávají ji podmínky prostředí v období vývinu semen a zrání. Souvisí hlavně s tvorbou a přítomností fytohormonů, zejména inhibitorů klíčení (ABA, kumarin, kyselina ferulová a další fenolové kyseliny aj.) nebo látek ovlivňujících osmotický tlak, především u dužnatých plodů (organické kyseliny). U dužnatých plodů (rajče) vlastně jde o prostředí s vysokým obsahem vody, a tudíž je naplňována základní podmínka pro klíčení. U těchto plodů je však klíčení blokováno právě výskytem inhibitorů. Nejvýraznější vliv má u většiny semen obsah fytohormonu ABA (kyselina abscisová). Pro klíčení je důležitý poměr ABA ku ostatním fytohormonům (gibereliny, cytokininy). Na tvorbu a obsah inhibitorů klíčení, a tudíž endogenní dormanci, má vliv délka dne v závěrečném období dozrávání semen. Dlouhý den může u některých druhů indukovat dormanci a zapříčinit tvorbu silnějších a tvrdších obalů. Na endogenní dormanci mají dále vliv vláhové podmínky při dozrávání semen, pozice semene na rostlině, stáří mateřské rostliny či teplota v době zrání. Endogenní dormanci lze eliminovat odstraněním o semení (skarifikací), teplotním ošetřením, či ošetřením pomocí fytohormonů – nejčastěji giberelinů (Houba & Hosnedl 2002).

Sekundární dormance nastává u semen, která prošla procesem dormance a jsou již nedormantní, avšak jsou vystaveny nepříznivým podmínkám pro klíčení. Takovými podmínkami jsou často nedostatek vody, kyslíku, nevhodná teplota, nevhodné světelné podmínky či množství chemických látek. S nástupem příznivých podmínek sekundární dormance odezní a semeno začne klíčit (Bewley & Black 1994).

### 3.3 Hydratační úpravy osiv

Semena pocházející z pole vždy obsahují určitý podíl nečistot. Při zpracování semen na množitelský materiál je třeba mít kvalitní a čisté osivo bez cizích příměsí, jako jsou části plevelných rostlin, hmyz, semena ostatních rostlin a další nežádoucí nečistoty. Nebezpečné jsou hlavně příměsi obsahující vysoký podíl vody, například zelené listy. Především ty mohou způsobit znehodnocení skladovaného osiva, a proto je za potřebí před uskladněním semena řádně vyčistit. Proces, při kterém se odstraňují nežádoucí nečistoty, nazval Copeland (2001) jako třídění a ošetřování osiva.

Úpravy osiv můžeme definovat i jako posklizňové úpravy, jež zlepšují klíčení, růst semenáčků nebo usnadňují vysévání semen při setí. Podle Taylora et al. (1998) lze rozdělit na předseťové hydratační úpravy, obalování osiva a posklizňové úpravy a ošetřování. Hlavním cílem úprav osiva je zlepšit kvalitu vyprodukovaného osiva a připravit ho na některé specifické způsoby pěstování (Copeland 1999).

Hydratační ošetření osiva se zakládá na částečném nebo úplném nabobtnání semen. Cílem hydratování semen je zlepšení semenářských parametrů osiva, hlavně rychlejší a vyrovnanější klíčení a vzcházení v rozšířených podmínkách prostředí, ve kterém mohou semena klíčit (Pazdera 2002).

Bewley & Black (1994) uvádí, že proces hydratace se uskutečňuje ve třech fázích. První fáze je velmi rychlá a vzniká v důsledku rozdílných potenciálů vody a semene. V této fázi semeno nasává vodu – bobtná. Ve druhé fázi se absorpce zpomaluje a dochází k aktivaci metabolických procesů. Ve třetí fázi dochází k růstu zárodku a již je viditelný klíčící kořínek.

#### 3.3.1 Historie

Jak uvádí Nicolas et al. (2003), za prvního výzkumníka semen byl na konferenci v Jeruzalémě v roce 1980 označen ekolog Theophrastus, který žil ve 3. století př. n. l. Ekolog tvrdil, že každé semeno má v sobě určité množství látek důležitých pro vývoj a výživu semene, podobně jako má vejce. Klíčení semen podle něho probíhá nejdříve na slunných místech se stabilní teplotou. Zjistil také nerovnoměrnost vzcházení semen mezi rostlinnými druhy. Semena některých rostlinných druhů vzcházejí lépe, když jsou mladá, u některých druhů



vzcházejí lépe semena starší. Uvedl také, že někteří lidé namáčeli semena okurek do mléka či vody pro stimulaci klíčení.

Již v době před Kristem tedy byly známy některé principy klíčení semen. Nicolas et al. (2003) dále uvádí, že další výzkum zabývající se semeny se objevuje až na konci 17. století. Zakladatelem moderní fyziologie semen se stává až Julius von Sachs (1832–1897), který pozoroval biochemické procesy v semenech. Mnoho dalších se zabývalo fyziologií semen, mimo jiné i Johan Gregor Mendel – zakladatel vědní disciplíny genetiky, na které je dnes postavena práce šlechtitelů nových odrůd.

### 3.3.2 Princip úpravy osiva hydratací

Principem hydratace osiva je nechat semeno přijmout vodu v takovém množství, které je dostatečné pro aktivaci metabolických procesů, ale již nepostačuje k proražení kořínků (Houba & Hosnedl 2002).

Doba, po kterou se semena hydratují, je klíčová. Hruška (1958) uvádí, že u různých rostlinných druhů je vhodná jiná doba máčení osiva. U semen zeleniny se využívá máčení semen nejvíce. Je to kvůli zdlouhavému procesu klíčení např. u petržele, celeru, mrkve nebo cibule. Obecně je u semen zeleniny doporučená doba hydratace 30 až 60 hodin. U Košťálovin a semen tykvovité zeleniny je doba máčení doporučena po dobu 5 až 12 hodin. U hrachu či fazolí je doporučován doba 2 až 4 hodiny. Roli při zkrácení doby klíčení hraje také použití dané metody máčení. Výsledky od Pazdery & Hosnedla (2002) ukazují, že u salátu (*Lactuca sativa* L.) krátká doba prehydratace neposkytuje prakticky žádný efekt na zkrácení doby klíčení. Pozitivní efekt lze ovšem pozorovat při ošetření semen pomocí řízeného příjmu vody (priming) a to nejlépe po dobu 24 a 72 hodin. Avila et al. (2008) prokázali, že hydratace je vhodná předseťová příprava pro semena řepky olejné (*Brassica napus* L.). Z jejich experimentu vyšlo najevo, že je účinná u semen s nízkou vitalitou. Jako nejvhodnější dobu máčení semen rostlin z čeledi *Brassicaceae* uvádějí 60 hodin.

V průběhu hydratační fáze dochází v semenech k aktivaci opravných mechanismů, které umožňují částečnou opravu poškozených metabolických procesů vzniklých stárnutím semen. K fungování opravných mechanismů je však potřeba dostatek času. Některé starší materiály tak mohou obnovit svou schopnost produkovat normální klíčící rostliny. Po ošetření je třeba semena opět vysušit za účelem lepší manipulace a skladování. Způsob a rychlost vysoušení

však může pozitivní efekt hydratace výrazně ovlivnit. K sušení osiva jsou využívány různé metody. Např. volné vysoušení na vzduchu, v sušárně s přirozeným nebo nuceným oběhem vzduchu, či vakuové sušení. Nebezpečné může být příliš rychlé vysoušení v sušárně, které vede k poškození semen (Pazdera 2002).

Je nutné proto udržovat v sušárně přesně stanovenou teplotu, aby došlo ke správnému vysušení semen a zároveň se zachovala jejich plná klíčivost. Naopak sušení při příliš nízkých teplotách může vést k zapařování a plesnivění semen (Houba & Hosnedl 2002).

Při metodách předklíčování v gelech a následném setí fluidním způsobem není nutno osivo vysušovat. Semena jsou vysévána v gelu předklíčena, viditelné může být až úplné klíčení. Nedochozí tedy k poškození klíčících struktur. Gely používané při fluidním setí obsahují např. hydroxyethylcelulosu, křemičitan hořečnatý nebo polyakrylamid. Výsev však vyžaduje speciální stroje (Pazdera 2002).

Jak ve své práci uvádí Žufánek et al. (1997), fluidní technologie setí může pozitivně ovlivnit pěstování zeleniny zvláště v nepříliš klimaticky vhodných lokalitách díky možnosti pozdějšího výsevu a stejné době sklizně. Výsevem běžného kvalitního osiva se při příznivých podmínkách docílí jednotného klíčení, ale při výsevu osiva v podmínkách nepříznivých se začnou projevovat nežádoucí rozdíly ve vzcházivosti semen způsobené různou vitalitou. Při hydratačních úpravách se urychluje klíčení semen a tím se zlepšuje jejich vitalita.

Suchá semena po hydratační úpravě mohou být po krátké období skladována bez ztráty výhod získaných ošetřením. Při delším uskladnění může v porovnání se semeny neošetřenými nastat rychlejší ztráta vitality a životaschopnosti (Copeland 1999).

Metody předseťové hydratace lze rozdělit do dvou kategorií podle toho, je-li řízena rychlost příjmu vody semenem. Rozlišujeme prehydrataci (neřízený příjem vody) a priming (řízený příjem vody) (Pazdera 2002). Chaloupek (2008) dále rozlišuje priming na osmotický priming a matriční priming. Jako mechanismus účinku popisuje proces změknutí pletiv s následnou zvýšenou aktivitou metabolismu. Rakshit et al. (2018) dodávají, že priming umožňuje nastartování metabolických procesů v semenu, ale neumožní semenu přejít do fáze III – plné klíčení.

Podle McDonalda (1995) priming zahrnuje další čtyři techniky, které se obchodně využívají. Patří sem hydropriming, osmopriming, matripriming a pregerminace.

### 3.3.3 Neřízený příjem vody

Při neřízeném příjmu vody je semenu volně dostupná voda a její příjem je regulován pouze vodním potenciálem semene. Semena mohou bobtnat volně uložená na vlhčeném savém papíru nebo přímo ve vodě. V minulosti však bylo častěji používáno předkličování v gelech při 20 °C následované okamžitým vypěstováním (Gray 1981). Gel slouží jako ochrana pro semeno a zároveň udržuje semeno vlhké (Taylor & Harman 1990). V některých případech může být do gelu přidáno aktivní uhlí pro potřeby detoxifikace půdy od herbicidů, čímž se vyloučí případná neklíčivost semene z důvodu působení reziduálních látek v půdě (Taylor & Warlrolic 1987). Finch – Savage (1984) dále uvádí, že v gelu mohou být obsaženy další přídatné látky jako např. živiny a pesticidy za účelem lepšího klíčení semene.

Protože příjem vody není nijak limitován, mohou některá semena případně i vyklíčit (za předpokladu, že nejsou dormantní). Proces neřízené hydratace musí být tedy po určité době ukončen, aby bylo zabráněno přechodu nakličovaných semen do III. fáze klíčení (Pazdera 2002), kdy se už začíná objevovat kořínek a hypokotyl (Rakshit 2018).

### 3.3.4 Řízený příjem vody

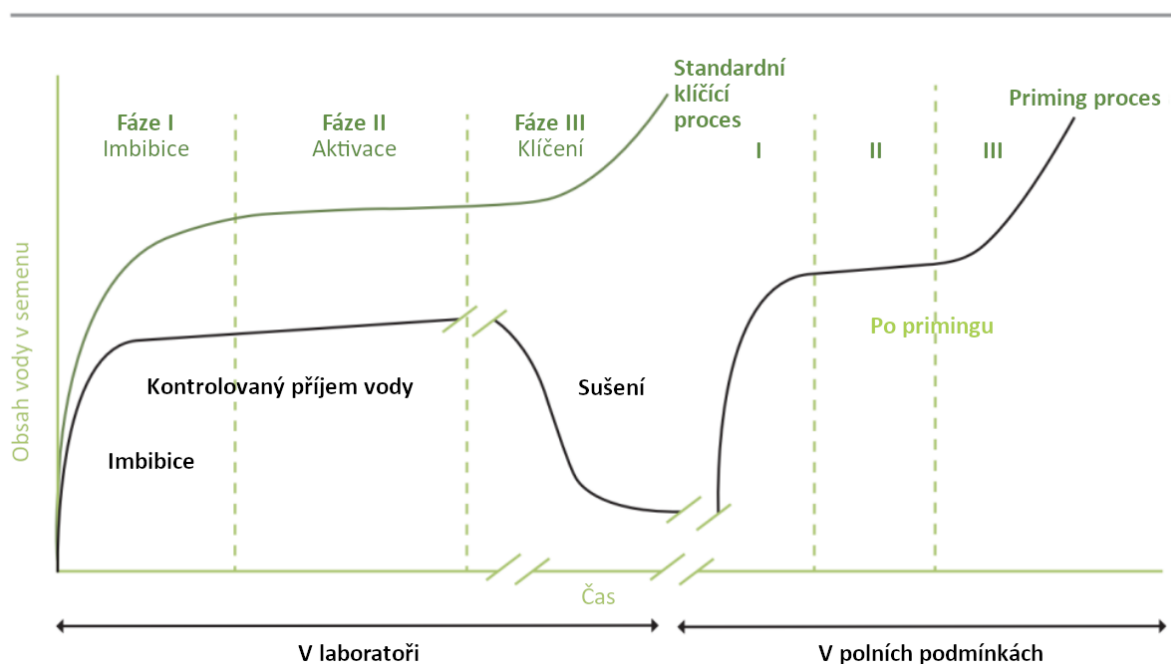
Pod pojmem priming si lze představit jakoukoliv techniku spojenou se zvýšenou hydratací semen, která vede k větší výkonnosti osiva při následném opětovném vysušení (McDonald 1995).

Řízený příjem vody neboli priming, je technika založená na máčení semen ve vodě či roztoku, který má vyšší vodní potenciál než čistá voda a rychlost pronikání vody do semene je proto pomalejší. Množství vody dostupné pro semena je omezené (Pazdera 2002).

Při máčení semen dochází ke spuštění předkličovacích metabolismů, zároveň se ale zabrání plnému klíčení, jak uvádí Rakshit (2018).

Mezi faktory, které ovlivňují priming semen patří podle McDonalda (1995) zejména kyslík a teplota, dále počáteční kvalita osiva, druh osmotika a jeho koncentrace, délka primingu a přidání podpůrných látek a v neposlední řadě také následné sušení.

Na Obrázku 1 níže lze vidět rozdíly při standardním procesu klíčení a klíčení za pomoci primingu semen v laboratorních a polních podmínkách.



Obrázek číslo 1 – Klíčení v závislosti na obsahu vody v semenu za normálních podmínek a při primingu semene (upraveno podle Hasegawy 2016).

Zelená křivka představuje proces standardního klíčení. Ve fázi I klíčení (pronikání vody do semene) nasávají semena vodu za podmínky správné teploty a vlhkosti. Během fáze II (aktivace metabolismu), se rozběhnou biochemické procesy, které spustí klíčení semene (fáze III), kdy se objevuje hypokotyl a kořínek. Při primingu semen proběhne standardně fáze I a II, přičemž se na konci II fáze začnou semena sušit těsně předtím než stačí kořínek proniknout ze semene. Jakmile jsou pak na poli vhodné podmínky (především teplo a světlo), může pokračovat fáze III a klíčení nastane za mnohem kratší čas (Hasegawa 2016).

Jak uvádí ve své práci Harris et al. (2001), účelem primingu semen je zkrátit dobu potřebnou k vyklíčení a ochrana semen před stresem prostředí během kritické fáze klíčení. To vede k synchronizaci klíčení semen, vzcházení rostlin a k vyšším produkčním výnosům.

Jedna z komerčně využívaných technik pro zlepšení klíčivosti se nazývá osmopriming. Umožňuje řízený průnik vody do semene za účelem nastartování prvotního klíčícího procesu, následovaný opětovným vysušením semene na svou původní hmotnost. Mimo zlepšení klíčení semen se priming využívá také pro rychlejší růst rostlin za pomoci hormonů či chemických sloučenin.

### 3.3.4.1 Priming v roztoku

Osmopriming neboli osmokondicionování popisuje bobtnání semen v roztoku osmotika s nízkým vodním potenciálem. Osmotikem mohou být roztoky různých sloučenin, například solí  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ , či  $\text{NaCl}$ , nebo organické sloučeniny jako polyethylenglykol (PEG), glycerol a mannitol. Výhodou solí je, že jejich ionty mohou být rovněž semeny přijaty a mohou tak poskytnout semenům dusík a další prvky. Značnou nevýhodou je jejich možná toxicita pro semena. Pro osmopriming se nejvíce upřednostňuje roztok PEG. Jedná se o vysokomolekulární látku (o 6000–8000 Da) inertního složení, jejíž vysoká molekulární hmotnost brání v průniku látky do semene a tím omezuje toxický vliv. Semena tak přijímají z roztoku PEG pouze vodu. Velkou nevýhodou PEG je, že rozpustnost kyslíku v roztoku je nepřímo úměrná jeho koncentraci. Proto je zásadní podmínkou primingu v PEG zajištění dostatečného příjmu kyslíku semenem na základě provzdušňování roztoku (Michel a Kaufmann 1973).

Dle Heydeckera a Coobeara (1977) je hlavním cílem osmoprimitingu zabránění poškození buněk v důsledku oxidativního stresu.

Kaeworn et al. (2019) dokázali vhodnost ošetření semen pomocí  $\text{KNO}_3$  u papriky (*Capsicum annuum* L.) 'Bang Chang'. Porovnávali vliv různých osmotik na klíčení, skladování semen a uniformitu vzcházení. Pokus byl proveden s náhodně vybranými vzorky semen ve 4 opakováních. Mimo neošetřené kontroly byly vzorky semen ošetřeny pomocí  $\text{KNO}_3$  nebo PEG s různou kombinací dalších úprav. Po ošetření byla semena skladována 6 měsíců za účelem porovnání klíčivosti. Nejlepší klíčivost si zachovala semena máčená v roztoku  $\text{KNO}_3$  a to 83 %, oproti původním 52 % (klíčivost před úpravou semen). Stejně tak měla i lepší střední dobu vzcházení (MTG) 9,34 dní oproti 13,37 dní (neošetřená semena). Ošetřením v roztoku se zlepšila jak klíčivost, tak doba vzcházení a uniformita.

Ošetření semen roztokem  $\text{CaCl}_2$  může v sušších oblastech zlepšit produkci pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) a do určité míry kompenzovat ztráty způsobené suchem. Ačkoliv z experimentů nelze vyčíst jasný pozitivní vliv ošetření na vyšší výnos zrna v suchých podmínkách, lze tvrdit, že při ošetření semen jsou očekávány větší výnosy, bude-li v daném roce dostatek vody. Navíc vede máčení semen pomocí  $\text{CaCl}_2$  ke zvýšení Indexu listové plochy (LAI), což je v suchých podmínkách základ pro tvorbu suché hmoty (Farooq et al. 2017).

Podobně pozitivní účinky má  $\text{CaCl}_2$  i u čočky jedlé (*Lens culinaris* L.). Ošetření semen má za následek zlepšený metabolismus semene spolu s vyšší aktivitou amylázy, vyšší syntézou

chlorofylu, akumulací vápníku a cukru, které chrání rostliny před oxidačním poškozením. Při ošetření semene čočky se zlepšila její výkonnost i při méně vhodných vláhových podmínkách (Farooq et al. 2019). U různých druhů rýže lze použít  $\text{CaCl}_2$  pro zlepšení a zrychlení klíčivosti a vitality jedinců (Farooq 2006).

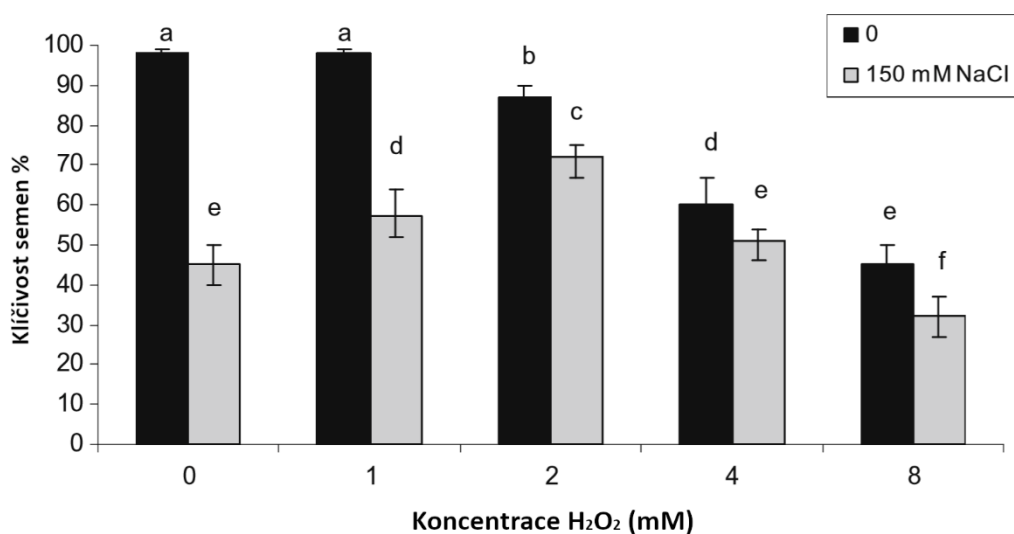
Pomocí osmoprimingu lze docílit také zlepšení klíčivosti semen zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), které mají nižší přirozenou klíčivost. Jako nejlepší se jeví nechat semena v roztoku PEG 6000 při  $-1,0$  MPa, po dobu šesti dnů. Zlepšení se projevuje jak v urychlení klíčení semen, tak v uniformitě vzcházení (Armondes et al. 2016).

Jak ukazují některé nedávné výzkumy, priming má význam i při utužování rostlin proti suchu nebo toleranci k zasolení.

Tabassum et al. (2018), provedli experiment, v němž založili 2 porosty pšenice, z nichž jeden byl ve fázi 49–83 BBCH vystaven stresu (sucho) a druhý byl v době reprodukce zavlažován. Potomstvo z těchto dvou porostů bylo následně máčeno v okysličené vodě a v roztoku  $\text{CaCl}_2$ . Výsev těchto semen proběhl v různých kombinacích a podmínkách (ošetřená semena, neošetřená semena, sucho, dobré vláhové podmínky). Z výsledků je patrné, že v případě nestresových podmínek měly lepší výsledky semena pocházející od rodičů pěstovaných v ideálních vláhových podmínkách. Při pěstování semen v suchých podmínkách měly lepší výsledky semena pocházející od rodičů pěstovaných v suchých podmínkách. Ošetřená semena vzcházela mnohem lépe než neošetřená. Měla také mnohem větší obsah draslíku, který přispívá ke zvládnutí stresu a větší obsah dalších osmoticky aktivních látek. Oproti neošetřeným semenům měla také vyšší výnos. Semena získaná z rostlin, která jsou vystavena stresovým podmínkám mají lepší růst a vyšší odolnost vůči stresu. Ošetření semen pomocí osmoprimingu pomohlo zlepšit mezigeneračně odolnost vůči stresu tím, že měnilo složení látek v semeni a minimalizují oxidaci a degradaci látek potřebných pro správný vývoj semene.

U vojtěšky (*Medicago sativa* L.) osmopriming zlepšuje symbiózu s hlízkovitými bakteriemi při vodním stresu. Při experimentu byly porovnávány různé odrůdy. Povrch semen byl prvně dezinfikován, opláchnut a následně máčen v 20% roztoku PEG po 24 hodin v  $25$  °C. Po ošetření byla semena opláchnuta v deionizované vodě a sušena po 48 hodin na stejnou vlhkost jako neošetřená semena. Semena byla inokulována symbiotickými bakteriemi a náhodně rozdělena do dvou skupin, z nichž jedna byla vystavena suchu. Skupina, jež byla vystavena stresu a ošetřena roztokem PEG vykazovala značně lepší růst a tvorbu hlízek.

Zlepšila se účinnost fotosystému II, zavírání průduchů a množství vody v rostlinách (RWC). Stejně tak byla lepší fixace dusíku, příjem fosforu a draslíku. Osmopríming u tolice zlepšuje symbiózu s hlízkovými bakteriemi díky lepší toleranci vůči vodnímu stresu (Mouradi et al. 2016). Pozitivní vliv má osmopríming u vojtěšky i na toleranci k zasolení. Amooaghaie & Tabatabaie (2017) porovnávali vliv různých koncentrací  $H_2O_2$  na schopnost semen vzházet v zasoleném prostředí. Jak je patrné z Obrázku 2 níže, nejlepší výsledky byly zaznamenány při máčení semen v roztoku o koncentraci 2mM  $H_2O_2$ , díky níž měla semena lepší klíčivost v simulovaném zasoleném prostředí (150 mM roztok NaCl).



Obrázek číslo 2 – Klíčivost semen vojtěšky v zasoleném a nezasoleném prostředí při máčení semen v různých koncentracích  $H_2O_2$  (upraveno podle Amooaghaie & Tabatabaie 2017).

Nižší koncentrace neměly tak dobrý efekt na zlepšení klíčivosti při zasolení, stejně tak jako vyšší koncentrace, při kterých dochází k oxidativním stresům v semeni a prudkému poklesu klíčivosti, a to i v nezasoleném prostředí. Máčení v  $H_2O_2$  je tedy vhodné, pokud očekáváme výsev v zasoleném prostředí.  $H_2O_2$  hraje v tomto případě roli při formování tzv. buněčné stresové paměti.

Toleranci k zasolení lze vyvolat i u semen rajčete, a to máčením semen v roztoku PEG. Z pokusů vyplývá, že osmopríming v roztoku PEG-6000 umožňuje rajčatům lépe růst v zasolených podmínkách (Pradhan 2014). Ke stejným výsledkům došli i Tabassum et al. (2018), kteří zkoumali vliv osmoprímingu na zlepšení tolerance vůči zasolení u ječmene. Dle jejich práce zlepšuje osmopríming vzházení rostlin v zasoleném prostředí.

Wahid et al. (2007) potvrzuje, že ošetření semen pšenice v roztoku  $H_2O_2$  spouští aktivační mechanismy pro výrobu antioxidantů a tím chrání semeno před oxidativním stresem. Spouští také mechanismy, které způsobují expresi stresových proteinů a celkové zlepšení fyziologických vlastností. Tyto změny v buňkách semen pak umožňují rostlině růst v zasoleném prostředí. Stejný pozitivní efekt na klíčení a růst v zasoleném prostředí uvádí i Gondim et al. (2010). Jejich výsledky ukazují, že semena kukuřice ošetřená v roztoku  $H_2O_2$  dokázala lépe růst v zasoleném prostředí.

Chen et al. (2009) poukázal, že ošetření semen pšenice roztokem  $H_2O_2$  vytváří toleranci k oxidativnímu stresu i v listech semenáčů. Pandolfi et al. (2012) dále tvrdí, že vystavení mírným dávkám stresu aktivuje v rostlinách mnoho obranných mechanismů vedoucích k lepšímu zvládnání stresu.

Z experimentů popsaných výše je patrné, že zvolením vhodného osmotika lze připravit rostliny na stres v podobě sucha či zasolení. Lze také zlepšit klíčivost a uniformitu vzcházení.

#### 3.3.4.2 Kontrolovaná hydratace

Jako první popsal koncept metody řízené hydratace Rowse (1996). Provedl experiment pomocí úplně nové metody hydratace semen – řízená hydratace v bubnu, kam je postupně přidáváno množství vody tak, aby semena nikdy nebyla viditelně mokrá. Semena byla v tomto experimentu ponechána v bubnu po 14 dní a pak buď okamžitě vyseta nebo vysušena na původní vlhkost. Takto ošetřená semena póru klíčila lépe než semena, která byla umístěna na papír nasycený roztokem polyethylenglykol s osmotickým potenciálem  $-1,5$  MPa. Kontrolovaná hydratace prováděná v bubnu umožňuje ošetření velkého množství semen bez použití chemikálií a bez odpadu z nich. Jedná se o velmi levnou a efektivní metodu (Rowse 1996).

Rakshit et al. (2018) uvádí, že jejím cílem je hydratace semen s předem určeným objemem vody. To potvrzuje i Pazdera (2002), který dodává, že požadované vlhkosti semen lze docílit dvěma způsoby. Prvním způsobem je zjištění přesného množství vody potřebného k hydrataci osiva a přidání vody k semenům v míchacím bubnu najednou. Osivo je následně ponecháno vlhké v uzavřeném kontejneru (obvykle 14 dnů). Následně je přidaná voda zpětně odsušena na úroveň vlhkosti, jakou mělo osivo před hydratací. Jiným způsobem je postupné cyklické přidávání vody až do dosažení požadované vlhkosti tak, aby nikdy v systému



nezůstávala volná neabsorbovaná voda. Po přidání vody je osivo stejně jako v prvním případě ponecháno po určitou dobu vlhké, a pak je zpětně vysušeno.

Hmotnost vody potřebné k hydrataci lze vypočítat podle vztahu:

$$W_{tw} = \frac{W_{ti} (MC_f - MC_i)}{(100 - MC_f)}$$

Kde  $W_{tw}$  je hmotnost vody, kterou je nutno přidat k počátečnímu množství suchých semen ( $W_{ti}$ ).

$MC_i$  je počáteční vlhkost semen a  $MC_f$  je konečná vlhkost semen po hydrataci.

Přínos a efektivita hydratačních úprav je mimo dosažení rychlejšího a vyrovnanějšího klíčení a vzházení také ve zmírnění poškození z bobtnání při výsevu semen do chladné půdy. Projevuje se též v nižší sekundární dormanci semen.

Metoda řízené hydratace umožňuje ošetřit velké množství semen najednou. U osiva ošetřeného metodou řízené hydratace dochází ke zvýšení počátečního výkonu klíčení. Zároveň nejsou produkovány odpady jako při využití jiných technik, jako je osmopriming nebo matripriming. V pokusu byla provedena řízená hydratace u semen kukuřice (*Zea Mays* L.) a zkoumal se vliv délky hydratace na klíčení. Hydratace byla prováděna v bubnu, kam se přiváděla postupně voda. Výsledky indikují lepší hydrataci a efekt na klíčení než při nekontrolované hydrataci (Warren & Bennett 1997).

Hydropriming má pozitivní efekt na aktivaci metabolismu v rostlinných buňkách během klíčení. Při experimentu byly dvě různé skupiny semen bavlíku (*Gossypium hirsutum* L.) podrobeny zkouškám klíčivosti. První skupina byla ošetřena pomocí hydroprimingu, druhá skupina posloužila jako kontrola. Po sedmi dnech klíčení byl patrný pozitivní vliv ošetření semen. V průběhu klíčení byla měřena aktivita antioxidantních enzymů,  $H_2O_2$ , hydrolýzy tuků a dalších sloučenin. Mimo očekávané zlepšení klíčivosti je pozitivní efekt ošetření patrný zvýšenou aktivitou lipázy a dalších enzymů, jenž se podílejí na metabolismu tuků. Množství antioxidantních enzymů se značně navýšilo, což mělo za následek redukci  $H_2O_2$  v semeni. Celkově lze tvrdit, že ošetření pomohlo zabránit oxidaci tuků a tím umožnilo rychlejší vývoj semen bavlíku (Naguib 2019).

V práci Alzandiho & Naguiba (2020) je uváděn synergický efekt osmoprimingu pomocí PEG a hydroprimingu při následném pěstování rostlin pískavice řecké seno (*Trigonella foenum-graecum* L.) v suchých podmínkách. Roztok PEG vyvolá v rostlinách stres a následný hydropriming pak pomáhá rostlině stres lépe zvládnout. Rostliny mají zpomalený růst, což je vysvětlováno negativním vlivem osmotika na růst a dělení buněk. Tento pokles v dělení buněk lze připisovat zvýšenému množství reaktivních forem kyslíku, což vede k degradaci mnoha k životu potřebných biomolekul jako jsou proteiny, DNA a lipidy v buněčné membráně. Aktivace antioxidantních enzymů, jako jsou superoxid dismutáza, kataláza a peroxidáza, je tak nejdůležitějším obranným mechanismem rostlin při růstu ve stresových podmínkách.

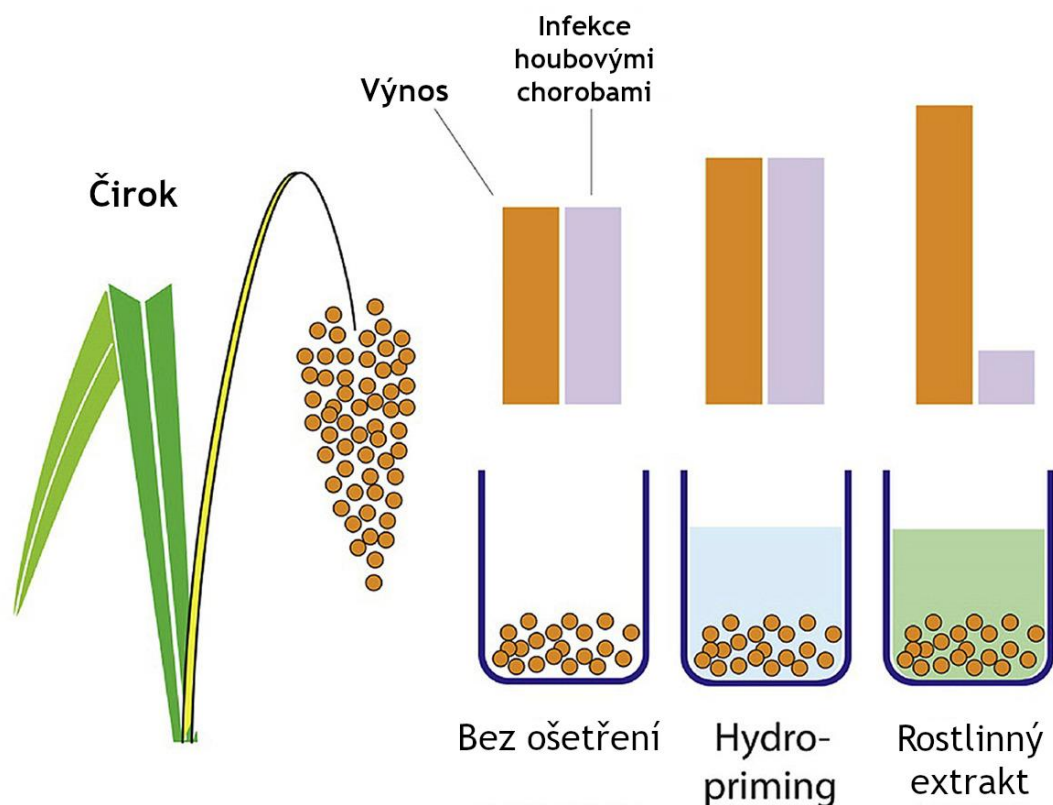
Další synergický efekt lze pozorovat při ošetření hydroprimingem a bioprimingem. Uvádí to Forti et al. (2020), kteří zkoumali vzcházení rostlin *Medicago truncatula* Gaertn. ve znečištěném prostředí. V pokusech nechali klíčit rostliny v půdě, která je kontaminována odpadem z nedaleké elektrárny. Pomocí kontrolovaného příjmu vody se zlepšila klíčivost semen a celkově se v rostlinách zvýšila aktivita genů, které hrají roli při opravě DNA a při tvorbě antioxidantních látek.

Různé druhy rostlin vyžadují jinak dlouhou dobu máčení. Např. u ibiškovce jedlého bylo zjištěno, že optimální čas, po který by semena měla být máčena je 6 hodin. Teplota by měla být 23 °C, rychlost otáček bubnu 330 otáček za minutu a průtok vzduchu 2,5 m<sup>3</sup> za minutu (Mahawar et al. 2018).

U hrachu (*Pisum sativum* L.) byly zjištěny optimální parametry: délka máčení 55 minut, teplota 20 °C, 320 otáček bubnu za minutu a průtok vzduchu 0,5 m<sup>3</sup> za minutu (Mahawar et al. 2016).

Hydropriming má spíše podpůrnou funkci a vykazuje synergický efekt s některými dalšími předseťovými úpravami semen.

U čiroku byl zjištěn podpůrný efekt hydroprimingu na lepší výnos semene. V 58 polních pokusech byly vysety 3 varianty semen. Bez ošetření, máčená pomocí kontrolované hydratace po dobu 6 hodin a hydropriming s přidavkem extraktu z rostliny *Eclipta alba* L.. U druhé zmíněné varianty bylo navzdory silnému vlivu lokality a ročníku dosaženo průměrně o 19,6 % většího výnosu než u neošetřených semen. V případě varianty ošetřené rostlinným extraktem bylo navýšení ještě o 32,1 % větší, celkově tedy o 51,7 % vyšší výnos než u neošetřené kontroly. U varianty ošetřené extraktem byla mnohem menší míra napadení houbovými chorobami, které mohou také mít vliv na snížení výnosu (Obrázek 3).



Obrázek číslo 3 – Vliv hydratačních ošetření semen na výnos a zdravotní stav semen (upraveno podle Zida et al. 2018).

Šestihodinová kontrolovaná hydratace pomohla zlepšit klíčivost a přispěla k vyššímu výnosu semene. Navíc došlo k redukcí infekce houbových chorob a dalšímu nárůstu výnosu v případě ošetření rostlinným extraktem (Zida et al. 2018).

U fazolu může hydropriming zvýšit toleranci k zasolení ve fázi klíčení a prodloužit dobu skladování semen. Redukuje také oxidaci buněčných membrán a zlepšuje rychlost a uniformitu vzcházení (Ghanbari et al. 2018). Stejně pozitivní účinky reportoval i Matias et al. (2018). Zkoumali vliv hydroprimingu na vzcházení semen slunečnice v zasoleném prostředí. Zjistili, že semena máčená ve vodě po dobu 20 hodin a následně sušena po dobu 72 hodin při 30 °C, vzcházeli lépe, rychleji a jednodušeji v zasoleném prostředí než semena neošetřená.

Ve studii Jishi & Puthura (2018) byl zkoumán vliv kontrolované hydratace na toleranci k osmotickému stresu u fazolí mungo (*Vigna radiata* L.). Po dobu 6 hodin byla máčena semena třech odrůd s různou tolerancí k zasolení. Výsledky naznačují, že máčená semena jsou odolnější vůči osmotickému stresu. Ošetřená semena vykazovala vysoký podíl chlorofylu, zvýšenou aktivitu fotosystémů I a II a větší mitochondriální aktivitu. Z fyziologických ukazatelů byly patrné delší klíčky a vyšší hmotnost semen. U všech odrůd byla pozorována větší

tolerance k osmotickému stresu způsobeným máčením v roztoku PEG. Ošetřování semen pomocí kontrolovaného příjmu vody je velmi jednoduchý a levný způsob, jak zlepšit klíčení rostlin a toleranci k suchu či zasolení.

#### 3.3.4.3 Priming v pevné fázi

Jinou metodou řízené hydratace osiva je použití pevného nosiče s nízkým matričním potenciálem místo roztoku. Metoda je známá jako priming v pevné fázi (solid matrix priming – SMP) nebo také matrikondicionování. Jako nosič se používají přírodní látky, například vermikulit, rašeliník nebo písek. Existují i komerčně vyráběné nosiče, například Celite, Micro-Cel (syntetický křemičitan vápenatý) nebo Zonolite (vermikulit), jílovitý nerost ze skupiny slíd. Při tomto způsobu primingu jsou semena smíchána se zvlhčeným nosičem, jehož potenciál je od -0,4 do -0,5 MPa. Při určité teplotě se semena s nosičem, ze kterého přijímají vodu, nechají ležet několik dnů. Uvádí, že tato směs umožní semenům bobtnat, ale pouze do určité fáze a nedojde tak ke klíčení. Po skončení je pevný nosič odstraněn proséváním na sítích. Použití vermikulitu nebo jemně mleté břidlice umožňuje dodat semenům více vzduchu než při použití osmotika, protože nosič není nikdy plně nasycen a semeno se tak stále nachází v aerobním prostředí (Pazdera 2002).

Rakshit et al. (2018) uvádí, že toto je hlavní výhoda oproti jiným hydratačním úpravám – lepší provzdušnění semen.

Nosiče pro priming v pevné fázi by měly splňovat následující kritéria:

- nerozpustnost ve vodě nebo neměřitelný osmotický potenciál
- nízká elektrická vodivost
- vysoká sorpční vodní kapacita (450 % – 600 %)
- rozpětí pH od 7,0 do 8,4
- velký povrch
- schopnost efektivně řídit hydrataci semen

Na základě výzkumu byl stanoven pro obecné využití optimální poměr osiva, pevného nosiče a množství vody v rozmezí 1:0,3–0,5:1–2 (hmotnostně) (Pazdera 2002).

Solid-matrix priming představuje efektivní předseťovou úpravu, jenž umožňuje lepší klíčivost hlavně u zeleniny s malými semeny. V experimentu bylo dokázáno, že tyto úpravy semen mají srovnatelný efekt jako ostatní hydratační úpravy, v mnoha případech je efekt SMP lepší než ostatní hydratační úpravy pomocí PEG nebo dalších solí. V tomto experimentu byl poměr nosiče a semen 1:1,5-2 (Taylor et al. 1988).

Ve studii Özdena et al. (2018) byl zkoumán vliv SMP s různým složením vzduchu na semena póru zahradního (*Allium ampeloprasum* L.). Skupiny semen byly 4, z nichž každá byla smíchána s jiným plynem (kyslík, dusík, vzduch a vakuum). Nosičem byl vermikulit. Poměr smíchání semen:nosiči:vodě byl 2,5:1,25:3,75. Ošetřování semen proběhlo při 20 °C po 24 hodin ve tmě. Výsledky indikují, že semena, která podstoupila SMP v prostředí s kyslíkem, měla nejvyšší klíčivost, nejnižší dobu klíčení a nejvyšší aktivitu katalázy oproti ostatním ošetřením. V prostředí se vzduchem byly výsledky také pozitivní, v prostředí s dusíkem či vakuem však nikoliv. Efekt solid matrix primingu se nejvíce projevil u semen méně kvalitních. Obohacení kyslíkem při této metodě může zvýšit kvalitu semen póru.

Matrikondicionování je doporučováno pro ošetřování semen brokolice a květáku. V testech Wua et al. (2019) byl pozorován pozitivní efekt na klíčivost a rychlost klíčení. Semena brokolice byla smíchána s vermikulitem a vodou v poměru 1:1,5:2. Následovala dvoudenní inkubace při 15 °C ve tmě. Semena květáku byla smíchána s vermikulitem a vodou v poměru 1:1,5:1 a následně inkubována po 2 dny v 20 °C v tmavém prostředí. Semena ošetřena pomocí SMP vykazovala vyšší aktivitu peroxidázy, katalázy, prolinu, rozpustných cukrů a bílkovin, a to i při pěstování v zasoleném prostředí. Zlepšené vlastnosti související s klíčením byly pozorovány i při vystavení semen umělému stresu v podobě zasolení.

Jako nosič můžou posloužit místo výše často jmenovaných i piliny, rozdrčené dřevěné uhlí, rozdrčená sláma z čiroku či rýže. Při zkoumání efektu SMP na semena sóji, která je náchylná k přesycení semen vodou, byly použity jako nosič právě 3 výše uvedené materiály. Různě stará semena byla smíchána s nosičem v poměru 1:1. Voda byla přidána pouze v množství jednotek procent váhy směsi semen a nosiče (1, 2,5 a 5 %). Semena byla klíčena v pokojové teplotě po 1, 2 a 5 dní. Použitá technika přispěla k lepší klíčivosti, zejména u starších semen. U mladších semen nebyl efekt ošetření až tak velký a autoři tudíž tuto techniku u mladých semen nedoporučují. Efektivnost ošetření semen byla ovlivněna použitým nosičem, množstvím vody a délkou ošetření. Nejeftektivnější byla inkubace po 1 až 2 dny pomocí pilin a

slámy z rýže. Jako nosič se prokázalo nevhodné dřevěné uhlí, a to při vyšších vlhkostech (Mercado & Fernandez 2002).

Olszewski et al. (2012) porovnávali účinky ošetřování semen mrkve (*Daucus carota* L.) pomocí roztoku PEG s ošetřováním pomocí metody SMP. Jako vzorky posloužila semena dvou odrůd. 'Danvers Half Long' a 'Nantes Scarlet'. Semena byla ošetřována po dobu 7 dní při 15 °C. Nosičem byla směs prosetého kompostu, hydrogelu a destilované vody v poměru 5:1:5,7. Tato směs pak byla smíchávána se semeny v různých poměrech. Všechna semena smíchaná se směsí vykazovala lepší klíčivost oproti kontrole. Výsledky také prokázaly, že ošetřená semena mohou být skladována déle než neošetřená. Z této práce lze vyvodit, že použitím kompostu a hydrogelu jako nosiče lze dosáhnout stejného efektu zlepšení klíčivosti jako při použití roztoku PEG. Navíc bez nutného zbavování se chemikálií. Přesetý kompost smíchaný s hydrogelem je levný způsob, jak zlepšit klíčivost semen.

#### 3.3.4.4 Nanopriming

V nejnovějších studiích se zkouší priming pomocí nanočástic. Priming pomocí nanočástic neboli nanopriming má efekt při hromadění minerálů v rostlinách a následně může eliminovat nemoci vznikající z nedostatku stopových prvků. Mnoho lidí v rozvojových zemích trpí nedostatkem železa. Chybějící zdroj železa v každodenní stravě vedl vědce k vytvoření strategie, která by zajistila obsah železa v každodenní stravě. Pomocí nanoprimingu lze těchto cílů dosáhnout. Byl proveden experiment, kdy se semena pšenice ošetřily oxidem železa a následně byla zkoumána akumulace železa v rostlinném těle. Zkoumány byly dva genotypy pšenice – první genotyp obsahoval nízké množství železa, druhý byl s vysokým obsahem železa. Semena byla ošetřena koncentracemi od 25 do 600 ppm roztoku vody, což vyústilo v různou akumulaci železa v semenech po sklizení. U obou genotypů byl zaznamenán vyšší obsah železa ve výsledném produktu při ošetření koncentrací 25 ppm. U genotypu s nízkým obsahem železa byl zaznamenán o 26,8 % vyšší obsah železa oproti kontrole a u genotypu s vysokým obsahem železa byl oproti kontrole obsah železa o 45,7 % vyšší. Proces primingu semen pomocí roztoku s oxidy železa indukuje větší akumulaci železa v rostlině a tím pádem větší obsah ve výsledném sklizeném produktu (Sundaria et al. 2019).

Byl zkoumán vliv dvou různých nosičů na toleranci k zasolení u fazolí mungo. Nosičem byl v obou případech polysacharid chitosan, v druhém však byl použit ve formě nano částic. Studie naznačuje, že použití nano částic chitosanu mělo za důsledek významnou redukci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

a MDA (Malondialdehyd), což vedlo k lepšímu růstu, zvýšenému obsahu chlorofylu a zlepšenému metabolismu. Studie ukazuje, že použití chitosanu (normální i nano velikost) je možné pro zlepšení tolerance k zasolenému prostředí u mungo fazolí (Sen et al. 2020).

Stejného výsledku dosáhli ve svých experimentech i Mosavikia et al. (2020). Pomocí nanočástic chitosanu a pyridoxinu provedli priming semen ostropestřce mariánského (*Sylibum marianum* L.) a zkoumali vliv ošetření na vzcházení v zasoleném prostředí – roztoku NaCl při koncentracích 0, 50, 100 a 150 mM. Z výsledků je patrné, že díky ošetření se zvýšilo množství syntetizovaného chlorofylu, prolinu a došlo k vyšší aktivitě antioxidantních enzymů. Rostlinky tak při vzcházení projevily větší vitalitu. Jako nejvhodnější koncentrace pro ošetření autoři uvádějí 0,25 % chitosanu a 0,09 % pyridoxinu. Dále doporučují ošetřování semen ostropestřce při pěstování v zasolených oblastech.

Priming pomocí nanočástic křemíku snižuje koncentraci kadmia v rostlinném těle. Semena pšenice byla ošetřena roztokem obsahujícím křemík v koncentracích 300, 600, 900 a 1200 mg/l po 24 hodin za kontinuálního přístupu vzduchu. Výsledky experimentu potvrzují původní hypotézu autorů. Tento typ primingu zároveň také zlepšuje růst rostlin a obsah chlorofylu. Uplatnění této metody lze nalézt v regionech, ve kterých je zamořena půda těžkými kovy (Hussain et al. 2019).

Younis et al. (2019) provedli výzkum, ve kterém máčeli 7 let stará semena bobu (*Vicia faba* L.) v roztoku s nanočásticemi stříbra. Nanočástice byly laboratorně syntetizovány a následně smíchány s roztokem destilované vody. Výsledky ukazují jasně pozitivní vliv nanočástic stříbra na celkovou vitalitu semene při nízké genotoxicitě. Čím vyšší byla koncentrace nanočástic v roztoku, tím rychleji semeno klíčilo. Máčení v roztoku nanočástic stříbra má pravděpodobně pozitivní vliv na životní cyklus buňky, který stabilizuje. Autoři doporučují máčet semena bobu v roztoku nanočástic stříbra pro zlepšení vitality semen a pro rychlejší klíčení.

Guha et al. (2018) uvádí, že priming semen rýže pomocí nanočástic železa bez valenčního elektronu může v malých dávkách zlepšovat klíčení a urychlit růst semenáčů. V ošetřených semenech byla zaznamenána větší aktivita amylázy a proteázy, rostliny byly vyšší, stejně tak jako obsah chlorofylu a karotenoidů. Zaznamenána byla také vyšší aktivita NADPH dehydrogenázy, což mělo za následek zlepšení metabolismu, větší příjem vody a živin. Nanočástice železa bez valenčního elektronu mají potenciál i jako médium pro přenos živin či pesticidů do rostlin rýže.

### 3.3.4.5 Biopriming

Biopriming zahrnuje máčení semene spolu s inokulací semen pomocí bakterií (Callan et al. 1990). Stejně jako ostatní hydratační metody osiva toto ošetření zlepšuje rychlost a uniformitu vzcházení. Navíc však může chránit semeno před půdními patogeny a patogeny přenášejícími se osivem. Hydropriming nezdravého osiva může vést k větší mikrobiální aktivitě, a tudíž může mít negativní vliv na celkové zdraví rostliny. Nicméně aplikováním antagonistického mikroorganismu při primingu se tento problém eliminuje. Jde o ekologický a šetrný proces, jak ozdravit osivo společně se zlepšením klíčících vlastností (Reddy 2013).

Některé bakterie mohou navíc osídlit rhizosféru a podpořit rostlinu v růstu, a to jak přímo (poskytování živin), tak nepřímo (konkurence s ostatními patogeny nebezpečnými pro rostlinu) (Callan et al. 1997).

Ošetření fazolu pomocí endofytických organismů zlepšilo klíčení a další vlastnosti spojené s růstem rostlin. Použity byly houby *Trichoderma viride* Pers., *Trichoderma harzianum* Rifai a bakterie *Pseudomonas fluorescense* Flügge. Koncentrace organismů v roztoku byla 40, 50 a 60 % a délka máčení byla 4, 8, 12 a 16 hodin. Semena byla také ošetřena pouze metodou hydroprimingu po stejný čas máčení. Oproti kontrole měla všechna ošetření pozitivní vliv na klíčení, délku klíčenců, délku kořenů, výnos suché hmoty a rychlost klíčení. Hydropriming zlepšil nejvíce rychlost klíčení a klíčivost, avšak pouze o 3 %. Největší vliv na zlepšení parametrů spojených s klíčením měl biopriming pomocí *Trichoderma harzianum* při 40 % koncentraci a čtyřech hodinách máčení. Toto ošetření zlepšilo klíčivost o 13 %, délka klíčenců byla o 21,1 % větší a ostatní parametry se zlepšily o desítky procent oproti kontrole. Biopriming pomocí houby *Trichoderma harzianum* při 40 % koncentraci a čtyřech hodinách máčení byl shledán jako nejlepší způsob pro zlepšení klíčících parametrů semen fazolu (Monalisa et al. 2017).

V práci Timmuska et al. (2014) je vidět pozitivní vliv rhizosférních bakterií na toleranci vůči suchu a stresovým podmínkám. Bakterie druhu *Bacillus thuringiensis* Berliner byly izolovány z borovice těžké (*Pinus ponderosa* Douglas) a inokulována na semena pšenice. Rostliny pšenice byly poté mnohem odolnější vůči suchu. Při extrémním suchu přežilo pětkrát více rostlin. Inokulované rostliny měly při stresu o 78 % více biomasy. Pokusy dokazují, že inokulace bakteriemi, které byly izolovány z drsného prostředí, má pozitivní vliv na růst rostlin při suchu. Ke stejným výsledkům došel i Nawaz et al. (2020), který také uvádí, že biopriming může zmírňovat dopady sucha na vývoj a výnos rostlin kukuřice. V zemích, kde je nízký úhrn



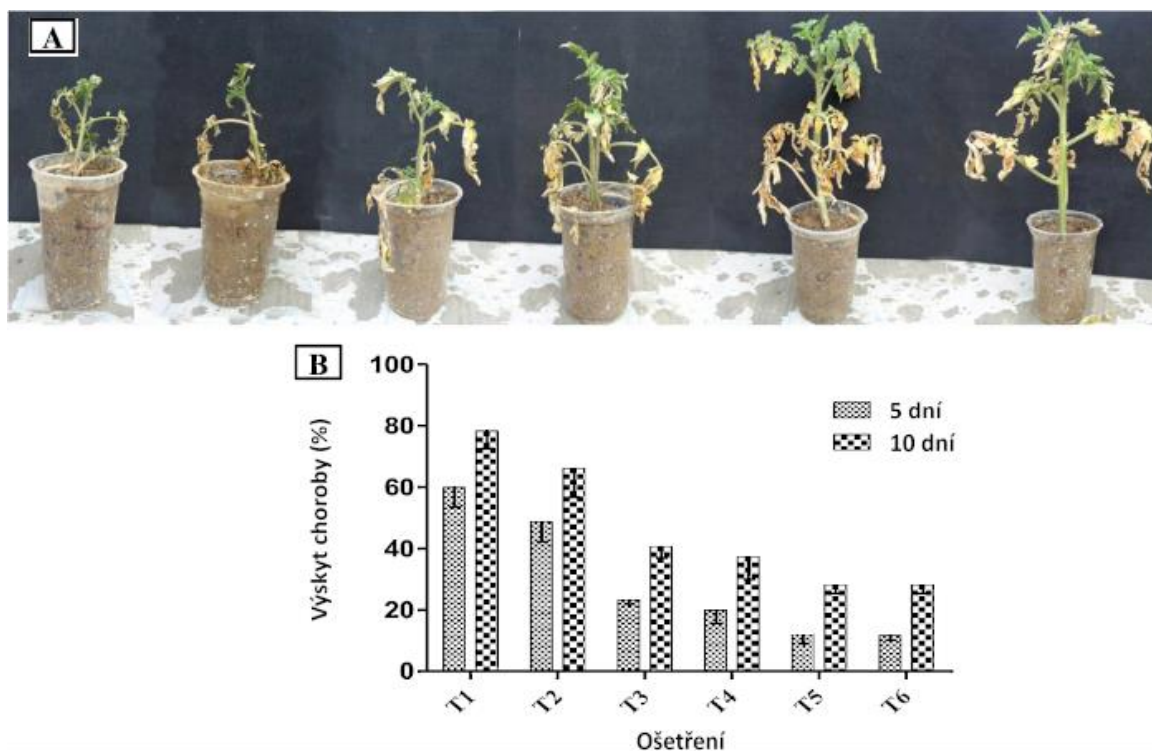
srážek, je žádoucí vyvinout ekonomicky efektivní systém, který by nahradil potřebu tvořit zavlažovací kanály a zavlažování polí. Vytvářet zavlažovací systémy je velmi nákladné. Biopriming, který dle autorů zmírňuje dopady sucha na produkci by mohl být řešením tohoto problému. V průběhu dvou let byl prováděn experiment se semeny kukuřice, který zkoumal vliv bioprimingu a hydroprimingu na toleranci k suchu. Experiment byl prováděn v Pákistánu. Jako osivo posloužila hybridní odrůda kukuřice. Část semen byla vystavena vodnímu stresu a část semen byla zavlažována. Pro hydropriming byla semena ponořena v destilované vodě po dobu 12 hodin. Pro biopriming byla semena ošetřena pomocí hydroprimingu inokulována bakteriemi *Rhizobium phaseoli* a *Pseudomonas spp.* v poměru 1:5. Výsledky ukazují celkové zhoršení agronomických a fyziologických vlastností u rostlin vystavených suchu. Nicméně biopriming semen značně zmírnil důsledky způsobené suchem. Zejména výšku rostlin, počet palic na rostlinu, délku palic, hmotnost palic, výnos semen a výnos zelené hmoty. Z fyziologických parametrů byla zefektivněna fotosyntéza, hospodaření s vodou a příjem živin. Tato levná metoda poskytuje skvělý poměr ceny a výkonu při pěstování kukuřice v suchých oblastech. Inokulace rhizobakteriemi u ředkve zlepšila klíčící parametry v zasoleném prostředí (Kaymak 2009).

Bylo zjištěno, že biopriming je mnohem efektivnější metoda regulace patogenů než ostatní techniky, jako je například peletizace či obalování osiva (Müller 2008). Biopriming u dochanu klasnatého zlepšil celkový růst a odolnost vůči plísni révy vinné (*Plasmopara viticola*) (Raj 2004).

Biopriming pomocí bakterií podporující růst rostlin má velký potenciál a v některých zemích se stává běžnou zemědělskou praxí. Při rostoucí populaci je totiž nutné neustále zvyšovat zemědělskou produkci. Je proto nutné zajistit žádoucí zdravé osivo a porost bez jakýchkoliv nemocí. Použití pesticidů je neudržitelné, zatěžující a někdy až devastující pro ekosystém. Biopriming pomocí bakterií podporujících růst rostlin a zároveň redukujících nemoci je tedy slibným řešením této situace (Glick 2012). Proti plesnivění semen rýže, způsobeným patogenem *Cochliobolus lunatus* lze mimo fungicidních přípravků použít i izolované endofyty. Bylo zkoumáno několik druhů bakteriálních endofytů, z nichž pět druhů vykazovalo excelentní antifungální aktivitu proti houbovým patogenům. Na základě testů klíčivosti byla stanovena ideální doba máčení v roztoku s bakteriemi na 9 nebo 12 hodin. Při této délce ošetření byla zaznamenána nejnižší incidence plísně a klíčenci byli vitálnější oproti kontrole, kde byla semena zdravá, nebo napadená plísní a ošetřena fungicidem. Biopriming

nezdravých semen rýže bakteriemi, které jsou tolerantní proti herbicidům může obnovit klíčivost ozdravením osiva. Tento postup lze používat k ozdravení osiva, které je napadeno plísní a zároveň lze ušetřit na přípravcích pro ochranu rostlin. Tímto postupem lze také přispět k rozvoji udržitelného zemědělství (Rangjaroen et al. 2019).

U rajčat redukuje ošetření pomocí bioprimingu výskyt fusariového vadnutí. Společně s aplikací kyseliny askorbové na semena se zvýšila klíčivost a výskyt fusariového vadnutí na rostlinách se snížil u některých variant až o 28 % po deseti dnech. Ošetřené rostliny byly mnohem vitálnější (Obrázek 4).



Obrázek 4 – Výskyt fusariového vadnutí na rostlinách rajčete při použití různých kombinací bioprimingu a ošetření kys. askorbovou po pěti a deseti dnech (upraveno podle Singh et al. 2020).

Variety ošetření byly následující: T1= kontrola, T2= ošetřeno kys. askorbovou, T3= ošetřeno pomocí *T. asperellum*, T4= ošetřeno pomocí *Ochrobactrum sp.*, T5= kys. askorbová v kombinaci s *T. asperellum*, T6= kys. askorbová v kombinaci s *Ochrobactrum sp.*

V rostlinách byly také aktivovány obranné mechanismy, které pomáhají redukovat výskyt patogenů (Singh et al. 2020).

### 3.4 Metody využívající vodu pro dezinfekci osiva

#### 3.4.1 Moření horkou vodou

Moření horkou vodou neboli Hot Water Treatment (HTW) lze řadit mezi hydratační úpravy osiv, sloužící k regulaci patogenů houbového, bakteriálního či virového původu na povrchu i uvnitř semene. Využívá se jako alternativa k chemickému moření osiva. Při ošetření semen dochází ke zničení patogenů a zároveň ke zlepšení vitality a klíčivosti semen. Metoda je účinná, šetrná a levnější než chemické moření osiva. Důležité je dbát na přesné pokyny, jinak hrozí poškození semen nebo nedostatečné odstranění patogenu. Často se této metody využívá u osiv zeleniny a obecně u drobnosemenných plodin. Doporučuje se pro semena rajčete, špenátu, lilku, papriky, mrkve a dalších. Naopak se tato metoda nedoporučuje u semen tykvovitých, protože by mohlo dojít k poškození semen. Tato metoda by se také měla používat na osivo v původním stavu, tudíž nijak neupravené jinými metodami pro zlepšení vlastností osiv. Zapotřebí je také speciální vybavení. Osivo je ponořeno v síťových bavlněných či nylonových obalech do horké vody. Vyžadována je také přesná regulace a kontrola teploty. Po expozici jsou semena vyjmuta, osušena a umístěna na filtrační papír, kde doschnou na původní vlhkost. Takto upravená semena mají krátkou expirační dobu. Nedoporučuje se tedy uskladnění a je vyžadováno spíše bezodkladné použití semen (Miller 2003).

Čas a teplota expozice se různí podle druhu. Agusti-Brisah et al. (2012) považují za dostatečnou dobu pro eliminaci *Fusarium circinatum* na druhu *Pinus radiata* D. 30 minut ve vodní lázni při teplotě 51-52 °C. U máku nemají teploty nižší než 46° a 48 °C negativní vliv na klíčivost, ale teploty vyšší než 50 °C a 52 °C měly při delší expozici negativní dopad na klíčivost osiva (Pazdera 2007). U Eukalyptu moření horkou vodou potlačilo výskyt antraknózy a zlepšilo klíčivost. Nejlepší výsledky byly pozorované při teplotě 55 °C po dobu 15 minut (Mangwende et al. 2020). Semena špenátu lze také máčet pro redukci patogenů. Testovány byly různé teploty a časy máčení. Nejlepších výsledků se však dosáhlo při 55 °C po dobu 10 minut. Stejně tak jako při máčení jiných semen je nutné dbát a přísně dodržovat předepsané postupy máčení, jinak hrozí nevratné poškození semen (du Toit & Hernandez-Perez 2005). V extrémních případech se doporučuje semena převařit, aby se ztratila dormance. U druhu *Cercis canadensis* L., který se vyznačuje semeny s tvrdými obaly, byly zkoumány efekty vysoké

teploty na překonání fyzické dormance. Semena se často musí obrousovat či máčet v kyselině, aby se narušil povrch obalů. Ošetření horkou vodou po 60 sekund při 100 °C se zdá jako vhodné pro tento rostlinný druh. Semena takto ošetřená jsou schopna překonat svou fyzickou dormanci a vyklíčit dříve (Mylor et al. 2014).

Tabulka číslo 1 – Teplota a délka expozice při moření horkou vodou u vybraných druhů rostlin (upraveno podle Pazdery 2002).

| Plodina                 | Teplota vody (°C) | Expozice (minuty) |
|-------------------------|-------------------|-------------------|
| Kapusta hlávková        | 52                | 30                |
| Brokolice               | 50                | 20                |
| Kapusta růžičková       | 50                | 20                |
| Květák (některé odrůdy) | 52                | 25                |
| Rajče                   | 56                | 30                |
| Celer                   | 50                | 30                |
| Mrkev                   | 50                | 20                |
| Hořčice                 | 47                | 30                |

### 3.4.2 Moření horkou párou

Moření horkou párou je další metoda sloužící k regulaci patogenů v osivu. Principem je ošetření osiva vzduchem nasyceným vodou. Podmínky musí být přísně kontrolovány, aby nedošlo k poškození semen.

Ze známých experimentů stojí za zmínku pokus Amein et al. (2011), kteří zkoumali efekty moření horkou vodou, horkou párou a extraktem oleje z tymiánu na redukci patogenu *Alternaria brassicicola* na semenech zelí. Byla porovnávána účinnost těchto šetrných metod s komerčními metodami pro ošetření osiva proti patogenům, které často zahrnují použití pesticidů. Všechny tři metody vykazaly význam při sanitaci osiva, avšak moření horkou párou se zdá být nejefektivnější a nejspolehlivější a takto ošetřená semena produkovala nejzdravější jedince s největším výnosem hlávek.

Moření pomocí horké páry může také zlepšit metabolické aktivity v semeni. Pomocí horké páry byla ošetřena semena pšenice určená pro pečivářské účely. Ošetření mělo za následek zvýšený příjem vody, což vyústilo v rychlejší klíčení a růst semenáčů. Před

dokončením klíčení byly měřeny hodnoty metabolitů. Byla zaznamenána větší akumulace aminokyselin (zejména cysteinu a serinu), cukrů (ribózy a glukózy) a organických kyselin. Zároveň byla zaznamenána nižší hodnota alkoholů a trehalózy (sacharid vyskytující se v tělech patogenních organismů). Celkově byl zaznamenán vyšší obsah enzymů zpracovávajících volné formy kyslíku. Moření párou zlepšilo metabolismus semene a zlepšilo tak nutriční vlastnosti (Gerna et al. 2018).

Komerčně je známa metoda ThermoSeed, jež vyvinula švédská firma v devadesátých letech. Velice efektivně redukuje patogeny na povrchu semen a je šetrná k životnímu prostředí. Využívá se zejména u rostliny s velkými semeny. Kapacita zařízení provádějící sanitaci osiva je 15 tun za hodinu. Z polních pokusů vyplývá, že výskyt patogenů po ošetření osiva je v následující generaci skoro nulový. Jedná se tedy o metodu velice účinnou. Nejvíce je využívána pro úpravu osiva obilnin. Avšak potenciální využití je široké.

## 4 Zhodnocení metod a využití v praxi

Ačkoliv jsou hydratační úpravy osiva aplikovány v praxi již desítky let, techniky hydratování se nepochybně neustále zlepšují a inovují. Jasnými výhodami hydratačních úprav jsou rychlejší a rovnoměrné vzcházení a lepší klíčivost. Hydratační úpravy však nejsou univerzálně aplikovatelné na všechna semena. U některých druhů rostlin je použití hydratačních úprav složité, neprozkoumané či nemožné. Na druhou stranu ani nemusí mít hydratace smysl. Výzkumy se často zabývají zlepšováním vlastností osiva kulturních plodin, které živí lidstvo. A to především za účelem získání vyššího výnosu či kvalitnější sklizně, čemuž předchází bezproblémové vzcházení i za nestandardních podmínek.

Prehydratace neboli neřízený příjem vody je nejjednodušší a jednou z prvních technik pro zlepšování kvality osiva. Vhodný je především pro menší farmáře a zahrádkáře, kteří chtějí zlepšit klíčící vlastnosti svého osiva. Jednoduchým namočením semen do vody lze dosáhnout těchto výsledků.

Dnes však existují mnohem účinnější a efektivnější metody pro zlepšování klíčících vlastností semen. Tou metodou je priming neboli řízený příjem vody, který umožňuje nasát semenům pouze určité množství vody, aby se semeno „nastartovalo“ ale nevyklíčilo. Toto je zásadní vylepšení oproti prehydrataci, která neumožňuje dlouhodobé skladování semen. Při primingu se semena po ošetření znovu vysuší a lze je po určitý čas skladovat. Není tedy omezen případný delší transport semen ke spotřebiteli, což je základní předpoklad pro komercializaci a širší využívání hydratačních úprav pro získání osiva s lepšími vlastnostmi.

Lepší klíčivost a rychlejší vzcházení je však pouze špička ledovce pozitivních dopadů hydratačních úprav. Máčení semen za účelem lepšího vzcházení v suchém či zasoleném prostředí může mít vliv na obživu lidí v aridních oblastech či v oblastech s půdou znečištěnou toxickými odpady. Nepřímo to dokládají i studie prováděné na klíčových plodinách, např. pšenici.

Osmoprimingem ošetřená semena lépe vzcházela v zasoleném prostředí či při nedostatku vody. Zvolením vhodného osmotika lze tedy připravit rostliny na stres při vzcházení a zmírnit negativní dopady na agronomické vlastnosti způsobené suchem. Vystavení mírným dávkám stresu aktivuje v rostlinách mnoho obranných mechanismů, vedoucích ke zlepšenému zvládnutí stresu, a to i v budoucích generacích. Osmopriming je však metoda

nákladná, při které vzniká množství odpadů z použitých chemikálií. Komercializace a širší rozšíření této metody je možné, avšak s potenciálními důsledky na životní prostředí.

Pomocí metody řízené hydratace (hydropriming) lze ošetřit velké množství semen najednou. Nejsou produkovány odpady v podobě chemikálií jako například při osmoprimingu nebo matrimingu. Často také lze docílit stejného efektu jako při osmoprimingu – tj. lepší klíčení rostlin a tolerance k suchu či zasolení.

Pomocí matrikondicionování lze dosáhnout podobných, někdy i lepších výsledků jako u ostatních hydratačních úprav. Hlavní výhodou je lepší provzdušnění semen oproti metodám ostatním, což má za následek ještě lepší vzcházení. Toto ošetření je vhodné zejména u zeleniny s malými semeny. V závislosti na povaze nosiče (syntetický, přírodní) se odvíjí cena ošetření a množství vyprodukovaného odpadu.

Velmi nákladná je metoda nanopriming, která umožňuje hromadění minerálních látek, stopových prvků či živin v rostlinných tělech. Zároveň umožňuje také snížení koncentrace toxických kovů v rostlinných tělech. Pomocí tohoto ošetření lze například nahromadit více železa v rostlině, což má význam v oblastech s nedostatkem železa v každodenní stravě. Nanočástice železa bez valenčního elektronu mají potenciál i jako médium pro přenos živin či pesticidů do rostlin.

Jako nejekologičtější způsob ošetření se jeví biopriming, který spočívá v máčení osiva v roztoku s bakteriemi či jinými endofytickými organismy. Kromě zlepšení klíčících vlastností může také chránit semeno před patogeny přenášejícími se osivem. Některé rhizosféru osidlující bakterie také mohou podpořit rostlinu v růstu. Známý jsou i případy, kdy biopriming pomohl zmírnit dopady sucha na vývoj rostliny.

Co se týče regulace patogenů a dezinfekce osiva, lze také použít další techniky zahrnující ošetření vodou. Moření horkou vodou či párou je velice účinné při regulaci patogenů na osivu. Jedna z technik je už i komerčně dostupná.

Vědecké práce a výzkumy jsou základ, na kterém lze stavět při vyvíjení, rozšiřování a uplatnění hydratačních úprav osiv pro zlepšení kvality osiv. Existuje mnoho technik, méně či více nákladných a účinných, které mají potenciál k větší komercializaci. Vhodné by bylo rozšiřovat ty, které jsou účinné, levné a šetrné k životnímu prostředí.

Stanovení míry používání těchto metod v praxi je obtížné. Společnosti produkující osivo si často nechávají tyto informace pro sebe jako součást obchodního tajemství.

## 5 Závěr

Hydratační úpravy osiv mají velký význam při zlepšování klíčících vlastností. Lze pomocí nich dosáhnout rychlejšího klíčení, lepší uniformity vzcházení a celkově vyšší vitality jedinců. Pozitivní přínos je vidět hlavně u semen s nižší vitalitou. Prehydratace je nejlevnější způsob, který má smysl hlavně u malých farmářů či zahrádkářů disponujícím menším množstvím osiva. Techniky jako osmopriming, solid-matrix priming či nanopriming mohou být drahé a zatím těžko uplatnitelné pro ošetření většího množství osiva. Současně je potřeba se zbavovat odpadů v podobě chemikálií. Výsledkem těchto úprav však může být zvýšená tolerance rostlin vůči suchu či zasolení. Hydropriming je finančně dostupný, umožňuje ošetření velkého množství semen v bubnu a výsledkem je také lepší klíčení a vitalita osiva. To vše bez použití chemikálií a produkce odpadu. V některých případech také lze dosáhnout tolerance vůči stresu, avšak u osmoprimingu je výsledek jistější. Nanopriming slibuje atraktivní výsledky v podobě většího příjmu živin, redukce toxických prvků či větší akumulace prvku v rostlinných tělech, což může pomoci v oblastech, kde se vyskytují nemoci z nedostatečně pestré stravy. Biopriming je ekologický způsob, jak zlepšit klíčící vlastnosti osiva a navíc umožňuje i regulaci chorob přenášených se osivem. Mezi další metody sloužící k regulaci patogenů v osivu patří i moření horkou vodou či párou. Jeden z těchto způsobů je již komerčně využíván pro produkci zdravého osiva a měl by se stát standardem při procesu produkce osiva i mimo rozvinuté země.

Hydratační úpravy semen zajišťují lepší klíčení a následný růst rostlin a to i v nepříznivých podmínkách. To v některých případech vede k menším ztrátám úrody a může to přispět k produkci dostatku potravin pro lidstvo. Mohou vést ke sníženému využívání pesticidů a tím i ke zmírnění dopadů intenzivního zemědělství na životní prostředí.



## 6 Literatura

Agusti-Brisach, C, Perez-Sierra, A, Armengol, J. 2012. Efficacy of hot water treatment to reduce the incidence of *Fusarium circinatum* on *Pinus radiata* seeds. *Forestry* **85**:629-635.

Alzandi AA, Naguib DM. 2020. Effect of hydropriming on *Trigonella foenum* callus growth, biochemical traits and phytochemical components under PEG treatment. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **141**:179-190.

Amooaghaie R, Tabatabaie F. 2017. Osmopriming-induced salt tolerance during seed germination of alfalfa most likely mediates through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling and upregulation of heme oxygenase. *Protoplasma: An International Journal of Cell Biology* **254**:1791-1803.

Armondes KAP, Dias DCFS, Martínez PAH, Silva LJ, Hilst PC. 2016. Condicionamento osmótico e desempenho de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor. *Horticultura Brasileira* **34**:428-434.

Ávila M, Braccini A, Scapim C, Albrecht L, Rodovalho MA, Fracaro M. 2008. Hydration and pre-osmotic treatments on canola rape seeds (*Brassica napus* L.). *Seed Science and Technology* **36**:218-224.

Bewley, JD, Black M. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York.

Bewley, JD. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell* **9**:1055-1066.

Callan NW, Marthre DE, Miller JB. 1990. Bio-priming seed treatment for biological control of *Pythium ultimum* preemergence damping-off in sh-2 sweet corn. *Plant Disease* **74**:368-372.

Callan NW, Mathre DE, Miller JB, Vavrina CS. 1997. Biological seed treatments: factors involved in efficacy. *Horticultural Science* **32**:179-183.

Copeland LO, McDonald MB. 1995. Principles of Seed Science and Technology. Chapman & Hall. United Kingdom.

Copeland LO, McDonald MB. 1999. Seed Enhancements. Principles of Seed Science and Technology **9**:258-276.

Copeland LO, McDonald MB. 2001. Seed Conditioning and Handling. Principles of Seed Science and Technology **11**:252-267.

Drew, MC, Cobb, BG, Johnson, JR. 1994. Metabolic Acclimation of Root Tips to Oxygen Deficiency. Annals of Botany **74**:281-286.

du Toit LJ, Hernandez-Perez P. 2005. Efficacy of Hot Water and Chlorine for Eradication of *Cladosporium variabile*, *Stemphylium botryosum*, and *Verticillium dahliae* from Spinach Seed. Plant Disease **89**:1305-1312.

Farooq M, Basra SMA, Hafeez K. 2006. Seed invigoration by osmohardening in coarse and fine rice. Seed Science Technology **34**:181-187.

Farooq M, Romdhane L, Al Sulti MKRA, Rehman A, Al-Busaidi WM, Lee D-J. 2019. Morphological, physiological and biochemical aspects of osmopriming-induced drought tolerance in lentil. Journal of Agronomy and Crop Science **206**:176-186.

Farooq S, Hussain M, Jabran K, Hassan W, Rizwan MS, Yasir TA. 2017. Osmopriming with CaCl<sub>2</sub> improves wheat (*Triticum aestivum* L.) production under water-limited environments. Environmental Science and Pollution Research **24**:13638-13649.

Finch-Savage WE. 1984. Effects of fluid drilling germinating onion seeds on seedling emergence and subsequent plant growth. The Journal of Agricultural Science **102**:461-468.

Forti C, Shankar A, Singh A, Balestrazzi A, Prasad V, Macovei A. 2020. Hydropriming and Biopriming Improve *Medicago truncatula* Seed Germination and Upregulate DNA Repair and Antioxidant Genes. *Genes* **11**:242.

Gerna D, Roach T, Arc E, Stöggel W, Limonta M, Vaccino P, Kranner I. 2018. Redox poise and metabolite changes in bread wheat seeds are advanced by priming with hot steam. *Biochemical Journal* **475**:3725-3743.

Ghanbari M, Modarres-Sanavy SAM, Mokhtassi Bidgoli A, Talebi-Siah Saran P. 2018. Effect of hydropriming and seed aging on seed germination and biochemical characteristics of pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) seed under salt stress. *Iranian Journal of Seed Research* **4**:37-55.

Glick BR. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* **2012**:1-15.

Gondim F, Gomes-filho E, Lacerda CF, Prisco JT, Azevedo Neto AD, Marques EC. 2010. Pretreatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **22(2)**:103-112.

Gray D. 1981. Fluid drilling of vegetable seeds. *Horticultural Reviews* **3**:1-27.

Guha T, Ravikumar KVG, Mukherjee A, Mukherjee A, Kundu R. 2018. Nanopriming with zero valent iron (nZVI) enhances germination and growth in aromatic rice cultivar (*Oryza sativa* cv. Gobindabhog L.). *Plant Physiology and Biochemistry* **127**:403-413.

Harris D, Pathan AK, Gothkar P, Joshi A, Chivasa W, Nyamudeza P. 2001. On-farm seed priming: using participatory methods to revive and refine a key technology. *Agricultural Systems* **69**:151-164.

Hasegawa S. 2016. What is seed priming? *Germain's Seed Technology*. Available from <https://germains.com/what-is-seed-priming> (accessed February 2020).

Heydecker W, Coolbear P. 1977. Seed treatments for improved performance – survey and attempted prognosis. *Seed Science Technology* **5**:353-425.

Hilhorst, HWM. 1995. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* **5**:61-73.

Houba M, Hosnedl V. 2002. *Osivo a sadba*. Nakladatelství Ing. Martin Sedláček, Praha.

Hruška L. 1958. *Osivo a sadba*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha.

Hussain A, Rizwan M, Ali Q, Ali S. 2019. Seed priming with silicon nanoparticles improved the biomass and yield while reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat grains. *Environmental Science and Pollution Research* **26**:7579-7588.

Chaloupek O. 2008. *Genetická diverzita, šlechtění a semenářství*. Academia. Praha.

Chen XY, Ding X, Xu S, Wang R, Xuan W, Cao ZY, Chen J, Wu HH, Ye MB, Shen WB. 2009. Endogenous hydrogen peroxide plays a positive role in the upregulation of heme oxygenase and acclimation to oxidative stress in wheat seedling leaves. *Journal of Integrative Plant Biology* **51(10)**:951-960.

Jisha KC, Puthur JT. 2018. Seed Hydropriming Enhances Osmotic Stress Tolerance Potential in *Vigna radiata*. *Agricultural Research* **7**:145-151.

Kaewsorn P, Chotanakoon K, Chulaka P, Chunthawodtiporn J, Chanprasert W. 2019. Effects of hydropriming and osmopriming in germinability and storability of 'Bang Chang' pepper (*Capsicum annum* L.) seeds. *Acta Horticulturae* **1245**:45-52.

Kaymak HC, Guvenc I, Yarali F, Donmez MF. 2009. The effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **33**:173-179.

Mahawar MK, Samuel DVK, Sinha JP, Jalgaonkar K. 2016. Optimization of pea (*Pisum sativum*) seeds hydropriming by application of response surface methodology. *Acta Physiologiae Plantarum* **38**:212.

Mahawar MK, Samuel DVK, Sinha JP, Jalgaonkar K. 2018. Optimization of Hydropriming of Okra (*Abelmoschus esculentus*) Seeds Using Response Surface Methodology. *Agricultural Research* **7**:25-36.

Maldonado Peralta M de los Á, Rojas García AR, Torres Salado N, García de los Santos G, García Nava JR, Herrera Pérez J. 2018. Influencia de la testa sobre la imbibición en endocarpios de *Malpighia mexicana* y *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). *Cuadernos de Investigación UNED* **10**:151-160.

Mangwende E, Chirwa PW, Aveling TAS. 2020. Evaluation of seed treatments against *Colletotrichum kahawae* subsp. *cigarro* on *Eucalyptus* spp. *Crop Protection* **132**.

Matias JR, Torres SB, Leal CCP, Leite M de S, Carvalho SMC. 2018. Hydropriming as inducer of salinity tolerance in sunflower seeds. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* **22**:255-260.

Mercado MFO, Fernandez PG. 2002. Solid matrix priming of soybean seeds. *Philippine Journal of Crop Science* **27**:27-35.

Michel BE, Kaufmann MR. 1973. The osmotic potencial of polyethylene glykol 6000. *Plant Physiology* **51**:914-916.

Miller, SA, Ivey, MLL. 2003. Hot Water and Chlorine Treatment of Vegetable Seeds to Eradicate Bacterial. *Ohio State University Extension Bulletin*. **627**.

Monalisa SP, Beura JK, Tarai RK, Naik M. 2017. Seed quality enhancement through biopriming in common bean (*Phaseolus vulgaris*. L). *Journal of Applied & Natural Science* **9**:1740-1743.

Moreno F, Plaza GA, Magnitskiy SV. 2006. Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.). *Agronomía Colombiana* **24**:290-295.

Mosavikia AA, Mosavi SG, Seghatoleslami M, Baradaran R. 2020. Chitosan nanoparticle and pyridoxine seed priming improves tolerance to salinity in milk thistle seedling [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **48**:221-233.

Mouradi M, Bouizgaren A, Farissi M, Latrach L, Qaddoury A, Ghoulam C. 2016. Seed osmopriming improves plant growth, nodulation, chlorophyll fluorescence and nutrient uptake in alfalfa (*Medicago sativa* L.) - rhizobia symbiosis under drought stress. *Scientia Horticulturae* **213**:232-242.

Müller H, Berg G. 2008. Impact of formulation procedures on the effect of the biocontrol agent *Serratia plymuthica* HRO-C48 on *Verticillium* wilt in oilseed rape. *BioControl* **53**:305-316.

Mylor K, Holton S, Geneve RL, Calýskan S. 2014. Comparison of physical, acid, and hot water scarification on seed germination in eastern redbud. *Acta Horticulturae* **1055**: 347-349.

Naguib DM. 2019. Metabolic profiling during germination of hydro primed cotton seeds. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **17**:422-426.

Nawaz H, Hussain N, Jamil M, Yasmeen A, Bukhari SAH, Aurangzaib M, Usman M. 2020. Seed bioprimering mitigates terminal drought stress at reproductive stage of maize by enhancing gas exchange attributes and nutrient uptake. *Turkish Journal of Agriculture* **44**: 250-261.

Nicolas G, Bradford KJ, Come D. 2003. *Biology of Seeds: Recent Research Advances*. CABI Publishing. Wallingford, UK.

Olszewski MW, Goldsmith RS, Guthrie EK, Young CA. 2012. Use of Sieved Compost Plus Hydrogel for Solid Matrix Priming of Carrot Seeds. *Compost Science* **20**:5-10.

Özden E, Ermiş S, Sahin O, Taskin M, Demir İ. 2018. Solid Matrix Priming Treatment with O<sub>2</sub> Enhanced Quality of Leek Seed Lots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* **46**:371-375.

Pandolfi C, Mancuso S, Shabala S. 2012. Physiology of acclimation to salinity stress in pea (*Pisum sativum* L.). *Environmental and Experimental Botany* **84**:44-51.

Pazdera J, Pšenička P, Kettnerová, J. 2007. Pre-sowing treatments of poppy (*Papaver somniferum* L.) seed. *Scienta agriculturae bohemia*. **38**:123-127.

Pazdera J. 2002. Speciální úprava osiv. Pages 124-127 in: Houba M, Hosnedl V editors. *Osivo a sadba*. Nakladatelství Ing. Martin Sedláček. Praha.

Pazderů K. 2020. Osobní sdělení.

Pradhan N, Prakash P, Tiwari SK, Manimurugan C, Sharma RP, Singh PM. 2014. Osmopriming of tomato genotypes with polyethylene glycol 6000 induces tolerance to salinity stress. *BioScience Trends* **7**:4412-4417.

Procházka S, Macháčková I, Krekule J, Šebánek J. 1998. *Fyziologie rostlin*. Academia. Praha.

Raj NS, Shetty NP, Shetty HS. 2004. Seed bio-priming with *Pseudomonas fluorescens* isolates enhances growth of pearl millet plants and induces resistance against downy mildew. *International Journal of Pest Management* **50**:41-48.

Rakshit A, Singh HB. 2018. *Advances in Seed Priming*. Springer. Singapore.

Rangjaroen C, Lumyong S, Sloan WT, Sungthong R. 2019. Herbicide-tolerant endophytic bacteria of rice plants as the biopriming agents for fertility recovery and disease suppression of unhealthy rice seeds. *BMC Plant Biology* **19**:1-16.

Reddy PP. 2013. Bio-priming of Seeds. Pages 83-90 in: Reddy PP, editor. *Recent Advances in Crop Protection*. Springer, India.

Rowse HR. 1996. Drum priming – A non osmotic method of priming seeds. *Seed Science and Technology* **24**:281-294.

Sen SK, Chouhan D, Das D, Ghosh R, Mandal P. 2020. Improvisation of salinity stress response in mung bean through solid matrix priming with normal and nano-sized chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* **145**:108-123.

Singh P, Singh J, Ray S, Rajput RS, Vaishnav A, Singh RK, Singh HB. 2020. Seed biopriming with antagonistic microbes and ascorbic acid induce resistance in tomato against Fusarium wilt. *Microbiological Research* **237**.

Sundaria N, Singh M, Upreti P, Chauhan RP, Jaiswal JP, Kumar A. 2019. Seed Priming with Iron Oxide Nanoparticles Triggers Iron Acquisition and Biofortification in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grains. *Journal of Plant Growth Regulation* **38**:122-131.

Tabassum T, Ahmad R, Farooq M, Basra SM. 2018. Improving salt tolerance in barley by osmopriming and biopriming. *International Journal of Agriculture and Biology* **20**:2455-2464.

Tabassum T, Farooq M, Ahmad R, Zohaib A, Wahid A, Shahid M. 2018. Terminal drought and seed priming improves drought tolerance in wheat. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **24**:845-856.

Taylor AG, Allen PS, Bennett MA, Bradford KJ, Burris JS, Misra MK. 1998. Seed enhancements. *Seed Science Research* **8**:245-256.



Taylor AG, Hartman GE. 1990. Concepts and technologies of selected seed treatments. *Annual Review of Phytopathology* **28**:321-339.

Taylor AG, Klein DE, Whitlow TH. 1988. SMP: Solid matrix priming of seeds. *Scientia Horticulturae* **37**:1-11.

Taylor AG, Warholic DT. 1987. Protecting fluid drilled lettuce from herbicides by incorporating activated carbon into gels. *Journal of Horticultural Science* **62**:31-37.

Timmusk S et al. 2014. Drought-Tolerance of Wheat Improved by Rhizosphere Bacteria from Harsh Environments: Enhanced Biomass Production and Reduced Emissions of Stress Volatiles. *PLoS ONE* **9**.

Wahid A, Perveen M, Gelani S, Basra SM. 2007. Pretreatment of seed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology* **164**:283-294.

Warren JE, Bennett MA. 1997. Seed Hydration Using the Drum Priming System. *HortScience* **32**:1220-1221.

Wu L, Huo W, Yao D, Li M. 2019. Effects of solid matrix priming (SMP) and salt stress on broccoli and cauliflower seed germination and early seedling growth. *Scientia Horticulturae* **255**:161-168.

Younis ME, Abdel-Aziz HMM, Heikal YM. 2019. Nanoprimering technology enhances vigor and mitotic index of aged *Vicia faba* seeds using chemically synthesized silver nanoparticles. *South African Journal of Botany* **125**:393-401.

Zida PE, Néya BJ, Stokholm MS, Jensen SM, Soalla WR, Sérémé P, Lund OS. 2018. Increasing sorghum yields by seed treatment with an aqueous extract of the plant *Eclipta alba* may

involve a dual mechanism of hydropriming and suppression of fungal pathogens. *Crop Protection* **107**:48-55.

Žufánek J, Veverka V. 1997. Prehydratace osiva a fluidní setí zelenin. *Osivo a sadba* **3**:125-129.