

Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
Katedra agroekologie a rostlinné produkce

## DISERTAČNÍ PRÁCE



Irina Velichko

### **Úprava osiv nízkoteplotním plazmatem a její vliv na vývoj rostlin**

Školitel: prof. Ing. Josef Pulkrábek, CSc.  
Konzultant: Ing. Kateřina Pazderů, Ph.D.

Praha 2023

Bez pomoci mnoha kolegů a přátel z České zemědělské univerzity a Univerzity Karlovy by tato práce nemohla vzniknout tak dokonale, jako v současné „konečné“ fázi. Proto bych ráda ocenila štědrou podporu všech těchto lidí.

Předně jsem velmi zavázána svému vedoucímu, prof. Ing. Josefu Pulkrábkovi, CSc., za neocenitelnou pomoc při psaní této práce, úhledné poznámky a aktuální diskuse o výsledcích v průběhu této práce. Také jsem velmi vděčna své konzultantce Ing. Kateřině Pazderů, Ph.D za její neustálý zájem, rady a pomoc při provádění experimentů a psaní disertační práce.

Jsem velmi zavázána kolegům ze skupiny prof. Ing. Andrey Shukurova, Ph.D.: Jaroslav Kousal PhD, Pavel Pleskunov PhD, Daniil Nikitin PhD a Marcelé Búryové (Ublanska) za dobrý a nezapomenutelný čas a za pomoc při implementaci experimentu, různých měření a analýze několika výsledků. Chtěla bych poděkovat všem z výzkumné stanice Uhřetěves za provedení polních pokusů.

A v neposlední řadě jsem velmi zavázána své rodině a přátelům za povzbuzení a nevýslovnou podporu.

Without the help of many colleagues and friends from the Czech University of Life Sciences and Charles University, this work could not come into being even as little perfect as it is in its current “final” stage. Therefore, I would like to acknowledge the generous support of all these people.

First of all, I am very indebted to my supervisor Ing. Josef Pulkrábek, CSc. for inestimable help in writing this thesis, in neat remarks and current discussions of results during the course of this work. Also, I am very thankful to my consultant Ing. Kateřina Pazderů, Ph.D for her continuous interest, advises and help in accomplishing the experiments and writing the thesis.

I am very obliged to fellow members of Prof. Ing. Andrey Shukurov’s group: Jaroslav Kousal PhD, Pavel Pleskunov PhD, Daniil Nikitin PhD and Marcela Búryová (Ublanska) for a good and memorable time and for their help in implementation of experiments and different measurement and analysis of several results. I would like to thank colleagues from the Uhříněves research station for performing the field experiments.

At last, but not at least, I am obliged very much to my family and friends for the encouragements and untold support.

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci vypracovala samostatně a pouze s citovanými prameny, literaturou a dalšími odbornými prameny.

Rozumím tomu, že moje práce se týká práv a povinností podle zákona č. 121/2000 Sb., Autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů, zejména skutečnosti, že Česká zemědělská univerzita v Praze má právo uzavřít licenční smlouvu o užívání této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

I declare that I carried out this doctoral thesis independently, and only with the cited sources, literature and other professional sources.

I understand that my work relates to the rights and obligations under the Act No. 121/2000 Coll., the Copyright Act, as amended, in particular the fact that the Czech University of Life Sciences in Prague has the right to conclude a license agreement on the use of this work as a school work pursuant to Section 60 paragraph 1 of the Copyright Act.

V Praze dne.....

podpis

*Název práce:* Úprava osiv nízkoteplotním plazmatem a její vliv na vývoj rostlin.

*Autor:* Irina Velichko

*Katedra/Ústav:* Katedra agroekologie a rostlinné produkce/Česká zemědělská univerzita v Praze

*Vedoucí doktorské práce:* Prof. Ing. Josef Pulkrábek, CSc, Katedra agroekologie a rostlinné produkce

*Abstrakt:* Nízkoteplotní plazmové ošetření různých semen bylo provedeno plazmovou tryskou, dielektrickým bariérovým výbojem za atmosférického tlaku a radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku. Pro tyto výzkumy byla vybrána semena pšenice, sóji, kukuřice a ječmene. Byl sledován vliv ošetření plazmou na růstové parametry (tvorba sušiny, délka kořenů a nadzemní části), a také na klíčivost a střední dobu klíčení. Stimulace klíčení a zvýšení střední doby klíčení bylo dosaženo pro nejkratší dobu expozice. Bylo zjištěno, že schopnost nasávání vody po ošetření plazmovou tryskou různými semeny se zvýšila až o 30 %. Tyto jevy byly vysvětleny zmenšením zdánlivého kontaktního úhlu a/nebo poškozením vrchního obalu semene. Pozitivního efektu plazmového ošetření bylo dosaženo i u parametrů biomasy, jako je průměrná délka rostlin, hmotnost sušiny kořenů i nadzemní části a další. Spolu s pozitivním účinkem plazmového ošetření byl identifikován i účinek negativní.

*Klíčová slova:* klíčení, plazmové ošetření, schopnost semen nasávání vody, nízkoteplotní výboj, polní pokusy.

*Title:* Cold plasma seed treatment and its effect on plant growing.

*Author:* Irina Velichko

*Department/Institute:* Department of Agroecology and Plant Production/Czech University of Life Sciences in Prague.

*Supervisor of the doctoral thesis:* Prof. Ing. Josef Pulkrábek, CSc, Department of Agroecology and Plant Production.

*Abstract:* Low-temperature plasma treatment of different seeds was performed by a plasma jet, dielectric barrier discharge at atmospheric pressure and radiofrequency low-temperature discharge at low pressure. The wheat, soya, corn and barley seeds were chosen for these investigations. The influence of the plasma treatment on the growth parameters such as root and shoot dry weight and length as well as on the mean germination time was investigated. Stimulation of germination and an increase of the mean germination time were achieved for the shortest plasma exposure time. The ability of water imbibition by different seeds were found to increase up to 30 %. These phenomena were explained by the enhancement of hydrophilicity of the seed surface and/or by damaging of the upper seed coat. The positive effect of the plasma treatment was also achieved for biomass parameters such as average length, dry weights of roots and sprouts, and other. Along with the positive effect of plasma seed treatment, there were identified a negative effect. Thus, the plasma treatment can prove to be an effective alter-native to traditional pre-sowing seed treatments used in agriculture.

*Keywords:* improvement of germination, plasma treatment, water absorption, low-temperature discharge, field experiment.

# Obsah

1. Úvod.....	8
2. Literární přehled.....	9
2.1. Obecnější okruhy o osivu a stavbě semen.....	9
2.1.1. Obecné principy produkce semen .....	9
2.1.2. Stavba semen.....	10
2.1.3. Dormance semen.....	12
2.1.4. Klíčení semen.....	13
2.1.5. Stárnutí semen.....	14
2.1.6. Vitalita semen.....	15
2.1.7. Mikroflóra a zdravotní stav semen.....	16
2.1.8. Obecné metody úpravy osiv.....	18
2.1.9. Zkoušení osiva .....	19
2.2. Alternativní metody pro ošetření semen .....	21
2.2.1. Ošetření osiva horkou vodou a roztokem hydrochinonu .....	21
2.2.2. Termické ošetření osiva .....	22
2.2.3. Laserové a magnetické ošetření semen .....	22
2.3. Použití plazmové úpravy pro ošetření semen.....	23
2.3.1. Základní informace .....	23
2.3.2. Ošetření semen nerovnovážnou nízkoteplotní plazmou za nízkého tlaku .....	24
2.3.3. Použití studené plazmy při atmosférickém tlaku .....	27
3. Cíl a hypotézy.....	31
3.1. Cíl disertační práce.....	31
3.2. Hypotézy disertační práce .....	31
4. Zvolené metody zpracování a použitý biologický materiál .....	32

4.1. Materiál a metody .....	32
4.1.1. Charakteristika použitého biologického materiálu.....	32
4.1.2. Experimentální zdroje a proces plazmového ošetření.....	32
4.2. Měření teploty .....	35
4.3. Stanovení zdánlivého kontaktního úhlu a měření příjmu vody .....	36
4.4. Testy klíčivosti a hodnocení produkce biomasy .....	36
4.5. Polní pokusy.....	37
4.6. Statistické vyhodnocení .....	37
5. Výsledky a diskuze.....	38
5.1. Klíčivost semen.....	38
5.1.1. Vliv ošetření osiva plazmovou tryskou.....	38
5.1.2. Vliv ošetření osiva dielektrickým bariérovým výbojem.....	41
5.1.3. Vliv ošetření osiva radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku .....	42
5.2. Růstové parametry a příjem vody .....	45
5.2.1. Vliv ošetření osiva plazmovou tryskou.....	46
5.2.2. Vliv ošetření osiva dielektrickým bariérovým výbojem.....	51
5.2.3. Vliv ošetření osiva radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku .....	55
5.3. Polní pokusy.....	62
6. Vyjádření k hypotézám .....	66
7. Závěry a doporučení pro využití poznatků v praxi a pro další rozvoj vědního oboru .....	67
8. Seznam použité literatury .....	70
9. Seznam zkratk.....	77
10. Dodatečná data .....	78

# 1. Úvod

Pěstování polních plodin je jedním z hlavních úkolů lidstva na Zemi. Proto je s růstem světové populace lidstva nutné zvyšovat výnos zemědělských plodin prostřednictvím rozvoje metod agrotechniky, hnojení půdy a různých způsobů předseťového ošetření osiva.

Existuje předpoklad, že využitelná plocha pro pěstování plodin bude zmenšovat vlivem působení eroze, desertifikace, zatopení světovým oceánem a zvýšením využití plochy půdy pro energetické účely (Powlson et al., 1997; Bilsborrow et al., 2013). Úbytek zemědělské půdy se celosvětově odhaduje na přibližně 10 milionů hektarů ročně. Také, dle demografických odhadů do roku 2050 bude na naší planetě asi 9 miliard lidí (Bilsborrow et al., 2013). Proto studium nových metod předseťového ošetření osiva, které je způsobem zvýšení klíčivosti, zlepšení odolnosti vůči chorobám a zvýšení výnosu, je nejdůležitější úkol pro současné i budoucí generace obyvatel planety Země.



## 2. Literární přehled

### 2.1. Obecnější okruhy o osivu a stavbě semen

#### 2.1.1. Obecné principy produkce semen

Semeno je rozmnožovací orgán rostlin používaný pro pěstování rostlin. Kvalitu osiva z legislativního pohledu řeší zákon 219/2003 Sb. o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a o změně některých zákonů (zákon o oběhu osiva a sadby).

Semeno je oplodněné vajíčko sestávající z neporušeného embrya, zásobních látek (endospermu) a semenných obalů, které je životaschopné a má schopnost klíčení (McCormack, 2004 a Bhullar, 2010).

Obecné znaky kvalitního osiva:

- Osivo by mělo být geneticky čisté a mělo by vykazovat morfologické a genetické znaky konkrétní odrůdy.
- Osivo nesmí obsahovat příměsi semen jiných odrůd stejné plodiny nebo jiné plodiny, nečistoty a inertního materiálu.
- Osivo by mělo mít velmi vysoké procento klíčivosti a poskytovat silné rostliny.
- Osivo by mělo být zdravé, dobře vyvinuté a jednotné velikosti.
- Osivo by mělo být prosté od všech organismů nesoucích onemocnění (patogenů).
- Osivo by mělo být suché, neplesnivé a mělo by mít 12-14 % vlhkost.

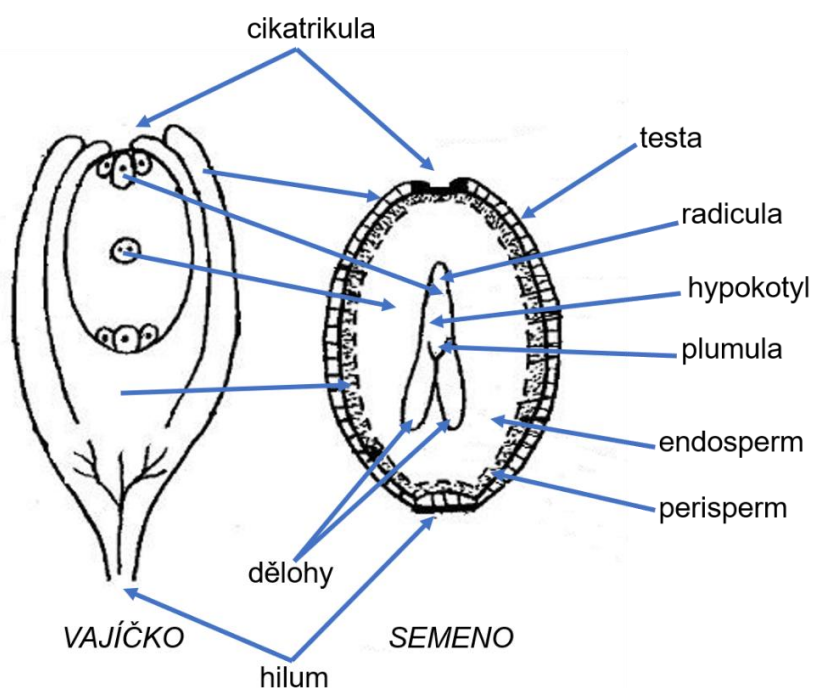
Další důležitou věcí týkající se semen je jejich klíčivost. Klíčivost semen znamená obnovení růstu embryí a vývoj mladé rostliny ze semene. Klíčivost je aktivace spícího embrya pro vývoj kořenů a stonku. Nebo opačně jiným slovem můžeme říci, že proces, při kterém se spící embryo probudí a začne růst, se nazývá klíčení. Produkce geneticky čistého, kvalitního osiva s vysokým procentem klíčivosti je náročným úkolem vyžadujícím vysoké technické dovednosti a poměrně vysoké finanční investice. Při produkci osiva musí být věnována výrazná pozornost zachování genetické čistoty a dalších vlastností semen, aby bylo možné využít všechny požadované vlastnosti nových vynikajících odrůd polních plodin. Jinými slovy, produkce osiva musí být prováděna podle standardizovaných a dobře

organizovaných podmínek (Zákon č. 219/2003 Sb.; McCormack, 2004 a Bhullar, 2010).

### 2.1.2. Stavba semen

Při vývoji semene probíhá přestavba pletiv vajíčka na pletiva semene. Z vaječné buňky vzniká zárodek – embryo, z centrální buňky zárodečného vaku triploidní endosperm, z nucellu perisperm, z vaječných obalů osemení – testa (Obrázek.1). Osemení může mít složitou strukturu. Na příčném řezu osemením lze rozlišit například slizové, sklerenchymatické a pigmentové vrstvy. Povrch testy může být hladký, lesklý, rýhovaný, štětinatý nebo opatřený háčky či výrůstky, přispívající k zoochorní (rozšiřování semen pomocí zvířat).

Embryo (zárodek, klíček) – vzniká z haploidní vaječné buňky oplozené haploidní generativní buňkou pylové láčky. Stupeň diferenciacce embrya závisí na botanickém druhu a na době sklizně. U některých druhů je embryo málo diferenciované (mrkev), u jiných je stupeň diferenciacce vysoký. Ne všechna semena obsahují při oddělení od mateřské rostliny zcela zralé embryo a jeho vývoj se může dokončovat později (Vinter, 2009; Sliwinska a Bewley, 2014).



Obrázek 1. Schémata vzniku semene (adaptováno z Vinter, 2009)

Dobře vyvinuté embryo tvoří:

- embryonální osa +dělohy,
- plumula (embryonální vegetační vrchol výhonu) s případnými základy listu,
- radícula (embryonální vegetační vrchol kořene).

Endosperm (vnitřní zásobní látka) – vyvíjí se z diploidního jádra zárodečného vaku oplozeného jednou z pohlavních buněk pylové láčky. Je tvořen parenchymatickým pletivem. Podle stavu endospermu ve fázi zralosti se semena rozdělují na:

- semena s endospermem (dobře vyvinutý endosperm),
- semena bez endospermu (endosperm zcela chybí nebo byl vyčerpán v průběhu jejich vývinu).

Součástí endospermu řady druhů je aleuronová vrstva. Ta je utvářena jednou nebo více vrstvami buněk, které se v určité fázi zrání diferencují od dalších buněk endospermu. Dochází k vydělení obvodových buněk od buněk vnitřních a k jejich přeměně v pravidelné buňky 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 jsou naplněny zásobními látkami, zejména škrobem, a v menším podílu proteiny.

Perisperm (vnější zásobní látka) vzniká z buněk zárodečného vaku, 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 (např. u miříkovitých). V některých případech se stává hlavním zásobním pletivem. U těchto semen zcela chybí endosperm.

Testa (osemení) vzniká přeměnou vaječných obalů (integumentů). Fyziologický význam testy spočívá v ovlivňování propustnosti pro vodu a plyny, čímž může vykonávat regulační vliv na metabolismus a růst vnitřních tkání semen. Prakticky tak ovlivňuje fyziologické pochody při klíčení semen.

Perikarp (oplodí) vzniká přeměnou stěn semeníku a květních částí, která při zrání plodu se stěnami semeníku srůstají. Vyskytuje se pouze u semen, které jsou zároveň celým plodem (např. u obilek).

Zásobní látka semen – chemické složení semen je založeno na genetických základech a do určité míry je modifikováno podmínkami prostředí (zejména v období vývinu semen a zrání) a agrotechnikou. To znamená odrůdové a ročníkové odlišnosti

v podílu zásobních látek, která se mohou podílet na kvalitě osiv. Kromě základních zásobních látek (lipidy, proteiny, glycidy) semena také mohou obsahovat z hlediska potravinářství antinutriční látky (alkaloidy, inhibitory proteáz, oligosacharidy) (Vinter, 2009; Sliwinska a Bewley, 2014).

### 2.1.3. Dormance semen

Dormance je souhrnné označení pro přechodné zastavení nebo omezení fyziologických procesů v živých organismech. Hlavní význam je v úspoře energie, která pomáhá organismu nepříznivé období přežít. Může být vyvolána geneticky i vnějšími vlivy, zejména nepříznivým počasím. Ve smyslu semen, dormanci lze definovat jako stav, ve kterém jsou semena chráněna před klíčením v prostředí, které je normálně pro klíčení příznivé. Dormance semen může působit potíže, se kterými se setkáváme při posuzování klíčivosti osiva některých plodin a odrůd bezprostředně po sklizni. Dormance semen může být rozdělena na základní formy:

- dormance primární,
- dormance sekundární.

#### Dormance primární

Primární dormance je vyvolána v průběhu vývinu semene, prakticky se projevuje po sklizni semen, kde příčinou mohou být podmínky exogenní nebo endogenní. Příčinou exogenní dormance bývají zpravidla semenné obaly, tzv. tvrdá semena nebo tvrdosemennost. Tvrdosemennost, jakožto nepropustnost pro vodu a plyny, je dána anatomickou stavbou semenných obalů. Druhá příčina exogenní dormance je nepropustnost osemení pro kyslík, který je nezbytnou podmínkou klíčení většiny semen. Pro odstranění exogenní dormance používají se různé způsoby:

- Přirozené odstranění dormance. K tomu dochází činností mikroorganismů nebo fyzikálními změnami v půdě.
- Mechanické narušení semenných obalů.
- Narušení obalů chemickými látkami.
- Omezení dormance selektivními enzymy, ale je tady důležitá doba expozice a vzniká nebezpečí poškození klíčivosti.

Nejčastější formou primární dormance je dormance endogenní. Ta je výsledkem vrozených vlastností semen, odpovídá druhovým a odrůdovým charakteristikám. K hlavním složkám endogenní dormance náleží přítomnost inhibitorů klíčení nebo látek ovlivňujících osmotický tlak, především u dužnatých plodů. Tvorbu a obsah inhibitorů klíčení, a tudíž endogenní dormanci ovlivňují takové parametry jako délka dne, vláhové podmínky, pozice semen na rostlině a v květenství, stáří mateřské rostliny a teplota v období zrání.

Pro odstranění endogenní dormance existují následující metody:

- Vyluhování látek způsobujících dormanci.
- Odstranění osemení nebo skarifikace.
- Teplotní ošetření.
- Ošetření fytohormony.

#### Dormance sekundární

Sekundární dormance představuje nově vyvolaný výskyt dormance u zralých, nedormantních semen. Nastává zejména, jsou-li semena dána do podmínek pro klíčení nepříznivých, například do podmínek anoxie, vodního stresu, nevhodné teploty nebo za určitého světelného spektra. Lze tedy konstatovat, že převážně vzniká jako termodormance nebo fotodormance, ale i z mnoha dalších příčin, jako je množství vody v prostředí nebo přítomnosti či nepřítomnosti některých chemických látek v prostředí. (Houba a Hosnedl, 2002).

#### **2.1.4. Klíčení semen**

Z fyziologického hlediska klíčení semen začíná příjmem vody a končí startem prodlužování embryonální osy, zpravidla kořínku. Klíčení zahrnuje biochemické, fyzikální, a biologické procesy, jejich vlivem se embryo transformuje z dehydratovaného klidového stavu do stádia s životaschopným metabolismem, který je završen růstem. Ze semenářského hlediska, klíčivá jsou ta semena, která poskytnou normální plně životaschopnou rostlinu, schopnou dalšího vývoje.

Procento klíčivosti je vyjádřením podílu klíčivých semen v testovaném vzorku, hodnoceném na konci období, vymezeného počtem dnů, kdy se předpokládá, že klíčení je ukončeno. Jednotlivá semena ve vzorku neklíčí se stejnou intenzitou. Někdy značné rozdíly v rychlosti a vyrovnanosti klíčení jsou důležitým znakem

vysoké nebo nízké kvality osiva. Pro semenářské účely je nejvhodnější rychlé a vyrovnané klíčení celé partie osiva.

K základním podmínkám klíčení patří:

- Voda (bobtnání semen začíná v první fázi klíčení).
- Kyslík (s postupující hydratací pletiv se zvyšuje dýchání, které je u suchých semen velmi malé, pak aktivně pokračuje v další fázi klíčení, v souvislosti s růstem embryonální osy. Nedostatek kyslíku se projevuje poklesem procenta klíčivosti. Normální obsah kyslíku v půdě je okolo 19 %, ale může se snížit až pod 1 %).
- Teplota (efekt teploty lze vyjádřit existencí tři kardinálních bodů u každého rostlinného druhu: minimem, optimem a maximem, což záleží na botanickém druhu, odrůdě, podmínkách prostředí, kvalitě a stáří osiva. Optimální teplota pro klíčení většiny semen se pohybuje v rozmezí 15°C–30°C).
- Světlo (u většiny plodin není nezbytnou podmínkou).

Důležitým znakem je životaschopnost osiva. Je možné ji hodnotit biologickým testem klíčivosti. Vysoká klíčivost je základním znakem kvality osiva. ISTA a AOSA postupně zpřesňuje metodiky testu klíčivosti, aby dosahovaly jejich standardizace. Test klíčivosti je jeden ze základních testů semenářské kontroly, je rozhodujícím kritériem při certifikaci osiv ([Bewley a Black, 1994](#), [Šerá, 2014](#), [Lhotská, 1987](#), [Procházka, 2000](#), [Lhotská, 1985](#)).

### **2.1.5. Stárnutí semen**

Deteriorace semen neboli stárnutí semen je charakterizováno snížením kvality osiva a ztrátou životaschopnosti. Nejde tedy o ztrátu kvality poškozením, i když poškozená semena stárnou rychleji. K deteriorace jsou vystavena všechna semena od fází zralosti, v které dosáhne nejvyšší vitality. Deteriorace se projevuje různě:

- snižuje se intenzita dýchání,
- snižuje se aktivita enzymatické činnosti,
- mění se poměr zásobních látek v semeni (zvyšuje obsah polyfenolů),
- dochází k změnám struktury buněčných membrán,
- dochází k změnám v syntéze nových látek,

- dochází k změnám genetického aparátu – zvyšuje se podíl mutací,
- změna vlhkosti a teploty,

Stárnutí semen je přirozený proces, který probíhá při skladování semen. Skladovací potenciál semen ovlivňují následující faktory:

- genetické efekty,
- předsklizňové účinky,
- struktura a složení semen,
- tvrdost semen,
- zralost semen,
- velikost semen,
- dormance semen,
- obsah vlhkosti,
- mechanické poškození,
- vitalita semen.

Rychlost deteriorace je možné zpomalit prostřednictvím kvalitních metod úpravy osiv a optimálních podmínek uskladnění ([Copeland a McDonald, 1995](#); [Hosnedl, 1999](#); [Justice a Bass, 1978](#)).

#### **2.1.6. Vitalita semen**

Vitalita osiva je přirozená vnitřní síla zdravých semen, zabezpečující rychlé klíčení po zasetí a jeho dokončení i za rozmanitých přírodních podmínek. Obecně vitalita vyjadřuje stupeň tolerance osiva k nepříznivým podmínkám při klíčení a vzcházení. Současně lze na základě vitality usuzovat na stabilitu kvality při uskladnění osiva. Každá partie osiva obsahuje semena neživá a klíčivá o různé vitalitě ([Houba a Hosnedl, 2002](#)). Podíl klíčivých semen se sníženou vitalitou se stává rozhodujícím faktorem rozsahu redukce rostlin při vzcházení za méně příznivých podmínek. Projevem snížené vitality semen je:

- pokles polní vzcházivosti,
- snížená rychlost a vyrovnanost vzcházení,
- zvýšená vnímavost a snížená výnosová schopnost porostu.

Požadavkem praxe je, aby testy vitality poskytovaly reprodukovatelné výsledky, které budou mít těsnější korelace s polní vzcházivostí osiva než testy laboratorní klíčivosti. Znalost vitality osiva má zásadní význam v případech:

- plodin s malou autoregulační a kompenzační schopností,
- plodin vysévaných na přesnou vzdálenosti,
- plodin, kde je důležité synchronní vzcházení pro získání porostu vyrovnaného a stejnoměrně dozrávajícího.

Rozdělení semen v osivu dle vitality a hlavní příčiny změn:

- Semena ze zdravých rostlin a optimálních pěstebních podmínek pro daný genotyp, šetrně sklizená ve sklizňové zralosti, vhodně ošetřená a uskladněná, nepoškozená jsou semena, která dosáhla vysoké vitality.
- Semena, která nikdy vysoké vitality nedosáhla jsou zpravidla předčasně sklizena nevyzrálá, nebo z nemocných rostlin, nebo z nevhodných ekologických a pěstitelských podmínek.
- V důsledku pozdní sklizně, nešetrnou sklizní a manipulací s osivem, nevhodnou posklizňovou úpravou nebo špatným uskladněním mohou semena vysokou vitalitu částečně nebo zcela ztratit.

Hlavní faktory snižování vitality:

#### 1) Vnější faktory

- podmínky prostředí během vývinu semen a podmínky uskladnění,
- pěstební podmínky a prostředí v období zrání, sklizně a ošetření,

#### 2) Vnitřní faktory

- genetická struktura,
- fyziologické vlastnosti, morfologické, cytologické, mechanické a mikrobiální vlastnosti.

### **2.1.7. Mikroflóra a zdravotní stav semen**

Obvykle při studiu všeho, co souvisí s mikroflórou semen, nejprve věnují pozornost jejímu negativnímu vlivu na zdravotní stav semen. Abychom pochopili důvod negativního vlivu na zdraví rostlin během jejich vývoje, je nutné rozlišovat stav semen. Semena mohou mít jak poškození, tak chorobu. Poškození se projevuje především deformací, změnou barvy a podobně. Choroby semen jsou vždy



patogenního původu, podle dosud získaných poznatků je způsobují nejčastěji mikroskopické houby nebo bakterie. Například, když jsou patogenní mikroskopické houby přítomny na semenech, je to docela snadné vidět podle viditelných příznaků na semenech. V tomto případě se klíčivost semen nemusí snížit, ale samotná rostlina může být následně poškozena.

#### *Poškození semen.*

- Poškození se může projevit deformací, změnou barvy atd. nebo může být způsobeno suchým počasím, nedostatkem výživy a dlouhodobým vystavením extrémním teplotám.
- Tepelné poškození semen nejčastěji pochází z toho, jak se s nimi po sklizni zachází.
- Poškození semen může být také způsobeno nepřímým působením patogenů, které ovlivňují kořenový systém rostliny a způsobují vadnutí, žloutnutí a odumírání. U semen se to obvykle projevuje předčasným vysycháním, zvrásněním a ztrátou schopnosti klíčení.
- Do skupiny organismů, které mohou poškodit semena, patří i houby, které nezpůsobují onemocnění rostlin vypěstovaných z infikovaných semen, ale mohou způsobit deformaci rostlin a výrazně snížit klíčivost semen.

#### *Choroby semen.*

Pro rozvoj onemocnění je nezbytná přítomnost hostitele a patogenu a také vhodné podmínky prostředí. Infekce semen je ovlivněna především vnějšími faktory:

- Biotické faktory – primární poškození semen živočišnými škůdci.
- Abiotické faktory - největší vliv má vlhkost.

Rostlinné patogeny přenášené semeny sledují stejné čtyři fáze infekčního cyklu jako ostatní patogeny: přežití, šíření, infekce a vývoj onemocnění. Původce může být ovlivněn podmínkami prostředí v každé z uvedených fází. Existují také vedlejší účinky poškození semen některými patogeny. Fytopatogenní organismy mají zpravidla vyvinuté mechanismy, které jim umožňují pronikat do rostlinných tkání. Jedním z těchto mechanismů je produkce toxických látek, které poškozují a ničí pletiva rostlin.

K hodnocení a zkoumání zdravotního stavu semen lze použít laboratorní klíčení a vizuální hodnocení. Laboratorní klíčení semen však odráží především biologické vlastnosti zrna. Někdy se může stát že laboratorní výsledky jsou ovlivněné přítomností mikromycet, ale to nestačí k tomu, abychom skutečně posoudili vliv fytopatogenních mikroskopických hub na zdraví semen nebo na klíčení rostlin. Přesto je možné z výsledků laboratorních zkoušek a zjištěné přítomnosti mikroskopických houb usuzovat na zdravotní stav další generace rostlin.

Vizuální posouzení stupně zdraví semen nemusí odrážet skutečný stav a přítomnost mikroorganismů způsobujících choroby semen a rostlin. Proto ani tuto metodu nelze považovat za dostatečnou pro posouzení zdravotního stavu semen.

Hlavním způsobem ochrany proti houbám přenášeným semeny je prevence. Patří sem postupy jako předseťové ošetření osiva, hloubka setí, a setí uznaného osiva. Všechny tyto faktory ovlivňují životaschopnost vzcházejících rostlin, které jsou nejvíce náchylné k houbovým infekcím. (Houba a Hosnedl, 2002).

### **2.1.8. Obecné metody úpravy osiv**

Po sklizni musí být semena upravena či ošetřena různými metodami, aby se zachovala fyzická čistota. To by mělo být provedeno před tím, než jsou semena uložena ke skladování.

K přípravě osiva ke skladování se obvykle používají následující metody:

- Čištění a třídění: Používají se síta s různou velikostí, aby se odstranily anorganické a organické příměsi a nečistoty. Velké nečistoty se zadržují jako přeпад na velkém síti, zatímco prachové materiály menší než semena se odstraňují jako propad na malém síti.
- Sušení semen: Sušení semen je proces snižování obsahu vlhkosti v semenech, aby se zlepšila vitalita a životaschopnost semen, a tím se prodloužila možná doba skladování. Pomáhá udržovat semena bez výskytu škůdců a chorob. Sušení by mělo být prováděno při nižší teplotě. Během sušení se vlhkost z povrchu semen poprvé odpaří a vlhkost z vnitřních vrstev semene se přenesou na povrch pro další sušení (McCormack, 2004).

V současné době je známa celá řada metod pro předseťovou úpravu osiv, které mohou zlepšit zdravotní stav osiv, urychlit počáteční růst klíčku, zvýšit hmotnost nadzemní a podzemní biomasy v důsledku nárůstu rychlosti fotosyntézy a další

efekty. Ošetření semen je možné rozdělit na tři kategorie v závislosti na typu semen (Taylor et al., 1990). Kategorie 1 obsahuje metody úpravy semen, které jsou extrémně drahé a prováděné v malých množstvích. Kategorie 2 obsahuje metody úpravy semen, které jsou středně drahé a produkovány v menším množství. Třetí kategorie metody ošetření semen, které se vyrábějí ve velkých množstvích a osivo má cenu relativně nízkou. Většina semen rostlin patří do této kategorie.

Kromě obecných metod pro ošetření osiv existuje mnoho různých metod, například chemické, biologické, fyzikální a další. S ohledem na vliv chemikálií na ekosystém a organismy, je zajímavější používat alternativní metody pro úpravu semen.

### **2.1.9. Zkoušení osiva**

Pro dozor, kontrolu a zkoušení vlastností rozmnožovacího materiálu a vše, co souvisí s jeho uváděním do oběhu, existuje semenářská kontrola. Při množení osiv a sadby se semenářská kontrola soustřeďuje na dva základní okruhy:

- Hodnocení množitelského porostu, při němž se posuzují předpoklady pro sklizeň zdravého, uniformního a odrůdovým znakům odpovídajícího osiva (sadby).
- Hodnocení nebo zkoušení osiva (sadby) laboratorními i jinými metodami.

Množitelský porost je zpravidla polní porost určitého druhu, odrůdy, kategorie a generace, který je určen k reprodukci osiva pro další pěstování, tj. k dalšímu rozmnožování nebo ke konečnému užití. Množitelský porost je charakterizován vysokými požadavky na vyrovnanost, odrůdovou čistotu a pravost podle parametrů stanovených vyhláškou, tj. včetně znaků limitovaného obsahu příměsí, hodnot zdravotního stavu, předplodin, izolačních vzdáleností apod. Množitelské porosty vyžadují vysokou úroveň agronomické péče, selekce a zásad ochrany rostlin.

Kritéria hodnocení:

- celkový stav porostu,
- čistota druhu,
- čistota odrůdy,
- zapelevelení,
- zdravotní stav.

Uvedená kritéria se hodnotí vždy, ale u některých druhů se vyskytují i další postupy.

Laboratorní zkoušení osiv je nejznámější část semenářské kontroly. Současná praxe laboratorního zkoušení opírající se o pravidla ISTA i tuzemské předpisy je založena na postupech odpovídajících současnému rozvoji vědeckého poznání i stavu technických zařízení, která jsou k dispozici.

Z pohledu postavení a významu jsou semenářské laboratoře členěny na autorizované laboratoře s mezinárodní a tuzemskou akreditací, zkušební laboratoře autorizovaným laboratořím podřízené a na laboratoře semenářských společností a firem, z nichž některé mohou být podle vývoje posledních let též akreditovány pro stanovený rozsah zkoušení.

Z hlediska vnitřního členění se semenářské laboratoře obvykle člení na:

- příjem, evidence a přeprava vzorků,
- laboratoř analytické čistoty,
- laboratoř pro zkoušení klíčivosti,
- laboratoř zdravotního stavu,
- laboratoře pro speciální zkoušky a stanovení.

Metodické postupy stanovují minimální hmotnost vzorku, který musí být rozborován a zkoušen, tak aby se omezily chyby v důsledku nehomogenosti materiálu. Čím vícekrát je zkouška stejného vzorků opakovaná a čím větší je velikost testovaného vzorků, tím je výsledek bližší objektivnímu určení.

Hlavní kritéria hodnocení osiv:

- analytická čistota,
- klíčivost,
- hmotnost tisíce semen,
- zkoušky zdravotního stavu.

K tomu však přistupují podle potřeb druhu i mnohé další zkoušky:

- speciální metody klíčivosti,
- zkoušky vzcházivosti a vitality,
- namořenost osiva,
- kalibrace,
- stupeň ploidie,
- elektroforéza bílkovinných markér,

- zkouška obalování,
- obsahy některých látek, např. stanovení kyseliny erukové a obsahu glukosinulátů.

Semenářské laboratoře jsou hodnoceny vzájemným porovnáváním provádění analýz i dosahovanými výsledky. Například v rámci členských laboratoří ISTA jsou obesílány postupně všechny členské laboratoře jednotně upravenými vzorky zcela stejné hmotnosti, stejného druhu i odrůdy, kde je povinnost určit například klíčivost, čistotu s přesným vyčíslením kusů příměsí, které zadavatel kruhového testu do vzorku přidá, apod. Neuspět vícekrát za sebou v takové zkoušce nebo se významně odchýlit výsledky od průměru znamená riziko ztráty akreditace. (Houba a Hosnedl, 2002).

## 2.2. Alternativní metody pro ošetření semen

Semena před výsadbou, před skladováním a po skladování mohou mít v sobě i na sobě různé choroby, plísně, škodlivé organismy, atd. Ke snížení jejich vlivu na vitalitu semen a jejich množství se osiváři obvykle uchylují k různým alternativním metodám ošetření.

### 2.2.1. Ošetření osiva horkou vodou a roztokem hydrochinonu

Například Elwaki ve své práci (Elwaki, 2003) při ošetření arašídových semen roztokem hydrochinonu prokázal zvýšení výšky rostliny, kořenové délky, délky výhonku, kořenové čerstvé hmotnosti, čerstvé hmotnosti výhonku, počtu větví a lusků na rostlině. Zvýšila se také hmotnost sušiny rostliny a narostla produkce o 50 %.

Také je možné použít k úpravě osiv ošetření horkou vodou. Tuto metodu je možné například využít pro snížení mykoflóry na povrchu semen kukuřice (Rahman et al., 2008). Byly použity tři odrůdy kukuřice, u kterých horká voda významně ovlivnila velikost infekce semen. Po ošetření semen horkou vodou při teplotě 48 °C, 50 °C a 52 °C došlo ke snížení celkové infekce semen, klíčivost se zvýšila o 29 %. Ošetření horkou vodou je **klasická metoda** pro ovlivňování patogenity semen. Při dostatečně vysoké teplotě budou organismy zabity, ale tato teplota není dostatečná pro zničení semen. Avšak tato metoda není použitelná pro všechna osiva. Například, toto ošetření může **být nebezpečné** nebo nepraktické pro semena hrachu, fazolí,

okurek, hlávkového salátu, řepy a některých dalších plodin (Lancaster, 2016, Nega et al., 2003 a Miller a Levis Ivey, 2005).

### 2.2.2. Termické ošetření osiva

V Koreji, Japonsku a některých dalších zemích je používána metoda suchého tepelného ošetření (dry heat treatment) pro osiva vybrané zeleniny s vysokou cenou (Lee et al., 2004). Semena jsou vystavena extrémně vysoké teplotě (75°C a vyšší) po dobu 72 hodin nebo déle. Ošetření vysokou teplotou nemělo vliv na konečné klíčení a rychlost růstu. Jedním z moderních vědeckých návodů je spojení této metody s alternativními. Například použití metody suchého tepelného ošetření bylo srovnáváno s ošetřením osiv v 2 % roztoku peroxidu vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a také s kombinací těchto dvou metod (Hong a Kang, 2016). Populace *Salmonella Typhimurium* na osivech po ošetření při použití jenom suchého tepla (60° C, 70° C a 80° C) po dobu nad 24 hodin poklesla o 0,26 - 2,76 log CFU/g, a při použití obou metod se populace snížila o 1,66 - 3,60 log CFU/g. Klíčivost semen při těchto úpravách byla významně zvýšena až na 97 %, zatímco u neošetřených semen byla jen 79,5 %. Další metodou je tepelné ošetření horkým vzduchem s asistovaným radiofrekvenčním vlněním (Jiao et al., 2016), která byla použita pro úpravu semen pšenice a kukuřice.

### 2.2.3. Laserové a magnetické ošetření semen

Existují také další metody úpravy semen, jako je stacionární magnetické pole (Florez et al., 2007) a laserové a magnetické ošetření (Asghar et al., 2016, Iqbal et al., 2016 a Iqbal, Jamil a Nisar, 2016). Ošetření semen kukuřice pomocí stacionárního magnetického pole ukázalo jako výsledek zvýšení rychlosti klíčení (Florez et al., 2007). Kladný efekt magnetického pole na osivo melounu (*Cucumis melo L.*) a tykve (*Momordica charantia L.*; cv *Faisalabad Long*) byl prozkoumán v pracích (Iqbal et al., 2016 a Iqbal, Jamil a Nisar, 2016), kde bylo ukázáno zvýšení parametrů jako je rychlost růstu, listová plocha, čerstvá hmotnost kořene, délka kořene, obsah chlorofylu, výsledný výnos a další v rozsahu od 15 % do 76 %. Při srovnání vlivu laserového a magnetického ošetření osiv sóji na vlastnosti jako je obsah cukru, bílkovin, dusíku, peroxidu vodíku, kyseliny askorbové, prolinu, fenolu a malondialdehydu spolu s obsahem chlorofylu (Chl "a" "b" a celkový obsah

chlorofylu), a specifické aktivity enzymů, byl získán výsledek, že magnetické pole má mírně vyšší efekt, než laserové ošetření. Nicméně, vliv obou metod byl významně vyšší ve srovnání s kontrolou (semeno bez úpravy) (Florez et al., 2007). Popis dalších metod úpravy osiv je dobře zpracován v práci A. Aladjadjiyan (Aladjadjiyan, 2007).

Všechny představené metody jsou jenom malou částí existujících způsobů předseťových úprav osiv. Existují další metody jako biologické, chemické, úpravy pomocí pesticidů, hydratační úpravy a další (Sharma et al., 2015, Pazdera, 2003, Kamran M et al., 2021, Zanganeh R, Jamei R, Rahmani F, 2020 a Cetinel et al., 2021).

## **2.3. Použití plazmové úpravy pro ošetření semen.**

### **2.3.1. Základní informace**

V poslední době se velmi populárním tématem stalo studium a použití plazmového ošetření semen. Semena zeleniny jsou zřejmě nejpoužívanějším objektem pro ošetření, ale výzkum se však posouvá také do běžných polních plodin jako pšenice, kukuřice a další. Plazma je často nazývána čtvrtým látkovým stavem. Při zvýšení hladiny energie látka přechází z pevného stavu do kapalného a poté do plynného, a v konečném důsledku přechází do ionizovaného stavu plynové plazmy (Misra et al. Chapter 1, 2016).

Pro generování plazmy může být použit jakýkoliv zdroj energie, který může ionizovat plyn. Plazma se skládá z excitovaných atomových, molekulárních, iontových a radikálních druhů, které koexistují s řadou reaktivních částic, včetně elektronů, pozitivních a negativních iontů, volných radikálů, atomů plynu, molekul v neutrálním nebo excitovaném stavu, a kvant elektromagnetického záření (UF fotony a viditelné světlo). Plazma může být rozdělena na dva typy: rovnovážná (horká) a nerovnovážná (nízkoteplotní) plazma.

Pro vznik horkého plazmatu, musí být plyn úplně ionizován a to znamená, že plyn musí být zahřán na dostatečně vysokou teplotu (typicky v řádu 20 000 K). V horkém plazmatu jsou všechny aktivní částice, elektrony a ionty v termodynamické teplotní rovnováze.

Nízkoteplotní plazma může být také rozdělena na dva typy: kvazi-rovnovážná plazma (obvykle 100 ° až 150 °C) a nerovnovážná plazma ( $\leq 60$  °C). V tomto typu

plazmatu, jsou elektrony tak lehké ve srovnání s atomy a molekulami, že výměna energie mezi elektrony a neutrálním plynem je velmi neefektivní. Proto elektrony mohou být udržovány při ekvivalentních velmi vysokých teplotách (několik eV, ~ 104 K), i když neutrální atomy zůstávají při okolní teplotě (~300 K). Z tohoto důvodu se tato plazma nazývá nerovnovážná.

Podíl ionizace v plazmě, která se běžně používá pro deponování a zpracování materiálu se mění od asi  $10^{-6}$  v typických kapacitních výbojích do 5 – 10 % v indukčním plazmatu s vysokou hustotou. Většina částic je neutrálních (~ 300 K), to znamená, že plyn zůstává na nízké teplotě. Z tohoto důvodu se nerovnovážná plazma také nazývá nízkoteplotní plazma (NTP) nebo chladná (studená) plazma. Chladná plazma může být generována za atmosférického nebo sníženého tlaku (vakuum). Velmi dobrý popis fyzikálních vlastností NTP plazmatu, stejně jako existující typy zdrojů jsou popsány v práci Turnera (Turner, 2016). A taky ve studii (Christopher Whitehead, 2016), kde jsou popsány i chemické vlastnosti chladného plazmatu.

Použití chladného plazmatu pro ošetření osiv je novým přístupem ke snížení přítomnosti patogenů a jiných škodlivých vlivů při klíčení a ve fázích vzcházení sazenice. Plazma může interagovat s osivem a měnit jeho povrchové vlastnosti leptáním, zavedením funkčních skupin na povrch a deponováním různých materiálů na osiva. Hlavním důvodem použití plazmatu pro úpravu semen je to, že tento způsob má mnoho výhod pro zemědělství, vzhledem k jeho provozu při nízkých teplotách a krátké době zpracování. Také může zlepšit klíčení a růst plodin pomocí odstranění mikrobiálních vrstev, změny v příjmu vody a dalších vlastnostech. Pro popis vlivu studené plazmy na ošetření osiva je lepší rozdělit plazmu na atmosférickou a plazmu při nízkém tlaku.

### **2.3.2. Ošetření semen nerovnovážnou nízkoteplotní plazmou za nízkého tlaku**

V poslední době se předmětem vysokého vědeckého zájmu pro ošetření semen stala nerovnovážná nízkoteplotní plazma využívaná za nízkého tlaku (Misra et al., 2016 and Randeniya et al., 2015). Například, v jedné z takových studií (Selcuk et al., 2008) byla zkoumaná efektivita nízkotlakové studené plazmy s použitím vzduchu a SF<sub>6</sub> jako pracovního plynu na dvě patogenní houby (*Aspergillus a Penicillium*) na povrchu osiva. V této práci bylo ošetřeno několik typů semen, včetně semen rajčat,



pšenice, fazolí, hrachu, sójových bobů, ječmene, ovsa, žita, čočky a kukuřice. Proces dekontaminace byl proveden ve vakuové komoře v plazmovém výboji po dobu 5-20 min. Bylo zjištěno, že plazmové ošetření sníží prezenci houbových zárodků na úroveň <1 % bez vlivu na kvalitu klíčení semen. Působení plazmy a SF<sub>6</sub> po dobu 15 min snížilo počet obou patogenních hub o 3 logaritmické jednotky. Butscher et al (Butscher et al., 2015) studovali ošetření semen pšenice pomocí radiofrekvenční (rf) Ar/O<sub>2</sub> plazmou za nízkého tlaku (8,0–12,8 mbar). Inaktivace endospor *Bacillus amyloliquefaciens* (BA) byla úspěšně realizována při výkonu 700–900 W, přičemž množství endosporů BA bylo sníženo o více než dvě logaritmické jednotky během 30 s ošetření. Fungicidní účinek vzduchové plazmy byl prokázán Filatovou et al. (Filatova et al., 2014), kteří ošetřili semena pšenice kontaminované fytopatogeny. Nejlepší výsledky byly dosaženy po 5 minutové expozici, během které se rychlost infekce snížila o 77 % a klíčivost se nezměnila. V dalších pracích (Brasoveanu et al., 2015 a Ono et al., 2016) byly také prezentovány výsledky inaktivace bakterií, mikroorganismů a patogenních hub na povrchu různých osiv bez snížení kvality klíčení semen. Osiva ječmene a kukuřice byla ošetřena pomocí studené plazmy při tlaku 15 Pa ve vzduchu, a při výkonu 100 W pro ječmen a 200 W pro kukuřici. Doba zpracování byla od 2 do 20 minut (Brasoveanu et al., 2015). Standardní metoda, podle mezinárodní asociace pro testování osiv (ISTA), byla použita pro kontrolu klíčivosti a houbového napadení semen. Semena byla přenesena na sterilní Petriho misky (10 semen na miskou) a inkubována při teplotě 22 ± 2 °C (12 h světlo/12 h tma po dobu 7 dnů). Semena byla poté testována a hodnocena na růst hub pomocí stereo mikroskopu (12 – 50 krát zvětšení). Klíčivost byla vyhodnocena po 8 dnech. Po 5 minutách plazmového ošetření semen ječmene byl počet hub ovlivněn nepatrně, ale působení plazmy po dobu 10 - 20 min vedlo k poklesu na ~ 15-25 % z počátečního počtu hub. Naopak, u kukuřičných semen fungální zatížení ukázalo drastické snížení na ~ 30 % už při 5 minutovém zpracování a ~ 40 % po 10 minutách. Na klíčení a růst ječmene má plazma negativní vliv a u osiva kukuřice došlo k mírnému zlepšení. Při ošetření osiv hlávkového zelí v kyslíkové a vzduchové plazmě bylo pozorováno snížení počtu bakterií *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* od 2-4×10<sup>4</sup> CFU/semeno do 3-2×10<sup>-1</sup> CFU/semeno, a tato plazmová úprava neměla vliv na poškození semen a na rychlost klíčení po dobu 3-7 dnů po zasetí (Ono et al., 2016).

Plazmové metody úpravy se používají nejen pro zlepšení povrchového stavu osiva, ale i pro stimulaci klíčení. Například, nízkoteplotní nerovnovážná rf plazma

může stimulovat růst a vývoj rostlin v prvních fázích ontogeneze tím, že aktivuje metabolismus semen, zvyšuje jejich odolnost vůči stresovým faktorům, a také posiluje jejich fungicidní a baktericidní odolnost (Filatova et al., 2014). Nejpriznivější podmínky pro ošetření plazmatem jsou získány pomocí specifického výkonu 0.34 - 0.40 W/cm při době expozice 5 - 7 min. Jedním z nejdůležitějších faktorů při ošetření plazmou odpovědných za stimulaci klíčení semen jsou aktivní plazmové částice (atomy kyslíku O I, O<sup>2+</sup> ionty a OH radikály), který způsobují změny v morfologii povrchu semen. Taky Bormashenko et al (Bormashenko et al., 2012) ukázali, že ošetření plazmou ovlivňuje smáčivost povrchů různých semen včetně: čočky (*Lens culinaris*), fazolí (*Phaseolus vulgaris*) a pšenice (*Triticum*, druh C9). Úprava vzduchovou plazmou vede k dramatickému snížení zdánlivého kontaktního úhlu od 80%. Změna smáčecích vlastností semen je alespoň částečně způsobena jejich oxidací povrch pod plazmovou úpravou. Taky tento efekt zvýšení smáčivosti povrchu semen může působit zvýšení klíčivosti. Stejný předpoklad byl udělán při použití vysokofrekvenční NTP při nízkém tlaku a přívodním plynu Ar + O<sub>2</sub> pro ošetření semen sladké bazalky (Singh et al, 2022). Ošetření semen bylo provedeno pomocí rf zdroje energie (60 W, 150 W, 240 W), procesního tlaku (0,2 mbar, 0,4 mbar, 0,6 mbar) a doby ošetření (5 min, 10 min, 15 min) v různých kombinacích. Výsledky ukazují, že ošetření poskytuje až ~89 % klíčivosti oproti 32,3 % kontrole, což koreluje se zvýšením schopnosti nasycení vodou. Nejúčinnější ošetření při takových parametru jako následující: 1) 0,2 mbar, 60 W, 15 min a 2) 0,4 mbar, 150 W, 15 min.

Krátké ošetření studenou plazmou semen sóji (*Glycine max L. Merr cv. Zhongdou 40*) ukázalo, že ošetření plazmou při příkonu 80 W mělo nejvyšší stimulační pozitivní efekt na klíčení semen a růst sazenic (Ling et al, 2014). Indexy klíčivosti a vitality významně vzrostly o 14,66 % a 63,33 %. Příjem vody semenem se zlepšil o 14,03 % a zdánlivý kontaktní úhel klesl o 26,19 %. Charakteristiky růstu semenáčků, včetně délky výhonků, sušiny výhonků, délky kořene a sušiny kořene, se ve srovnání s kontrolou významně zvýšily o 13,77 %, 21,95 %, 21,42 % a 27,51 %. Kromě toho byly obsahy rozpustných cukrů a proteinů o 16,51 % a 25,08 % vyšší než u kontroly. Ve srovnání s 21,95% zvýšením hmotnosti výhonků se hmotnost kořene po ošetření zvýšila o 27,51%, což ukazuje, že ošetření plazmou mělo větší stimulační efekt na kořeny rostlin. Pozitivní efekt byl pozorován při ošetření radiofrekvenční plazmy za nízkého tlaku pro slunečnicová semínka (Sarapirom a Yu,

2021). Dva druhy semen, loupané a neloupané, byly ošetřeny při výkonech 75 W, 100 W, 125 W a 150 W a fixovaném času 2 minuty. Bylo ukázáno, že při použití výkonu 150 W klíčivost loupané semínku dosáhlo 100 % a pro neloupané mělo negativní efekt. Při stejných podmínkách zdánlivý kontaktní úhel klesl prakticky k nule pro loupaná a neloupaná semena.

Dalším z hlavních faktorů pro zvýšení klíčivosti je přidání magnetického pole do výboje. Výsledky v práci (Shao et al., 2013) ukazují, že vitalita a rychlost klíčivosti byly mnohem vyšší u ošetřených semen ve srovnání s neošetřenými. Rychlost klíčení vzrostla nad 200 % a síla klíčení nad 130 % při intenzitě zpracování 2,0 A pomocí magnetického plazmového oblouku.

Mikrovlnná plazma byla také používána pro ošetření semen pšenice a ovsa (Šerá et al., 2010). Při úpravě semen ovsa nebyly na povrchu pozorovány žádné změny, ale na povrchu semen pšenice byly zjištěny destruktivní změny a rychlost klíčení se snížila po 10 minutách plazmatické expozice. V tomto případě se autoři domnívají, že dlouhá doba ošetření zničila povrch a snížila růstový potenciál semen pšenice. Na druhé straně bylo pozorováno, že rychlost klíčení vzrostla po krátké době ošetření. Pro semena ovsa při zdržení ve vakuu a při úpravě v plazmě po dobu 40 minut dosáhla 100 % klíčení, ale při snížení doby ošetření na 20 minut byly pozorovány horší výsledky. Pro úpravu merlíku bílého (*Chenopodium album*) (Šerá et al., 2008) byla použita plazma vzduchu a plazma ve směsi Ar/O<sub>2</sub> a Ar/N příslušně. Při použití různých pracovních plynů bylo pozorováno zlepšení klíčení a parametru růstu kličku merlíku bílého. Nejlepší výsledky byly dosaženy při dlouhém ošetření semen (48 minut).

### 2.3.3. Použití studené plazmy při atmosférickém tlaku

Pro použití studené plazmy při atmosférickém tlaku existuje několik typů výboje, například dielektrický bariérový výboj (DBV) a plazmový paprsek (plasma jet), které jsou předmětem stejného zájmu jako plazma nízkotlaká. Zájem o tento typ výboje vyplývá ze skutečnosti, že pro dosažení vakua není nutný žádný čerpací systém.

Použití plazmového paprsku a dielektrického bariérového výboje pro ošetření slunečnicových semen a srovnání jejich vlivu na rostoucí parametry semen je dobře popsáno v práci Sarapirom a Yu (2021). Klíčivost semen roste až do 100 % ve

srovnání s kontrolou (80 %) při zvětšení času ošetření při DBV metodě. Při použití plazmového paprsku klíčivost semen dosahují maximální hodnoty při výkonu plazmy od 0,41 do 0,61 a času ošetření 15 s. Taky celkové délky výhonku + kořene na 7 den pro DBV a plazmový paprsek byly větší na 13 % a 44 % resp, a absorpce vody semínkem byl minimálně dva krát rychlejší pro obě metody.

Použití dielektrického bariérového výboje je dobře popsané pro ošetření semen pšenice (Dobrin et al., 2015; Butsche et al., 2016), růžičkové kapusty (Butscher et al., 2016), ředkve (Sarinont et al., 2016) a špenátu (Ji et al., 2016). Ošetření osiv pšenice dielektrickým bariérovým výbojem vede ke zvýšení klíčivosti pozorované pro všechny zkoumané podmínky úpravy. Také kořeny a výhonky po ošetření semen byly delší a těžší než u neošetřených. Největší zvýšení délky bylo získáno pro semena ošetřená v plazmě po dobu 15 min. V tomto případě je průměrná délka kořene  $36,49 \pm 0,46$  cm, zatímco v případě kontrolních vzorků, průměrná délka kořene byla  $32,89 \pm 0,27$  cm. Suchá hmotnost kořenů v tomto případě dosáhla hodnoty 1,06 g, což je mnohem vyšší ve srovnání s kontrolou (0,78 g). Tento účinek byl doprovázen snížením zdánlivého kontaktního úhlu z  $92^\circ$  (kontrolní vzorky) na  $53^\circ$  (vzorky ošetřené plazmou), což odpovídalo vyšším absorpčním vlastnostem ošetřených semen (Dobrin et al., 2015). Stejně jako na zvýšení klíčivosti a fyzických parametrů semen má zpracování v dielektrickém bariérovém výboji velký vliv na inaktivaci povrchu semen (Butsche et al., 2016). Experimenty prokázaly, že redukce endospermu u *Geobacillus stearothermophilus* není způsobena tepelnými, mechanickými nebo elektrickými stresovými faktory. Hlavními deaktivujícími mechanismy jsou plazmové zpracování a chemické rozprašování. Funkční vlastnosti zrn pšenice (pádové číslo, obsah lepku) nejsou negativně ovlivněny tímto ošetřením. Redukce mikroorganismů na povrchu semen bylo dosaženo i při ošetření růžičkové kapusty, kde počet *E. coli* se snížil na 3.4 logaritmické jednotky (Butscher et al., 2016). Zvýšení rychlosti růstu osiva ředkve bylo dosaženo při použití vzduchu, O<sub>2</sub>, a NO (10 %) jako pracovního plynu (Sarinont et al., 2016). V další práci se zvýšila klíčivost a suchá hmotnost sazenic špenátu po použití krátkodobého ošetření osiva pomocí pulzního dielektrického bariérového výboje vysokého napětí (Ji et al., 2016). Při dlouhém působení plazmatu na semena bylo prokázáno snížení klíčení a růstu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití N<sub>2</sub> plazmy, při použití vzduchu, při použití plynu byly výsledky horší.

Semena hnědé rýže (Lee K.H. et al, 2016) a semena ženšenu (Lee Y. et al, 2021) taky byly ošetřeny pomocí DBV, a pozitivní účinek byl dobře popsán. Dvacetiminutové ošetření plazmou vedlo ke snížení počtu bakterií přibližně o 2,30 log CFU/g. Po pětiminutovém ošetření plazmou se pH semen hnědé rýže mírně snížilo a rychlost absorpce vody se významně zvýšily, zatímco tvrdost významně poklesla. Tim se prokázalo, že ošetření studenou plazmou může zlepšit mikrobiální kvalitu semen hnědé rýže a způsobit mírné změny fyzikálně-chemické kvality (Lee K.H. et al, 2016). Vliv ošetření studenou plazmou na zlepšení klíčení semen a povrchovou sterilizaci semen ženšenu bylo prozkoumáno pomocí DBV v argonu nebo směsi argon/kyslík (Lee Y. et al, 2021). Semena ošetřená plazmou v Ar nebo Ar/O<sub>2</sub> vykazovala vyšší klíčivost (93,5 %) ve srovnání s neošetřenými kontrolami (79,5 %). Kromě toho ošetření plazmou vykazovalo in vitro antifungální aktivitu a tři krát snižovalo závažnost onemocnění hniloby.

Smáčivost a procesy klíčení v semenech mohou být posíleny interakcemi na povrchu semen s aktivními částicemi (reaktivní druhy kyslíku a dusíku, ionty) a UV zářením z plazmy (Šerá et al., 2010; Zahoranová et al., 2016; Meng et al., 2017; Grzegorzewski et al., 2010). Filatova et al (2011) zjistili, že účinek chemického plazmového ošetření hraje důležitou roli v biochemických procesech semen a klíčení semen. Bylo také poznamenáno, že doba ošetření a typ pracovního plynu hrály zásadní roli (Meng et al., 2017; Filatova et al., 2013). Například krátká doba ošetření semen (od 4 do 7 minut) dielektrickým bariérovým výbojem ve vzduchu, N<sub>2</sub> a Ar byla prokázána jako přínosná pro rychlost klíčení, příjem vody, délku kořenů a výhonků pšenice, zatímco nadměrná expozice poškodila semena a vyústila v dramatické snížení klíčivosti (Meng et al., 2017).

Účinek chemických transformací vyvolaných ošetřením dielektrickým bariérovým výbojem semen pšenice byl sledován podrobnější analýzou, který zjistil silnější a slabší nárůst dusičnanů v semenech (Los et al., 2019). Současně nebyla zjištěna tvorba H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a to i přesto, že tento druh je snadno generovatelný a běžně se vyskytuje v plazmatu za atmosférického tlaku při normální nebo nadměrné vlhkosti.

Účinek ošetření plazmou není jen na povrchu semen, protože účinné látky mohou pronikat z plazmy přes póry dovnitř semene a ovlivňovat fyziologické reakce uvnitř (Šerá et al., 2010; Zahoranová et al., 2016; Meng et al., 2017). Kromě toho morfologie samotného povrchu semen může být modifikována interakcí s plazmou. Šera et al (2010) a Meng et al (2017) ukázali, že ošetření plazmou změnilo topografii

povrchu v důsledku jeho narušení leptání a/nebo eroze. Stejný efekt na povrchu a uvnitř semen pšenice pozorovali [Guo et al. \(2018\)](#), kteří ukázali pomocí rastrovací elektronové mikroskopie, že povrch semen – jeho obaly měly trhliny po 4 min ošetření. Průřezové obrázky semen ukázaly, že zrna škrobu unikají z proteinové retikulární tvorby, což zvyšuje množství volného škrobového zrna. Nicméně opatrná optimalizace parametrů plazmatického ošetření může mít za následek dobrou retenci původní morfologie povrchu semen ([Los et al., 2019](#)).

Dalším důležitým způsobem úpravy semen je použití plazmového paprsku při atmosférickém tlaku. Například použití atmosférického dielektrického bariérového paprsku s plynem argonu pro ošetření ředkviček bylo prezentováno v práci [Marta \(2016\)](#). Po 7 dnech pěstování byla délka kořene a délka stonku u ošetřených vzorků mnohem větší než u kontrolních vzorků, a hmotnost sušiny vzrostla o 9 - 12 %. V dalším případě byl použit korónový plazmový paprsek vyrobený v atmosféře suchého vzduchu pro ošetření osiv řepky ([Puligundla et al., 2017](#)). Výsledky prokázaly, že tato metoda má dobrý efekt na inaktivaci mikroorganismů na povrchu semen např.: aerobních bakterií, plísní a kvasinek, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., u kterých se snížila koncentrace na 1.2-2.2 log CFU/g při době ošetření 3 minuty. Také bylo ukázáno, že plazmová úprava semen po dobu větší než 2 minuty má pozitivní účinky na klíčení a růst zárodka rostliny bez vlivu na fyzikálně-chemické a senzorické vlastnosti.

Výše představené metody jsou jen částí metod, které se dnes používají. Velmi dobrý přehled je uveden v knize [Ohta \(2016\)](#) a článku [Randeniya \(2015\)](#) a [Starič \(2020\)](#), kde je představen popis a statistika všech důležitých studií o plazmovém ošetření semen, které byly zpracovány za poslední dobu.

Použití metod využívajících ošetření osiv plazmou je nový vědecký směr, který ještě není plně prostudován. Proto disertační práce na toto téma má inovativní potenciál pro studium vlivu různých typů studené plazmy na klíčení, růst zárodka rostliny, fyzikálně-chemické a senzorické vlastnosti semen, na stav materiálu na povrchu osiv (mikroorganismy a bakterie) a další důležité vlastnosti. V připravené disertační práci jsou představeny výsledky a srovnávací analýza vlivu vysoko frekvenční plazmové trysky a dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku a, také, radiofrekvenční nízkoteplotní výboje za sníženého tlaku na růstové a klíčící procesy semen pšenice, kukuřici, sóji a ječmeni. Tyto výsledky byly částečně publikovány v impaktovaném časopise, článek je uveden v příloze této práce.

### **3. Cíl a hypotézy**

#### **3.1. Cíl disertační práce**

Hledání možnosti uplatnění úprav osiv nízkoteplotním plazmatem v tuzemském semenářství a zpracování podkladů pro tvorbu metodiky aplikace těchto úprav u různých druhů polních plodin. Zpracování podrobnějších informací k úpravě osiv by mohlo napomoci k realizaci těchto úprav v semenářských firmách a zvýšení konkurenceschopnosti českých osiv na tuzemském i zahraničním trhu.

Hlavním cílem práce je ověřit vliv různých typů studené plazmy (plazmové trysky a dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku, a radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje generovaného při sníženém tlaku) na růstové a klíčící schopnosti semen pšenice, ječmene, kukuřice a sóji, a srovnávací analýza tohoto vlivu.

#### **3.2. Hypotézy disertační práce**

Hlavními vědeckými hypotézami práce je:

- Aplikace nízkoteplotního plazmatu má pozitivní vliv na klíčení, vzházení, růst rostlin a přetrvává až do výnosu.
- Nízkoteplotní plazma ovlivňuje morfologické změny na povrchu semen, což ovlivní zvýšení rychlosti příjmu vody.

## 4. Zvolené metody zpracování a použitý biologický materiál

### 4.1. Materiál a metody.

#### 4.1.1. Charakteristika použitého biologického materiálu

Pro řešení byla vybrána srovnávací analýza vlivu různých typů plazmového ošetření (plazmová tryska a dielektrický bariérový výboj za atmosférického tlaku a radiofrekvenční nízkoteplotní výboj generovaný při sníženém tlaku) na klíčení a růst semen. Ke studiu vlivu různých typů plazmového ošetření byly použity odrůdy ozimé pšenice roku 2016, odrůdy jarního ječmene roku 2017 a jedna odrůda kukuřice a sóji roku 2018.

Plazmové ošetření osiv a část analýzy semen řešeny na katedře makromolekulární fyziky (Karlova univerzita v Praze, Matematicko-fyzikální fakulta). Testy růstových schopností (klíčivost, vzházivost, polní pokusy) realizovány na katedře agroekologie a rostlinné produkce (Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů).

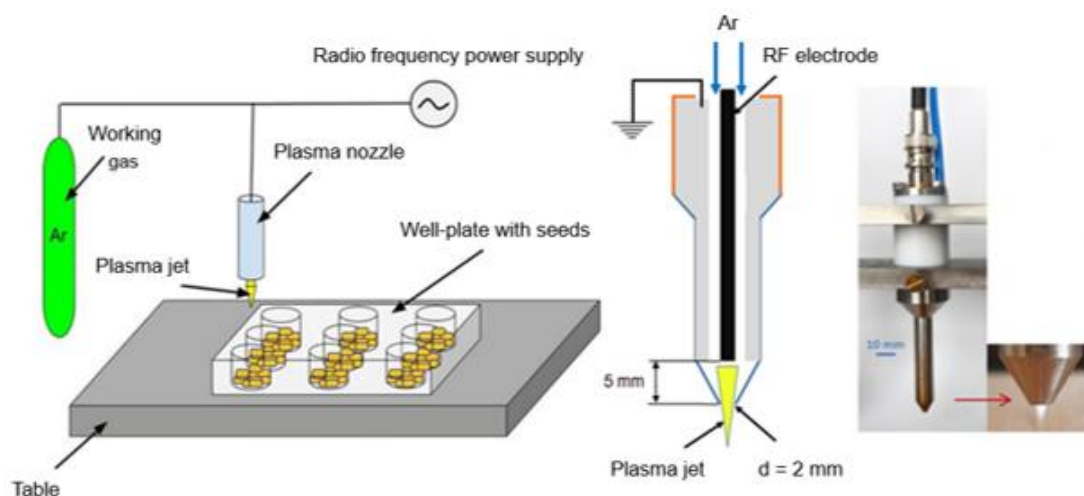
#### 4.1.2. Experimentální zdroje a proces plazmového ošetření

*Vysokofrekvenční plazmová tryska za atmosférického tlaku.*

Schéma plazmové trysky za atmosférického tlaku a její uspořádání pro ošetření semen pšenice je znázorněno na *Obrázku 2*. Pro zapálení netermálního plazmového paprsku byl použit radiofrekvenční (rf) zdroj napájení (Dressler Ceasar, 13,56 MHz), který pak byl použit i pro ošetření semen. Jako pracovní plyn byl vybrán argon. Podrobný popis vysoko frekvenční plazmové trysky uvádí [Dinescu et al., \(2007\)](#) a [Acsente et al. \(2016\)](#). Plazmový paprsek je tvořen z emisní části o délce asi 2 mm a dosvitem. Plazmová tryska byla normálně fixována nad sterilní 12-ti jamkovou polystyrenovou deskou (Greiner bio-one). Semena byla vložena do jamek destičky, a v každé jamce bylo 20 semen. Homogenity ošetření osiva bylo dosaženo mícháním semen pomocí protékajícího argonu vycházejícího z trysky. Osivo bylo ošetřeno při průtoku Ar (4 l/min) a výkonu (30 W). Dřívější studie zjistila, že tryska používaná za podobných parametrů produkovala elektronové hustoty  $10^{14} \text{ cm}^{-3}$  a teplotu plynu 350 K na konci emisní části proudu ([Teodorescu et al., 2015](#)). V naší práci bylo ošetření osiva prováděno buď ve vzdálenosti 20 mm nebo 24 mm mezi



tryskou a dnem jamek, přičemž obě vzdálenosti poskytovaly úpravu v dosvitu. Doba zpracování se pohybovala od 15 do 300 s.



*Radio frequency power supply* – radiofrekvenční napájecí zdroj s vysokým napětím.

*Plasma nozzle* – plazmová trubka.

*Plasma jet* – plazmová tryska.

*Well-plate with seeds* – deska na semena.

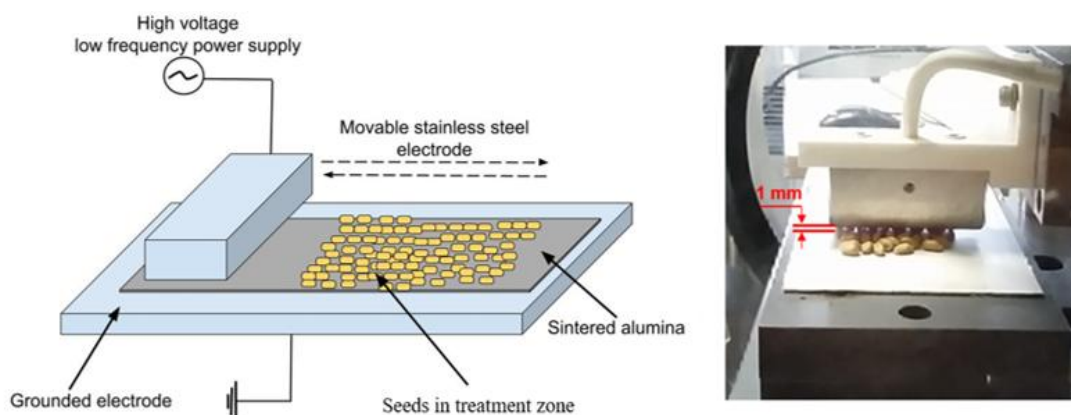
*RF electrode* – radiofrekvenční elektroda.

*Obrázek 2.* Schematické znázornění radiofrekvenční plazmové trysky za atmosférického tlaku použitého pro ošetření semen.

*Dielektrický bariérový výboj za atmosférického tlaku.*

Schematický diagram nastavení dielektrického bariérového výboje (DBV), který byl použit pro zpracování semen, je uveden na *Obrázku 3*. Podrobný popis nastavení dielektrického bariérového výboje uvádí [Kuzminova et al. \(2014\)](#). Dielektrický bariérový výboj byl zapálen v laboratorním vzduchu mezi dvěma deskovými elektrodami. Horní elektroda (20 mm×20 mm×50 mm) byla vyrobena z nerezové oceli a byla napájena zdrojem vysokého napětí pracujícího při 22,5 kHz. Spodní elektroda je uzemněna k ocelové desce (72 mm×160 mm), která je pokryta sintrovaným oxidem hlinitým o tloušťce 1 mm. Proces zpracování byl prováděn při výkonu 30 W a napětí 10 kV<sub>peak-to-peak</sub>, konstantně udržovaném ve všech experimentech. Semena byla umístěna na spodní elektrodu, zatímco horní elektroda byla posunuta o 1 mm nad povrchem semen a umožnila vratný pohyb při rychlosti 40 mm/s. Dřívější studie ukázala, že dielektrický bariérový výboj probíhá ve vláknitém režimu s proudovými pulsy v průměru při 300 mA, trvání pulsu 0,1 μs a s počtem pulzů 5×10<sup>4</sup> s<sup>-1</sup> cm<sup>-2</sup> ([Kuzminova et al., 2014](#)). Experimenty byly prováděny s

různými časy ošetření v rozmezí od 2 do 10 s, což odpovídá počtu skenů od 4 do 20. Pro každý experiment bylo použito 240 semen.



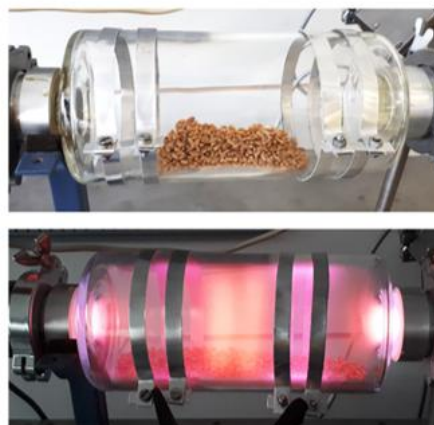
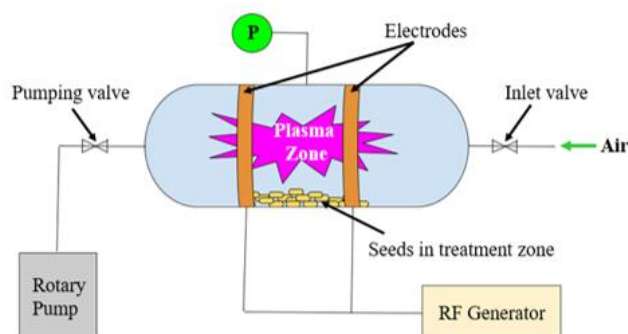
*High voltage low frequency power supply* – nízkofrekvenční napájecí zdroj s vysokým napětím.  
*Movable stainless-steel electrode* – pohyblivá elektroda z nerezové oceli.  
*Sintered alumina* – slinutý oxid hlinitý.  
*Seeds in treatment zone* – semena pšenice v ošetřovací zóně.  
*Grounded electrode* – uzemněná elektroda.

*Obrázek 3.* Schémata dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku použitého pro ošetření semen.

#### *Radiofrekvenční nízkoteplotní výboj za sníženého tlaku*

Ošetření semen při této metodě bylo prováděno v reaktoru, který se skládá ze skleněné trubice a vnějšími kroužkovými elektrodami (*Obrázek 4*). Pro zapálení výboje byl použit radiofrekvenční (rf) zdroj napájení (Dressler Ceasar, 13,56 MHz). Reaktor byl čerpán do vakua pomocí rotační pumpy. Základní tlak a tlak při kterém bylo zahájeno ošetření semen plazmatem byl 1–2 Pa a 40 Pa. Proces ošetření semen byl prováděn při výkonu 30 W a semena byla umístěna na spodní části reaktoru, přičemž pro každý experiment bylo použito množství osiva v rozsahu 20–50 semen na jeden experiment podle jejich velikosti.

Osivo bylo ošetřeno ve výboji vzduchu při průtoku 10 sccm (standard cubic santimeter per minuter). Vzduch byl do reaktoru přiváděn pomocí rohového ventilu s možností nastavení prosakování. Doba zpracování se pohybovala od 15 do 300 s. Podrobný popis nastavení a používání skleněné trubice a radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku uvádí [Choukourov et al. \(2003\)](#).



*RF Generator* – radiofrekvenční generátor.  
*Inlet valve* – napouštěcí ventil.  
*Plasma Zone* – plazmová zóna.  
*Electrodes* – elektrody.  
*Rotary Pump* – rotační pumpa.  
*Seeds in treatment zone* – semena pšenice v ošetřovací zóně.

Obrázek 4. Schémata radiofrekvenčního nízkoteplotního výboj za sníženého tlaku použitého pro ošetření semen.

Všechny použité metody a parametry pokusů ošetření osiva jsou shrnuty v jedné tabulce (*Tabulka 1*).

Tabulka 1. Parametry pokusů ošetření osiva pro všechny použité metody.

Metoda ošetření	Tlak	Výkon, W	Plyn	Doba ošetření, s
Plazmová tryska	Atmosférický	30	Argon	od 15 do 300
Dielektrický bariérový výboj	Atmosférický		Vzduch	od 2 do 10
Radiofrekvenční nízkoteplotní výboj	40 Pa		Vzduch	od 15 do 300

## 4.2. Měření teploty

Teplota uvnitř trysky plazmového paprsku byla monitorována termální kamerou FLIR i3. Pro experimenty v dielektrickém bariérovém výboji a radiofrekvenčním nízkoteplotním výboji byly použity 11-stupňové vertikální pásy (RS Components Sp. Z. O.) s rozsahem od 0 do 50 °C. Pro studium vlivu teploty na klíčivost semen pšenice bylo použito k zahřívání topné zařízení WTC BINDER.

### 4.3. Stanovení zdánlivého kontaktního úhlu a měření příjmu vody

Smáčivost povrchu semen byla zkoumána měřením zdánlivého kontaktního úhlu (Bormashenko et al., 2015; Marmur et al., 2017) prováděného statickou metodou s deionizovanými kapičkami vody (~ 3 ml) při pokojové teplotě. Byl použit goniometr konstrukce MFF UK a CCD kamera. Průměrná hodnota zdánlivého kontaktního úhlu byla získána opakováním každého měření pětkrát. Pro testy příjmu vody byla semena namočena ve vodě v Petriho miskách. Osivo pro jednotlivé testy bylo rozděleno do 4 opakování po 10 semenech. Pro každý bod v rozsahu od 0 do 24 h byla u semen stanovena hmotnost. Hmotnost absorbované vody byla vypočtena jako rozdíl mezi hmotnostmi namočených a suchých semen.

### 4.4. Testy klíčivosti a hodnocení produkce biomasy

Změny ve vlastnostech semen byly sledovány a hodnoceny pomocí testů klíčivosti a byl hodnocen i růst biomasy v laboratorních podmínkách. Testy vycházely z metodiky ISTA. Semena byla umístěna do plastových boxů na filtrační papír při 20 °C. Do každého plastového boxu byla přidána voda (30 ml). Pro jednu experimentální variantu bylo použito 200 semen, která byla rozdělena do 4 opakování po 50 semenech. Klíčivost byla hodnocena každých 24 hodin po dobu 7 dnů. Semena se zdravými kořeny a vegetačním vrcholem byla považována za klíčivá. Pro měření růstu nebo parametry biomasy klíčence semen (průměrná délka, hmotnost suché biomasy kořenů a výhonků, a poměr kořene k výhonku) vyklíčená semena byla zasazena do inertního písku ve stejných plastových boxech na 21 dní, s přídatkem 30 ml vody každý třetí den. Výsledné rostliny byly poté vysušeny a u rostlin byly změřeny parametry vytvořené biomasy. Všechny prezentované parametry, jako je klíčivost po 7 dnech, průměrná délka, suchá hmotnost kořenů a výhonků, a příjem vody byly vyjádřeny jako střední hodnota ± standardní chyba vypočtená podle následující rovnice:

$$\Delta = \sqrt{\sum (x_i - \langle x \rangle)^2 / n \cdot (n - 1)},$$

kde  $\Delta$  – vypočtená standardní chyba,  $x_i$  – naměřené hodnoty,  $\langle x \rangle$  - střední hodnota a  $n$  – počet naměřených hodnot.

Střední doba klíčení byla vypočtena jako podíl sumy denních klíčivostí násobených pořadovým číslem dne k celkovému počtu vyklíčených semen. Poměr kořene k

výhonku (R/S) byl vypočítán z průměrných hodnot hmotnosti suché biomasy kořene a suché hmotnosti výhonku. Na všech obrázcích je rozptýl hodnot zobrazen jako chybové úsečky představující standardní chybu průměrů.

#### **4.5. Polní pokusy**

Polní pokusy byly založeny v roce 2017/2018 na certifikované ekologické části a na konvenční ploše na výzkumné stanici Uhřetěves, která je v katastrálním území pražské městské části Praha 22. Polní pokusy byly založeny se semeny ozimé pšenice a jarního ječmene. Pro výzkum semen pšenice byly použity dvě odrůdy Annie a Citrus. Pro výzkum semen ječmene byly použity tři odrůdy Kampa, Grace a Azit. Pozemky pro setí semen byly rozděleny na parcely, každá z nich měla plochu 12,5 metrů čtverečních. Pro setí jedné parcely bylo použito 5000 semen pšenice a 4000 semen ječmene. Pro každý typ plochy a odrůdy pšenice byly vybrány 4 parcely na ošetření pomocí plazmatu a jedna parcela na neošetřené kontrolní vzorky. Pro každou odrůdu semen ječmene byly vybrány 3 parcely na ošetření pomocí plazmatu a jedna parcela na neošetřené kontrolní vzorky, pro setí jsme použili jen Eko plochu. Celkem bylo zaseto 20 parcel (5 parcel pro každý druh ploch a odrůdu) pšenice a 12 parcel (4 parcel pro každý druh odrůdu) ječmene. Každá parcela měla tři opakování (A, B a C). Setí parcel bylo provedeno v roce 2017 pro semena pšenice a v roce 2018 pro semena ječmene. Sklizeň proběhla v roce 2018. Všechny prezentované parametry byly vyjádřeny jako střední hodnoty ze třech opakování (A, B a C).

K ošetření pšenice byl použit dielektrický bariérový výboj (doba ošetření 1 s a 2,5 s) a plazmová tryska (doba ošetření 15 s a 30 s) za atmosférického tlaku. K ošetření semen ječmene byl použit jen dielektrický bariérový výboj za atmosférického tlaku s dobou ošetření 1, 2,5 a 3,5 s. Tyto metody a krátká doba ošetření osiva byly zvoleny na základě výsledků níže uvedených laboratorních pokusů a studia odborné literatury.

#### **4.6. Statistické vyhodnocení**

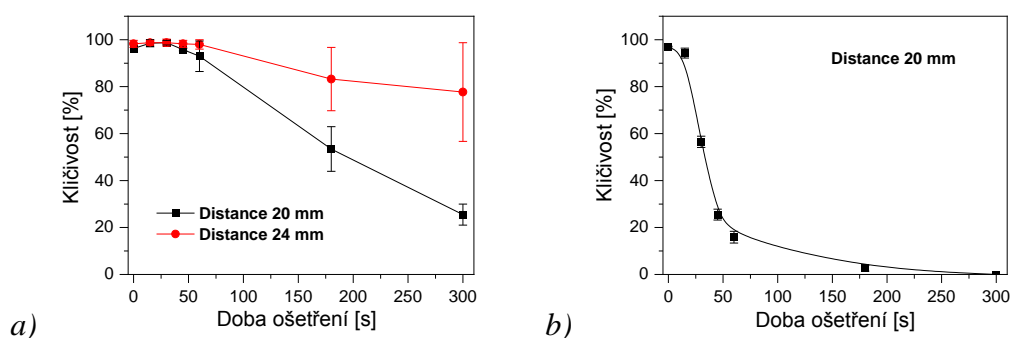
Statistické vyhodnocení vlivu jednotlivých faktorů bylo provedeno v programu SAS metodou ANOVA. Pro podrobnější vyhodnocení rozdílů mezi průměry bylo použito vícenásobné porovnání průměrů metodou Tukey HSD test.

## 5. Výsledky a diskuze

### 5.1. Klíčivost semen

#### 5.1.1. Vliv ošetření osiva plazmovou tryskou

Radiofrekvenční argonovou plazmovou tryskou za atmosférického tlaku byly ošetřeny semena pšenice a ječmene, byla sledována různá délka působení plazmy při dvou vzdálenostech mezi tryskou a dnem jamky (Obrázek 2). Obrázek 5a a 5b ukazuje klíčivost neošetřených (0 s) a ošetřených semen po 7 dnech klíčení. Klíčivost semen pšenice (Obrázek 5a) se snížila při ošetření nad 45 s, přičemž tento pokles byl větší při menší vzdálenosti od trysky. Například při expoziční době 300 s a vzdálenosti 20 mm klíčivost klesla na 26 %. Na druhou stranu lze poznamenat, že doba ošetření plazmou <45 s nevedla ke změně v klíčení.

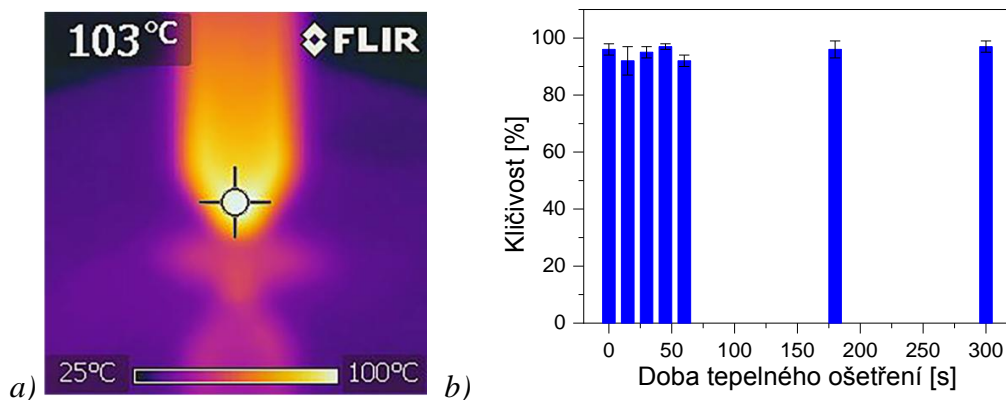


Obrázek 5. Klíčivost po 7 dnech u semen a) pšenice a b) ječmene ošetřených při různých expozičních časech (0-300 s) a vzdálenostech (20 mm a 24 mm).

Ošetření semen ječmene plazmovou tryskou při vzdálenosti 20 mm má negativní efekt na klíčivost semen (Obrázek 5b). Klíčivost vlivem ošetření velmi rychle klesá. Klesá již při minimální době plazmového ošetření a pokles pokračuje až na nulu při expoziční době 300 s. Negativní efekt na klíčení semen pšenice a ječmene může zahrnovat vliv různých faktorů a účinků výboje.

Plazma může interagovat s povrchem prostřednictvím komplexních mechanismů zahrnujících UF záření, přenos tepla, nabitě částice, chemicky aktivní látky atd. V některých případech může UF záření vést k určitým modifikačním účinkům, ale spíše po prodloužené době expozice v rozsahu hodin (Alexieva et al., 2001; Rupiasih et al., 2016). Měření optické emisní spektroskopie byla prováděna dříve pro stejný plazmový paprsek pracující za podobných podmínek (Acsente et al.,

2016). Měření aktivní plazmatické zóny ukázala přítomnost emisí z atomového argonu a kyslíku ve viditelné a IČ oblasti. Velmi slabá emise byla také detekována v UF oblasti z molekulárního dusíku a z OH radikálů; žádné emise však nebyly pozorovány při  $\lambda < 300$  nm. Vzhledem k tomu, že naše experimenty probíhaly v dosvitu daleko od emisní části paprsku, věříme, že UF záření nemělo významný vliv na proces úpravy semen ani následné klíčení.

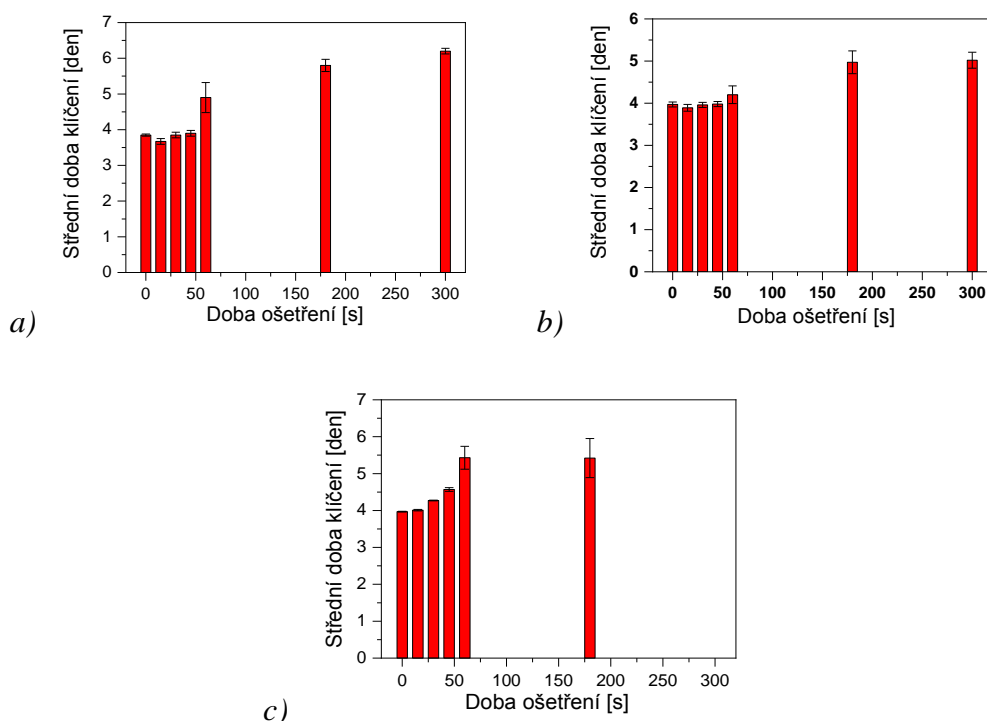


Obrázek 6. a) Teplota plazmové trysky a jejího okolí měřená termální kamerou, b) klíčivost semen pšenice zahřátých na 90 °C po různou dobu.

Teplota plazmové trysky a výstupního plynu byla stanovena termální kamerou. Nejvyšší teplota 103 °C byla detekována na vrcholu trysky (Obrázek 6a). Vzhledem k tomu, že polystyrenová jamka nevykazovala žádné známky tání po 300 s ošetření ve vzdálenosti 20 mm, bylo dohodnuto, že teplota plynu nepřesahuje teplotu tání polystyrenu, která je 91,0 °C (Chuai et al., 2001). Pro studium vlivu teploty na klíčení byla vybrána semena pšenice, osivo bylo udržováno v sušárně na dobu 15-300 s při teplotě 90 °C. U všech vzorků nebyly pozorovány žádné změny po 7 dnech klíčení (Obrázek 6b). Tento výsledek souhlasí s dřívější studií, která ukazuje, že klíčivost semen pšenice nebyla ovlivněna teplotou 100–110 °C aplikovanou po dobu 15 hodin (Atanasof et al., 1920). Je však třeba zdůraznit, že jiné práce tvrdí, že při ošetření semen pšenice horkým vzduchem s teplotou >70 °C může vést k poškození semen a k redukci klíčivosti (Ghaly et al., 1984; Jiao et al., 2016). Teplota pod 65 °C byla pak považována za bezpečnou pro dezinfekci pšenice (Ghaly et al., 1984; Jiao et al., 2016; Granella et al., 2018). Stejná pravidla lze aplikovat i na semena ječmene, protože vysoké teploty mohou značně ovlivnit klíčivost semen. Například při ošetření semen ječmene horkým proudem vodní páry (99° ± 1 °C) bylo pozorováno vážné snížení klíčivosti při době ošetření delší než 4-6 vteřin

(Dabkevičius et al., 2008). S ohledem na výše uvedené údaje lze předpokládat, že semena ječmene jsou citlivější na vnější vlivy než semena pšenice. Z tohoto důvodu můžeme předpokládat, že i komplexní mechanismy plazmy mohou mít významný vliv na klíčení a další parametry semen ječmene.

V našem případě při analýze vlivu plazmového ošetření na klíčivost pšenice je možné rozlišit následující. Na jedné straně doba vystavení působení plazmatického paprsku po dobu 60 s negativně ovlivnila proces klíčení pšenice hlavně proudem horkého argonu (teplota 103 °C). Na druhé straně, krátká doba ošetření v rozsahu 15–60 s působila stimulaci klíčení pomocí mírné modifikace nebo narušení povrchu osiva, reakcí mezi povrchem semen a aktivním druhem výboje. Tento pozitivní účinek na růst pšenice může být potvrzen zkrácením střední doby klíčení v nejkratším čase zpracování pro obě vzdálenosti (Obrázek 7a, 7b). Při době ošetření 30 s, 45 s a 60 s střední doba klíčení byla podobná kontrolnímu vzorku (0 s ošetření) pro obě vzdálenosti, zatímco semena ošetřená po dobu 15 s ve vzdálenosti 20 mm vykazovala rychlejší klíčivost (3,67 dnů). Nejpomalejší rychlost růstu (6,2 dne) byla detekována ve vzdálenosti 20 mm a po dobu 300 s v důsledku vlivu proudu horkého plynu.



Obrázek 7. Střední doba klíčení semen při různé době zpracování a vzdálenosti od zářiče: a) doba klíčení pšenice při vzdálenosti 20 mm a b) doba klíčení pšenice při vzdálenosti 24 mm a c) doba klíčení ječmene při vzdálenosti 20 mm.

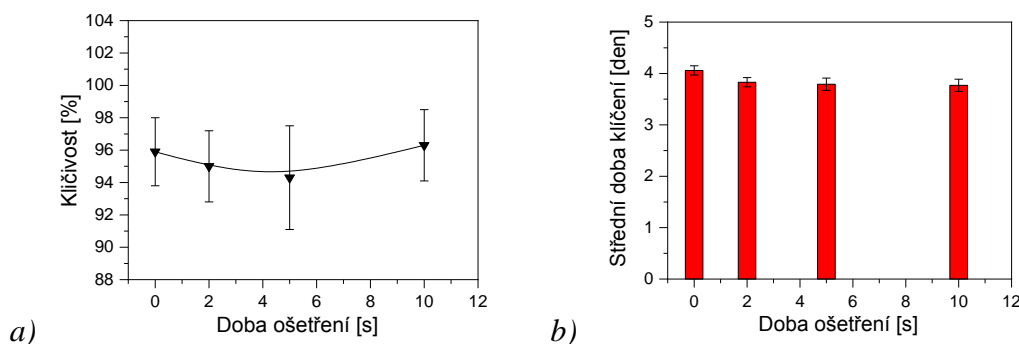


V případě semen ječmene vliv plazmatického paprsku je negativní od nejkratší doby ošetření (*Obrázek 7a*). To znamená, že i po 15 s ošetření je střední doba klíčení semen delší (4.01 dne) ve srovnání s kontrolním vzorkem (3.99 dne). Tento negativní výsledek je způsoben větší citlivostí semen ječmene na vnější faktory. Můžeme tady předpokládat, že klíčení semen je ovlivněno jak dostatečně dlouhým proudem horkého argonu, tak reakcí mezi povrchem semen a aktivním druhem výboje.

### 5.1.2. Vliv ošetření osiva dielektrickým bariérovým výbojem

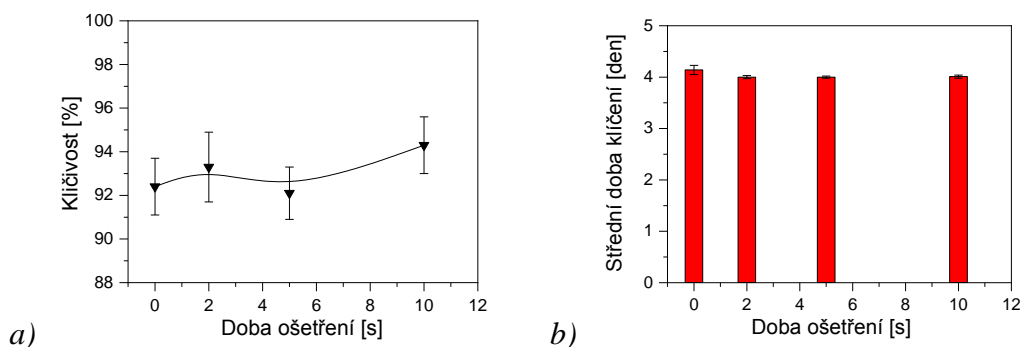
Jako další způsob ošetření semen pšenice a ječmene byl použit dielektrický bariérový výboj za atmosférického tlaku. V tomto případě semena byla v přímém kontaktu s plazmou a vliv UF záření nelze vyloučit. Měření optické emisní spektroskopie ukázala, že výsledky jsou velmi podobné výsledkům získaným pro plazmovou trysku ([Kuzminova et al., 2014](#)). Ve spektrech dominovaly emisní pásy z druhého pozitivního systému molekulárního dusíku při  $\lambda = 310\text{--}390$  nm. Doba ošetření však byla záměrně zvolena tak, aby byla krátká a zahrnovala rozsah 2–10 s; proto předpokládáme, že vliv UF záření je v tomto případě nevýznamný. Teplota nosiče oxidu hlinitého nepřesáhla  $40\pm 3$  °C po 10 sekundách zpracování dielektrickým bariérovým výbojem. Proto jsou růstové vlastnosti semen ovlivňovány převážně chemicky aktivními látkami z výboje a/nebo elektrickým polem.

*Obrázek 8* ukazuje vliv dielektrického bariérového výboje na klíčení a střední dobu klíčení semen pšenice. Mírný pokles střední doby klíčení (*Obrázek 8b*) ze 4,06 dnů u kontrolních semen na 3,77 dnů u ošetřených semen. V důsledku ošetření se tedy růstová schopnost zvyšuje přibližně o 7 %. Tento účinek je přisuzován zvýšení smáčivostí povrchu semen a schopnosti příjmu vody, který bude popsán níže.



*Obrázek 8. a) Klíčení a b) střední doba klíčení semen pšenice ošetřených pomocí dielektrického bariérového výboje.*

V případě semen ječmene je vidět že vliv dielektrického bariérového výboje na klíčení a střední dobu klíčení je velmi malý, ale není negativní ve srovnání s vlivem plazmatického paprsku (Obrázek 9). Na Obrázku 9 je vidět 2 % zvýšení klíčivosti při nezměněné střední době klíčení po ošetření semen po dobu 10 s. Tento malý efekt může být dán malou dobou ošetření a nízkou hodnotou výkonu výboje. Ale pozitivní výsledek ukazuje, že ošetření čistou plasmou podporuje růstové schopnosti semen ječmene, který je velmi citlivý ke vnějším vlivům, například horkému proudu argonu (Obrázek 5b a 7c). Zvýšení výkonu dielektrického bariérového výboje do 80 W a doby ošetření do 15 s zvyšuje schopnost klíčení semen ječmene (Mazandarani et al., 2020). To znamená že dielektricky bariérový výboj je možná nejlepší metoda pro ošetření semen ječmene, což ukazují další výsledky, které budou popsány níže.



Obrázek 9. a) Klíčení a b) střední doba klíčení semen ječmene ošetřených pomocí dielektrického bariérového výboje.

### 5.1.3. Vliv ošetření osiva radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku

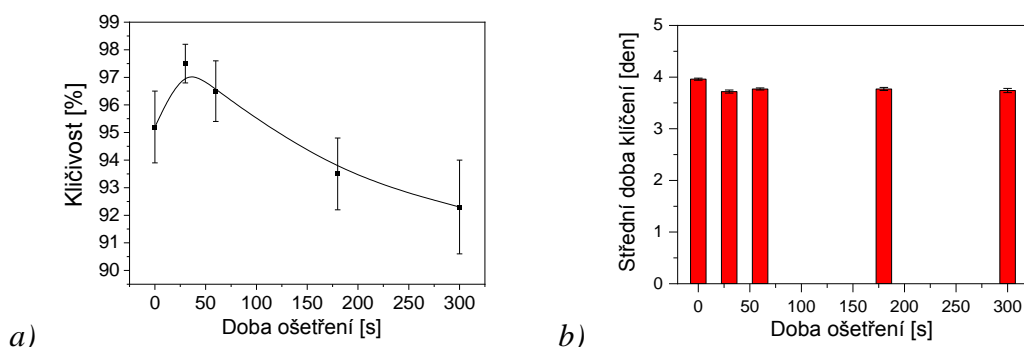
Poslední metoda ošetření semen byla použití radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku. V tomto případě, jako i při DBV ošetření, semena byla v přímém kontaktu s plazmou a její aktivními procesy (UF záření, přenos tepla, nabití částice, chemicky aktivní látky atd.). Také ke všemu výše uvedenému můžeme přidat možný vliv sníženého tlaku, který může ovlivnit vlhkost semen. Teplota výboje za sníženého tlaku nepřesáhla  $44 \pm 3$  °C po 300 sekundách zpracování.

Z technického hlediska, experiment s klíčením semen ječmene nevyšel. Klíčivost všech semen (kontrolních i ošetřených) byla stejně malá, přibližně nižší než 20 %. Důvod tohoto výsledku nebyl stanoven. V současné době existuje velmi málo

literatury na témata vlivu výboje za sníženého tlaku na růstové parametry a vitalitu semen ječmene, které by mohly tento účinek potvrdit nebo vyvrátit. Proto veškeré předpoklady a závěry lze učinit pouze rozбором výsledků vlivu tohoto výboje na parametry růstu a příjmu vody semenem, které budou popsány v další části.

Nelze však popřít fakt, že semena ječmene jsou velmi citlivá na vnější vlivy, jak se ukázalo dříve při ošetření plazmovou tryskou. Můžeme předpokládat, že negativním výsledkem jsou důsledky dlouhodobého kontaktu semen ječmene s výbojem a přítomností semen při nízkém tlaku. Například, v práci [Dawood et al., 2021](#) je ukázáno, že při dlouhodobém působení nízkotlakého plazmatu dochází k rozrušování povrchu osiva, což následně zvyšuje rychlost příjmu vody. Takové poškození povrchu semen ječmene však může vést ke snížení jejich klíčivosti a životaschopnosti. Proto studie vlivu radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku na vitalitu, klíčivost a další růstové parametry semen ječmene musí být opakovány.

V případě plazmového ošetření pšenice pomocí výboje za sníženého tlaku můžeme sledovat podobný efekt vlivu plazmatu na klíčivost, jak bylo ukázáno při ošetření plazmovou tryskou. Tady je patrné, že krátká doba ošetření do 60 s působila stimulaci klíčení. *Obrázek 10a*) ukazuje zvýšení klíčivosti o 2,3 % při ošetření 30s ve srovnání s kontrolním vzorkem. Při době ošetření nad 30 s je patrný mírný pokles klíčivosti. V případě plazmové trysky tento efekt byl dán negativním vlivem horkého argonu (teplota 103 °C). Lze předpokládat, že na klíčivost semen pšenice může také mít vliv doba kontaktu s plazmou a čas strávený ve vakuu. Rahman uvádí, že povrch semen pšenice je narušen a rozpraskává při době ošetření 90 s ([Rahman et al., 2018](#)) což může mít vliv na zvýšení příjmu vody ([Dawood et al., 2021](#)), ale snižuje jejich schopnost ke klíčení.

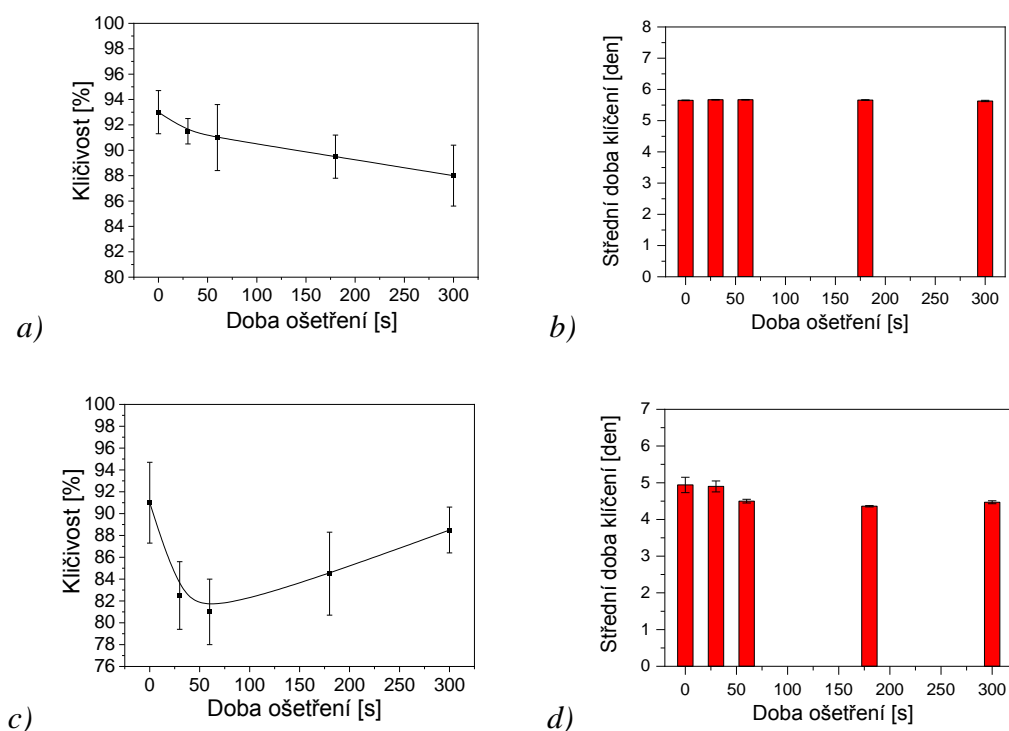


*Obrázek 10. a) Klíčení a b) střední doba klíčení semen pšenice ošetřených pomocí radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku.*

Navzdory poklesu klíčivosti, se střední doba klíčení u všech vzorků semen pšenice ve srovnání s kontrolními zkrátala (Obrázek 10b). Vliv tohoto typu výboje na zvýšení průměrné rychlosti klíčení semen pšenice potvrzuje i práce autora [Rahman et al., 2018](#), kde vzorky byly ošetřeny plazmou po dobu 90 s při výkonu 45 W. Je třeba poznamenat, že krátká doba ošetření (30 s) má nejlepší pozitivní efekt na střední dobu klíčení semen (3,72 dnů) ve srovnání s kontrolou (3,96 dnů).

Při shrnutí výsledků pro semena pšenice v této části můžeme říci, že na jedné straně doba vystavení působení kterémukoliv výboji po dobu 60 s negativně ovlivnila proces klíčení pšenice. Toto je způsobeno vlivem proudu horkého argonu (při ošetření plazmovou tryskou), dobou expozice ve vakuu (při ošetření plazmou za sníženého tlaku) a/nebo přílišné rozpraskávání povrchu semen (při ošetření kterýmkoliv výbojem). Ale, na druhé straně, krátká doba ošetření v rozsahu 15–30 s působí stimulačně na klíčení, především díky mírné modifikaci nebo narušení povrchu osiva.

Dalším druhem osiva, které bylo ošetřeno výbojem za sníženého tlaku jsou semena kukuřice a sóji. U obou druhů osiva byl zaznamenán negativní efekt ošetření ve srovnání s kontrolou (Obrázek 11).



Obrázek 11. a) Klíčení a b) střední doba klíčení semen kukuřice a c) klíčení a d) střední doba klíčení semen sóji ošetřených pomocí radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku.

Klíčivost semen kukuřice mírně klesá se zvýšením doby ošetření až na 88,5% (*Obrázek 11a*) při přibližně stejné střední době klíčení semen, které je srovnatelné s kontrolou 5,65 dnů (*Obrázek 11b*). Tento negativní výsledek může být efektem dlouhého trvání úpravy semen. [Recek et al, 2021](#) ukazuje, že krátkodobé ošetření radiofrekvenčním výbojem v kyslíku (výkon 250 W, doba ošetření do 10 s) způsobuje inaktivaci hub a zvýšení smáčitelnosti semen. Což jako předpoklad může zvýšit klíčivost. Z pokusů je patrné, že snížený tlak do 100 Pa způsobuje desorpce vody ze semen. To znamená, že doba ošetření ve výboji za sníženého tlaku má velký vliv na klíčení semen kukuřice. Čím delší čas zdržení semen pod vlivem vakua a plazmatické aktivní zóny, tím více ztrácejí schopnost klíčit. Na růstovou schopnost kukuřice může mít vliv teplota plazmatu a doba expozice v této teplotě ([Ahn et al, 2019](#)).

Ošetření semen sóji pomocí radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku má také negativní efekt na klíčení (*Obrázek 11c*), ale na rozdíl od semen kukuřice je patrné až při době ošetření přes 60 s. Po této době ošetření klíčivost rostla od 81,0 % do 88,5 %. Střední doba klíčení se zkracovala (pozitivní efekt) s prodloužením hodnocené doby ošetření (*Obrázek 11d*). Střední doba klíčení poklesla na 4,47 dnů ve srovnání s kontrolou kde byla 4,94 dnů. Maximální rychlost klíčení byla dosažena při době ošetření 180 s. Ale celkem pro zlepšení klíčení semen sóji asi bude lepší zvýšit výkon výboje a zkrátit dobu ošetření, což ukazuje i práce [Ling et al, 2014](#). Výsledky ukázaly, že 15 s ošetření heliovou plazmou při výkonu 80 W mělo nejvyšší stimulační účinek na klíčení semen a růst sazenic.

Vypadá to tak, že semena kukuřice a sóji jsou velmi citlivá na vnější vlivy podobně jako semena ječmene. Aby se zvýšila klíčivost těchto osiv, je nutné optimalizovat dobu ošetření (zpracování), výkon výboje, tlak v reaktoru a druh použitého plynu, což může být samostatným tématem dalšího výzkumu.

Další údaje, včetně statistických výpočtů, jsou uvedeny v kapitole „Dodatečná data“.

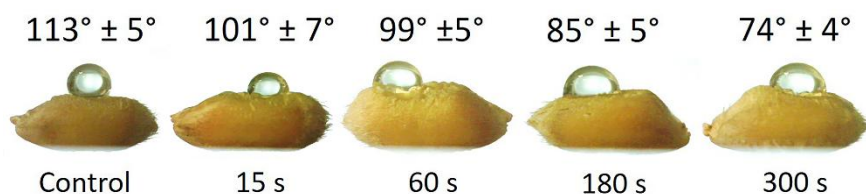
## **5.2. Růstové parametry a příjem vody**

Prostup aktivních druhů částic z výboje dovnitř semen a modifikace povrchu semen jsou hlavními vlivy, které stimulují klíčivost semen. ([Filatova et al., 2014](#); [Bormashenko et al., 2012](#); [Šerá et al., 2010](#); [Zahoranová et al., 2016](#); [Meng et al., 2017](#); [Grzegorzewski et al., 2010](#); [Filatova et al., 2011](#); [Filatova et al., 2013](#); [Los et](#)

al., 2019; Guo et al., 2018; Volin et al., 2000; Mazandarani et al., 2020). Podle literatury se zdánlivý kontaktní úhel na povrchu semen obvykle snižuje, zatímco absorpce vody se zvyšuje při zvýšení doby ošetření. To má pozitivní vliv na střední dobu klíčení (Bormashenko et al., 2012; Dobrin et al., 2015; Mazandarani et al., 2020). Na druhé straně je vliv plazmatické expozice na parametry biomasy, jako je délka výhonků a kořenů, suchá hmotnost biomasy a poměr kořenů k výhonkům (R/S), stále poměrně nejednoznačný. Filatova et al (Filatova et al., 2014; Filatova et al., 2013) uvádějí prodloužení délky výhonků při ošetření rf plazmatem ve vakuu, zatímco klíčivost vzrostla a pak s délkou expozice poklesla. Šera et al (Šerá et al., 2010) zjistili, že po 3 minutách působení mikrovlnné plazmy hmotnost sušiny výhonku byla významně vyšší než u vzorků ošetřených po dobu 10, 20 a 40 minut. Poměr R/S byl vyšší po plazmové expozici 5 minut. Bylo také prokázáno, že při úpravě pomocí dielektrického bariérového výboje všechny parametry biomasy prošly maximem při různých napětích výboje (Guo et al., 2018). Stejný efekt byl ukázán pro semena ječmene, kde maximum bylo dosaženo při výkonu 80 W (Mazandarani et al., 2020). UF záření z výboje může ovlivnit růstové parametry pouze při dlouhé době úpravy (Rupiasih et al., 2016) a horký vzduch nemůže významně ovlivnit hmotnost sazenic při teplotách nižších než 70 °C (Ghaly et al., 1984). Lze konstatovat, že délka výhonků a kořenů, jejich sušina a poměr R/S závisí na typu plazmy používané na ošetření. Příjem vody může být ovlivněn nejen změnou povrchové energie semen, ale i poškozením/prasknutím povrchové hladiny (Dawood et al., 2021; Rahman et al., 2018; Mazandarani et al., 2020; Sarapirom a Yu, 2021).

### 5.2.1. Vliv ošetření osiva plazmovou tryskou

V případě ošetření plazmatickým paprskem semen pšenice bylo zjištěno, že se zdánlivý kontaktní úhel zmenšil ze  $113^{\circ} \pm 5^{\circ}$  pro kontrolní semena na  $74^{\circ} \pm 4^{\circ}$  po expozici 300 s (Obrázek 12).

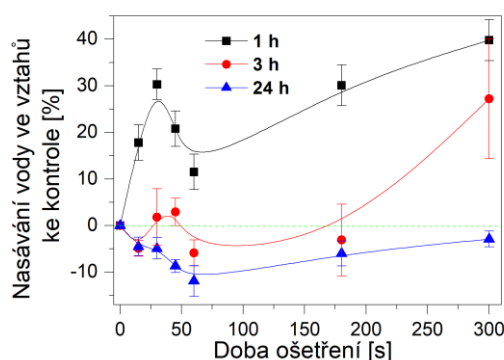


Obrázek 12. Zdánlivý kontaktní úhel kapek destilované vody na povrchu kontrolních a ošetřených semen pšenice.

Vliv ošetření plazmou na příjem vody stěnami pšenice po 1 h, 3 h a 24 h je ukázán na *Obrázek 12*. Data byla přepočtena v procentech vzhledem k neošetřené kontrole. Imbibice vody u pšenice ošetřené plazmou vykazuje nejvyšší rychlost v prvních hodinách absorpce. Podobné výsledky byly popsány Bormashenko et al (Bormashenko et al, 2012), Šera et al (Šera et al., 2010) a Dobrin et al (Dobrin et al., 2015), kteří zjistili nárůst absorpce vody a pokles zdánlivého kontaktního úhlu u semen pšenice ošetřené plazmou. V našem případě při době ošetření v rozmezí 15–30s byl pozorován 20–30 % nárůst absorpce vody, což může být důvodem pro zkrácení střední doby klíčení proti neošetřené kontrole (*Obrázek 7a,b*).

Přínos zrychlené absorpce vody pro klíčení semen a růst rostlin potvrzují i další autoři (Bormashenko et al, 2012; Šera et al., 2010; Dobrin et al., 2015; Meng et al., 2017; Guo et al., 2018; Volin et al., 2000). Stojí za povšimnutí, že rychlost klíčení semen pšenice začíná klesat při době ošetření nad 30 s. To lze vysvětlit účinkem proudu horkého argonu. Ale všechna ošetřená semena ukázala schopnost absorbovat více vody, až o 40 % po první hodině absorpce (*Obrázek 13*), i u variant s kratší střední dobou klíčení a nižší klíčivostí (*Obrázek 5a a Obrázek 7a,b*).

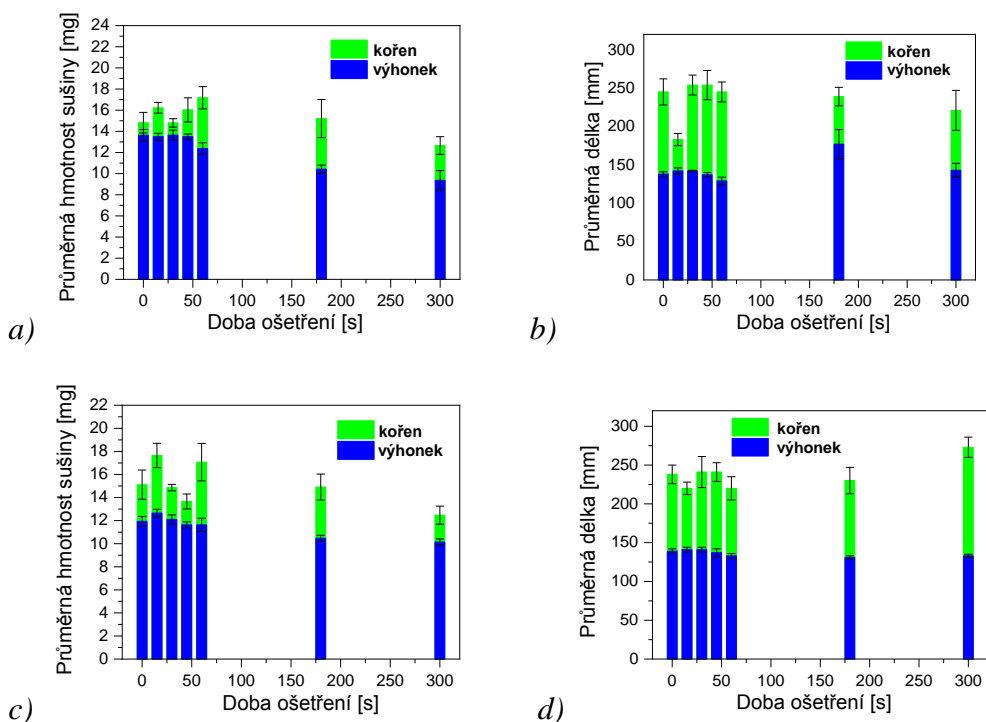
V případě semen ječmene z technických důvodů nejsou zpracována data zdánlivého kontaktního úhlu a příjmu vody pro tuto metodu ošetření. Ale z literatury předpokládáme, že změny zdánlivého kontaktního úhlu budou podobné jako u semen pšenice. V práci Mazandarani et al., 2020 je ukázáno, že ošetření plazmou semen ječmene zvyšuje jejich hydrofilní vlastnosti a příjem vody ve srovnání s kontrolou. Ke zvýšení příjmu vody může dojít v důsledku poškození povrchu semen, což je s největší pravděpodobností jeden z hlavních důvodů negativního vlivu na klíčení semen (*Obrázek 5b*) spolu s vlivem horkého proudu argonu.



*Obrázek 13.* Nasávání vody jedním semenem pšenice ve srovnání s kontrolním vzorkem po 1 h, 3 h a 24 h při vzdálenosti od trysky 24 mm.

Hlavní růstové parametry semen pšenice a ječmene (průměrná délka kořene a výhonků, hmotnost sušiny kořenů a výhonků a poměr R/S) byly hodnoceny po 21 dnech růstu po ošetření plazmou.

Obrázek 14 ukazuje, že průměrná hmotnost sušiny výhonků semen pšenice se snížila s rostoucí dobou expozice. Tento parametr klesl z  $13,63 \pm 0,54$  mg (kontrola) na  $9,37 \pm 0,92$  mg (pro 300 s ošetření) při ošetření ve vzdálenosti od trysky 20 mm (Obrázek 14a), zatímco pouze malá změna hmotnosti sušiny výhonků byla pozorována pro vzdálenost 24 mm (Obrázek 14c).



Obrázek 14. a) Průměrná hmotnost sušiny, b) délka kořene a výhonků při vzdálenosti od trysky 20 mm; c) průměrná hmotnost sušiny, d) délka kořene a výhonků při vzdálenosti od trysky 24 mm pro ošetřená a neošetřená semena pšenice.

Tabulka 2. Poměr délky kořenů k výhonkům (v sušině) pro ošetřená a neošetřená semena pšenice ve vzdálenosti 20 mm a 24 mm.

Doba Ošetření (s)	Root to shoot poměr	
	Vzdálenost 20 mm	Vzdálenost 24 mm
0	$1.09 \pm 0.10$	$1.27 \pm 0.12$
15	$1.20 \pm 0.05$	$1.40 \pm 0.09$
30	$1.09 \pm 0.06$	$1.23 \pm 0.05$
45	$1.19 \pm 0.09$	$1.17 \pm 0.07$
60	$1.39 \pm 0.10$	$1.47 \pm 0.14$
180	$1.46 \pm 0.15$	$1.42 \pm 0.10$
300	$1.35 \pm 0.16$	$1.23 \pm 0.09$



Na druhé straně bylo zjištěno, že průměrná hmotnost sušiny kořenů s délkou expozice nejprve roste a pak klesá (*Obrázek 14a,c*). Posun maximální hodnoty poměru R/S pro vzdálenost 20 mm a 24 mm nastal v době ošetření 180 s a 60 s, respektive (*Tabulka 2*). Největší hodnoty tohoto parametru byly získány pro expoziční dobu 15 s, 60 s a 180 s.

Naše výsledky lze porovnat s údaji z literatury. Například Guo et al. ([Guo et al., 2018](#)) uvádějí, že průměrná hmotnost sušiny, délka výhonku a délka kořenů sazenic prošly maximem pro semena ošetřená při různých výbojových napětích. V našem případě bylo toto pozorováno pouze pro střední hmotnost sušiny kořenů se změnou doby ošetření semen. Také Šera et al. ([Šera et al., 2010](#)) zjistili, že dlouhodobá expozice nízkotlakou plazmou snížila parametry biomasy kořene a výhonku. Účinek je patrný v našem případě pro průměrnou hmotnost sušiny kořene a výhonku (*Obrázek 14a,c*).

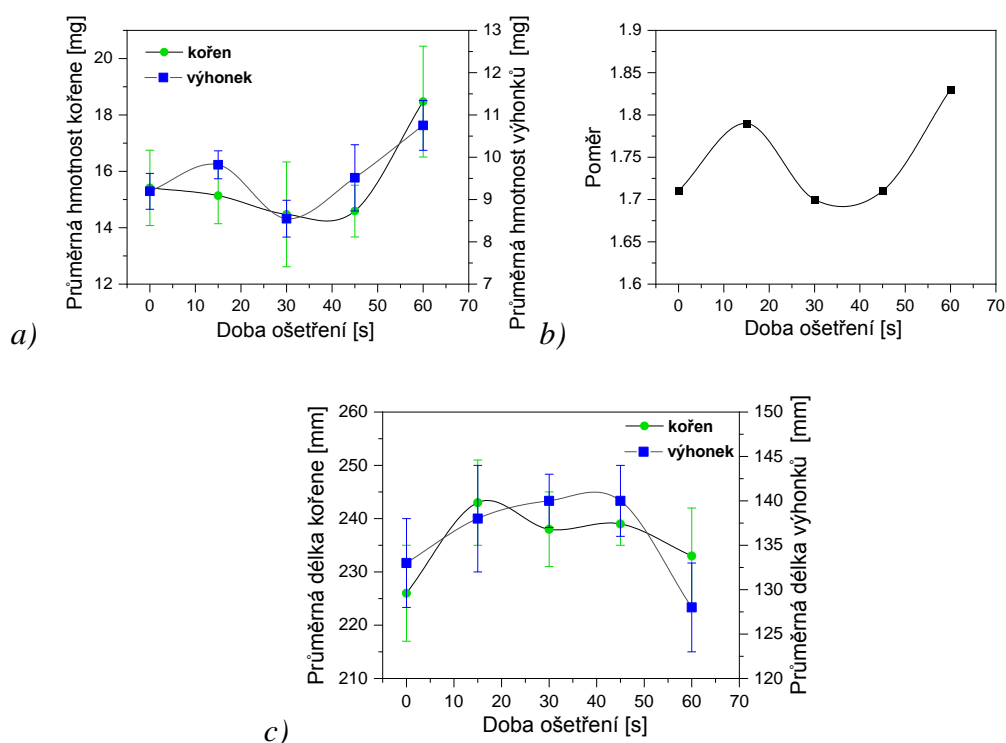
Průměrná délka výhonku byla přibližně stejná u neošetřených a ošetřených semen pro obě vzdálenosti od zářiče (*Obrázek 14b,d*), což je podobné výsledkům práce [Dobrina et al., 2015](#). Rozdíl byl zjištěn pouze pro vzdálenost 20 mm a dobu zpracování 180 s, kdy délka výhonku dosáhla maximální hodnoty  $177 \pm 19$  mm ve srovnání s kontrolními vzorky ( $138 \pm 3$  mm). Ve vzdálenosti 20 mm od zářiče dosáhla průměrná délka kořenů semen ošetřených po dobu 15 s nejnižší hodnoty ( $183 \pm 8$  mm) při dostatečně vysoké hmotnosti sušiny, zatímco při době ošetření 300 s hmotnost sušiny dosáhla minima při poměrně velké délce kořenů. Tento účinek lze lépe pozorovat při ozáření po dobu 300 s při vzdálenosti od zářiče 24 mm, kde maximální délka kořene odpovídá minimální hmotnosti sušiny kořene. Pro tuto vzdálenost bylo také zjištěno, že minimální délka kořenů u rostlin ošetřených 15 s a 60 s odpovídá maximální hmotnosti sušiny.

Lze tedy učinit závěr pro semena pšenice, že krátká doba ošetření plazmatickým paprskem (15–60 s) stimuluje růst kořenového systému osiva pšenice s minimálním dopadem na hmotnost sušiny a délku výhonků. Hlavním faktorem, který ovlivňuje růst je dlouhodobě interakce s průtokem argonu o vysoké teplotě. Proud horkého argonu snižuje růstový potenciál rostlin. Hmotnost sušiny kořene a výhonku také klesala s růstem doby plazmatické expozice, zatímco délka výhonků zůstala přibližně stejná.

I přes negativní vliv plazmy na klíčení semen ječmene byly v analýze růstových parametrů zjištěny zajímavé výsledky. Na rozdíl od semen pšenice,

průměrná hmotnost sušiny kořene ječmene prochází minimem s rostoucí dobou ošetření plazmovou tryskou (Obrázek 15a). Minimální hodnota byla zjištěna po 45 sekundách ošetření ( $14,59 \pm 0,92$  mg) ve srovnání s kontrolními vzorky ( $15,41 \pm 1,30$  mg), zatímco hmotnost sušiny výhonku prochází maximem po 15 s zpracování (ošetřena semena =  $9,82 \pm 0,33$  mg; kontrolní =  $9,19 \pm 0,43$  mg). Po 60 s ošetření však oba parametry vykazovaly maximální hodnoty ve srovnání s neošetřenými vzorky (hmotnost sušiny kořene je  $18,47 \pm 1,96$  mg a hmotnost sušiny výhonku je  $10,75 \pm 0,59$  mg). Přítomnost dvou maxim potvrzuje maximální hodnoty R/S po 15 s a 60 s ošetření (Obrázek 15b). Při zpracování po dobu delší než 60 s semena ječmene ztrácejí svou schopnost růstu.

Délka kořene a výhonku taky prochází maximem při době ošetření semen od 15 s do 45 s. Zatímco délka výhonku zůstává přibližně stejná, délka kořenu začíná mírně klesat po době ošetření delší 15 s (Obrázek 15c). Poslední zajímavost je, že po 60 s ošetření semen je délka výhonku a kořene téměř stejná jako u kontrolních vzorků, ačkoli hmotnost sušiny kořene a výhonku má maximální hodnotu.

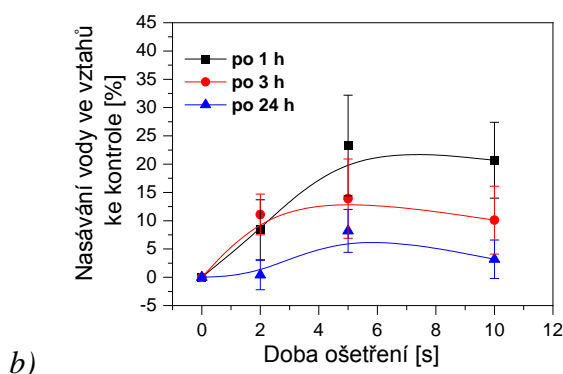


Obrázek 15. a) Průměrná hmotnost sušiny kořene a výhonku, b) poměr délky kořenu k výhonkům (v sušině), c) délka kořene a výhonku při vzdálenosti od trysky 20 mm pro ošetřená a neošetřená semena ječmene.

Podle výsledku získaných pro semena ječmene ošetřených plazmovou tryskou za atmosférického tlaku můžeme udělat následující závěr. Vzhledem k tomu, že semena ječmene jsou velmi citlivá na vnější vlivy, jediným způsobem stimulace růstu a klíčení těchto semen je odstranit vliv proudu horkého argonu a ponechat pouze krátkodobou interakci s plazmovou tryskou. Taky je předpoklad, že zvýšení výkonu výboje má pozitivní efekt, ale hlavním parametrem zůstává doba ošetření, protože dlouhá expozice narušuje integritu obalu semene (Dawood et al., 2021; Rahman et al., 2018; Mazandarani et al., 2020; Sarapirom a Yu, 2021).

### 5.2.2. Vliv ošetření osiva dielektrickým bariérovým výbojem

V případě ošetření semen pšenice a ječmene pomocí dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku je vidět pozitivní vliv této metody ošetření, ale s malým rozdílem. Při ošetření semen pšenice zdánlivý kontaktní úhel ( $113^\circ \pm 3^\circ$  pro kontrolní vzorky) byl dramaticky snížen již po 2 s expozici a zůstal téměř konstantní po delších expozicích (Obrázek 16a).

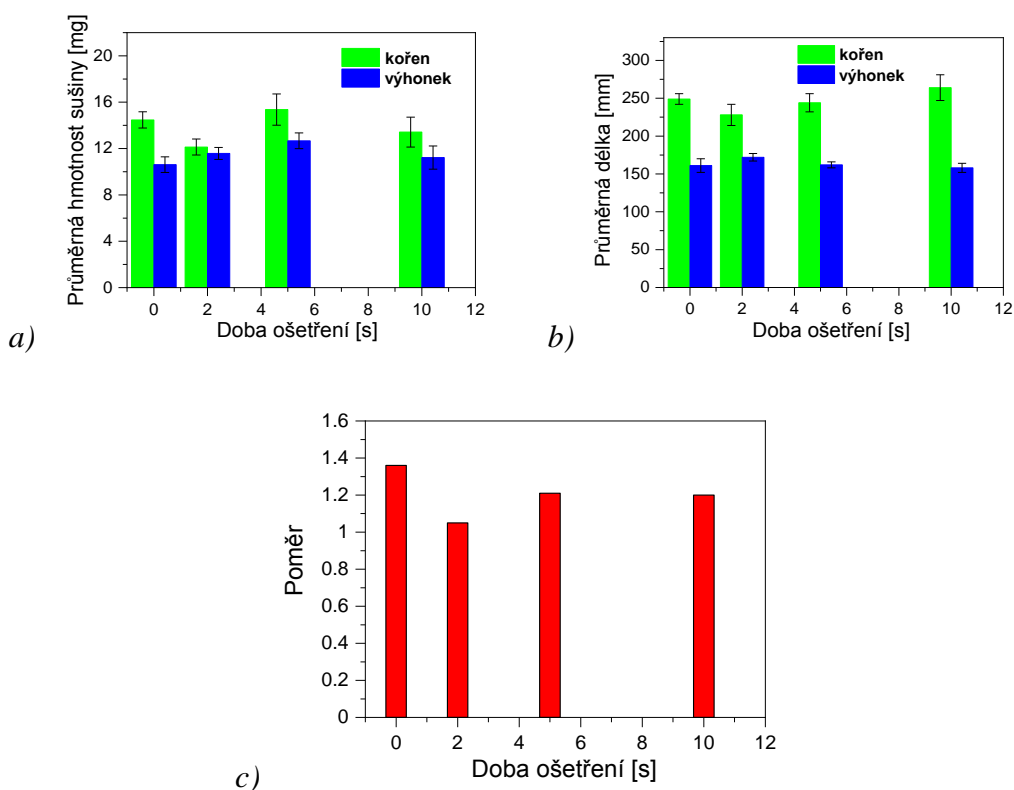


Obrázek 16. a) Obrázky vodních kapek na ošetřených a neošetřených semenech pšenice a b) příjem vody semenem ve srovnání s kontrolním vzorkem po 1 h, 3 h a 24 h.

Snížení zdánlivého kontaktního úhlu korelovalo se zvýšením rychlosti absorpce vody, která se zvýšila o 23,3% během první hodiny absorpce (Obrázek

16b). Podobný účinek byl pozorován Bormashenko et al. (Bormashenko et al., 2012) po krátkém ošetření semen pšenice nízkotlakovou rf plazmou. Také na *Obrázku 16b*) je vidět, že schopnost semen pšenice nasávat vodu snižuje při prodloužení času a křivka prochází maximem v bodě 5 s. Po 5 s schopnost semen nasávat vodu vychází na plato s malým poklesem. Tato skutečnost naznačuje, že nejlepší doba ošetření semen pšenice je 5–7 sekund.

Změna zdánlivého kontaktního úhlu souvisí s pozorovanými změnami ve střední době klíčení semen a může být přičítána příznivému působení aktivních látek ze vzduchové plazmy. Podobné účinky byly popsány v několika dalších studiích (Bormashenko et al., 2012; Dobrin et al., 2015; Zahoranová et al., 2016; Meng et al., 2017). Pro parametry produkce biomasy byl pozorován minimální vliv krátkodobé expozice dielektrickým bariérovým výbojem. Mírná změna průměrné hmotnosti sušiny kořene a výhonku je znázorněna na *Obrázku 17a*).



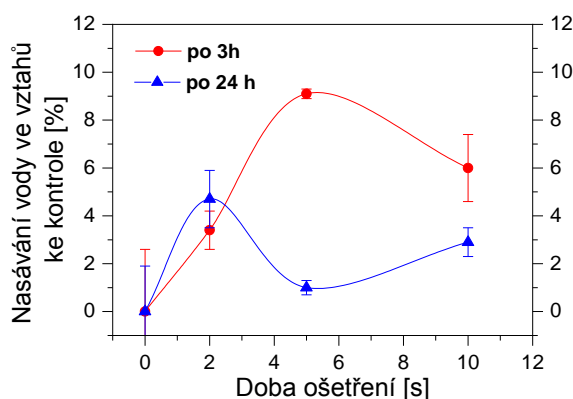
*Obrázek 17.* a) Průměrná hmotnost sušiny, b) průměrná délka kořene a výhonku a c) poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena pšenice.

Navzdory změně hmotnosti sušiny rostlin nemělo ošetření pomocí dielektrického bariérového výboje významný vliv na střední délku kořene a délku výhonku (*Obrázek 17b*). Stojí však za povšimnutí, že průměrná délka kořene

dosahuje maxima a minima při době ozáření 10 s a 2 s. Nejviditelnější výsledky vlivu ošetření plazmou lze pozorovat ve změně poměru R/S (*Obrázek 17c*), kde kontrolní vzorky dosáhly nejvyšší hodnoty ( $1,36 \pm 0,11$ ) ve srovnání s jinými ošetřenými semeny. Minimální poměr R/S ( $1,05 \pm 0,10$ ) byl detekován po 2 s ošetření a zůstal stejný i pro další časy ošetření (1,20).

Nicméně lze zdůraznit skutečnost, že při době ošetření 5 s hmotnost sušiny kořene a výhonku dosahuje maximální hodnoty (*Obrázek 17a*), což je logické, protože při stejné době ošetření semena pšenice dosahují své maximální schopnosti nasávat vodu (*Obrázek 16b*).

V případě semen ječmene z technického důvodu nejsou data zdánlivého kontaktního úhlu pro tuto metodu ošetření, ale jsou data o příjmu vody. *Obrázek 18* ukazuje, jak se mění schopnost semen ječmene nasávat vodu v závislosti na době ošetření.

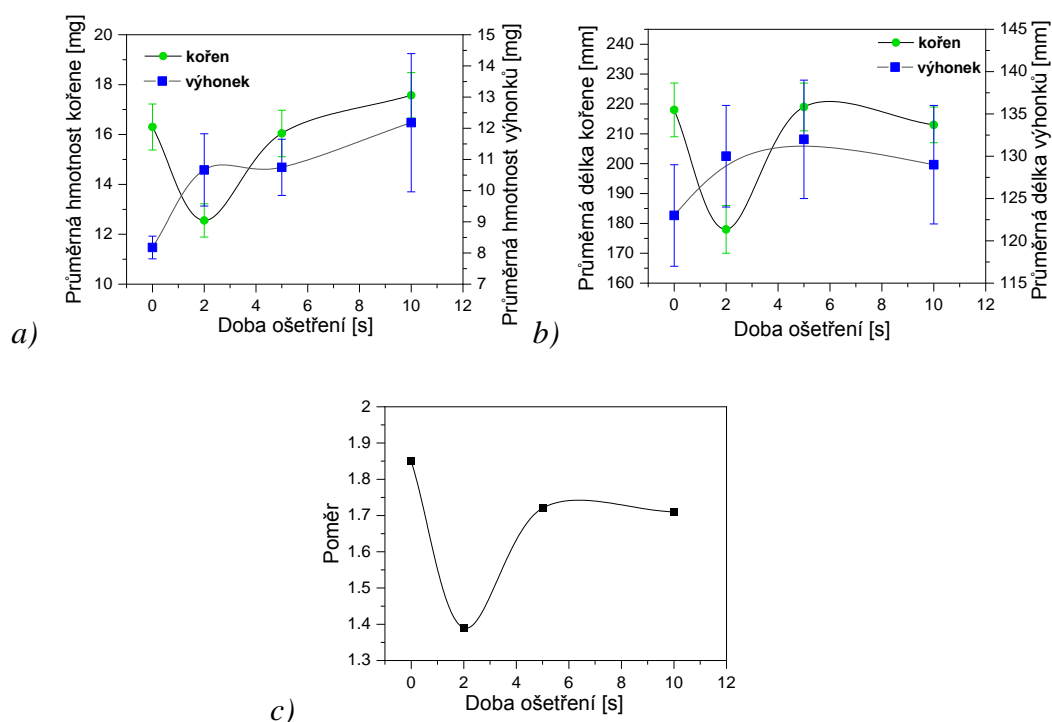


*Obrázek 18.* Nasávání vody semen ječmene ve srovnání s kontrolním vzorkem po době vystavení ve vodě 3 h a 24 h.

Je vidět, že křivky nasávání vody pro dobu 3 h a 24 h procházejí maximem při dobách ošetření 2 s a 5 s, v tomto pořadí. Tyto křivky se protínají v rozmezí 3-4 s ošetření pomocí DBV výboje. Toto znamená, že v dané době ošetření semena ječmene absorbují o 4 % více vody než kontrolní vzorky v průběhu 24 h. Také lze pozorovat velmi zajímavý efekt, že při době ošetření plazmou nad 5 s křivky nasávání vody (3 h a 24 h) cílí na stejnou úroveň schopností ve 4%. Tato skutečnost naznačuje, že při ošetření po dobu delší než 10 s semena ječmene budou mít stejnou schopnost nasávat vodu jako při době ošetření 3-4 s.

Možnost pozitivního efektu ošetření semen ječmene DBV metodou po dobu 10 s a více potvrzuje průměrná hmotnost sušiny a průměrná délka kořene a výhonku (Obrázek 19a,b).

Jak je vidět na Obrázku 19a), suchá hmotnost kořenů projde minimum při ošetření 2 s, přičemž hmota výhonku se rovnoměrně zvětšuje. Stejnou reakci lze pozorovat při analýze délky kořenů a výhonku (Obrázek 19b). V tomto případě při ošetření více než 5 s délka kořenů a výhonku zůstává přibližně nezměněna, což je patrné z poměru R/S (Obrázek 19c).



Obrázek 19. a) Průměrná hmotnost sušiny, b) průměrná délka kořene a výhonku a c) poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena ječmene.

Závěrem této části studie uvádíme, že krátkodobé ošetření ( $\leq 5$  s) semen pšenice pomocí DBV má pozitivní vliv na růstové parametry a klíčení. Pro semena ječmene má krátkodobé ošetření (3-4 s) také pozitivní efekt, ale při ošetření  $\geq 10$  schopnost nasávat vodu zůstává na úrovni 4%, více než kontrolní vzorky po dobu 24 hodin. Také délka výhonku se zvyšuje a délka kořenů zůstává na kontrolní úrovni, přičemž hmotnost kořenů a stonků úměrně růste.

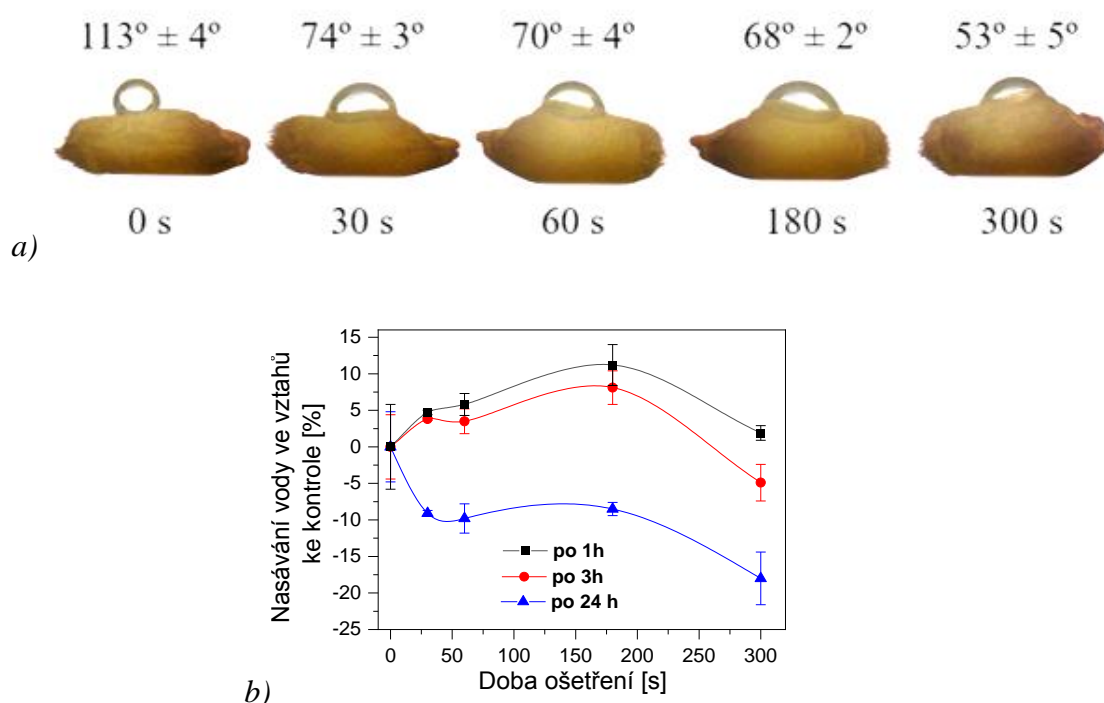
V případě semen ječmene je potřeba další výzkum vlivu parametrů ošetření plazmy (doba ošetření a výkon výboje) na růstové schopnosti odrůdy. Správným

výběrem doby ošetření a výkonu DBV lze dosáhnout maximálních hodnot růstových parametrů této plodiny, což potvrzuje práce [Mazandarani et al, 2020](#).

Nicméně podle všeho výše uvedeného lze tvrdit, že tato technika ošetření je nejlepším stimulatorem růstu semen ječmene, protože zde dochází ke krátké interakci čisté plazmy bez vlivu jakýchkoli dalších faktorů, jako je dlouhá zastávka v plazmové zóně, proudu horkého plynu, vakuum atd.

### 5.2.3. Vliv ošetření osiva radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku

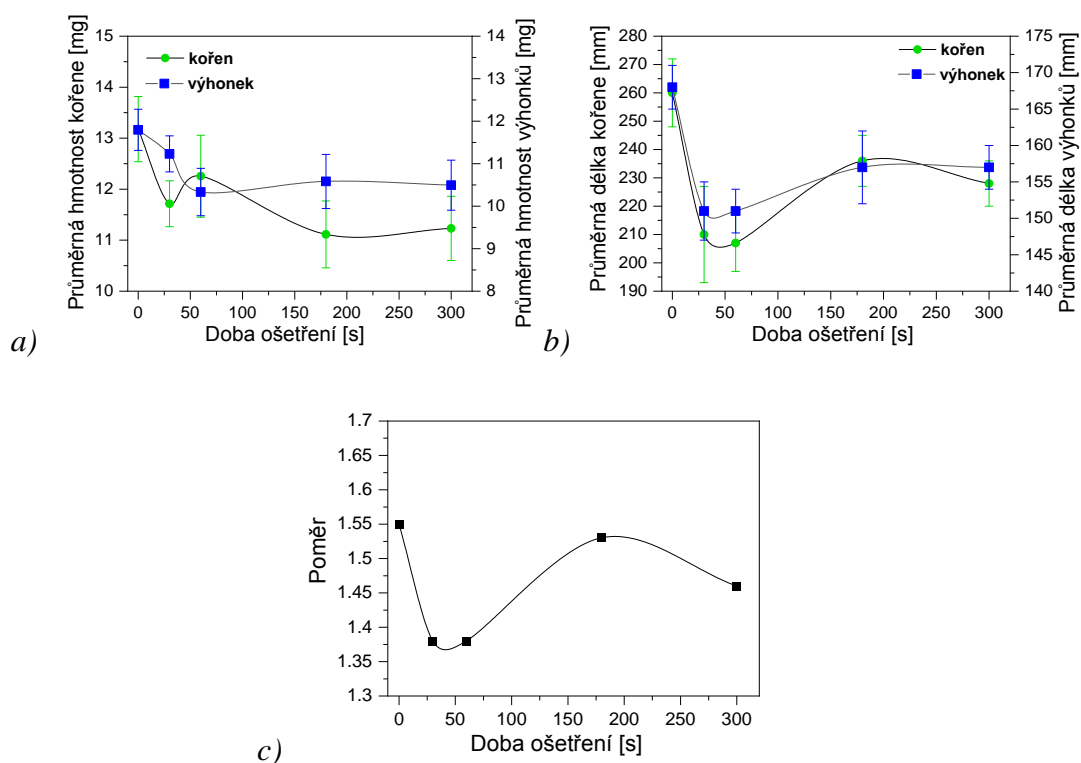
V této kapitole hodnotíme vliv nízkoteplotního výboje za sníženého tlaku na růstové parametry a příjem vody semeny vybraných plodin. Při hodnocení příjmu vody semeny pšenice lze zdůraznit skutečnost, že celkem tato metoda ošetření negativně ovlivňuje schopnost semen nasávání vody (*Obrázek 20*). Navzdory skutečnosti, že zdánlivý kontaktní úhel (*Obrázek 20 a*) se snižuje až při minimální době ošetření ( $74^\circ \pm 3^\circ$ ) ve srovnání s kontrolními vzorky ( $113^\circ \pm 4^\circ$ ), je kapacita nasávání vody po 24h menší o 10 % než u kontrolních vzorků (*Obrázek 20 b*).



*Obrázek 20. a)* Obrázky vodních kapek na ošetřených a neošetřených semenech pšenice a *b)* nasávání vody semenem ve srovnání s kontrolním vzorkem po 1 h, 3 h a 24 h.

Je však třeba poznamenat, že křivky 1h a 3h nasávání vody semen pšenice (*Obrázek 20 b*) jsou vyšší než u kontrolních vzorků a dosahují maxima při době ošetření 180 sekund (11,2 % a 8,1 %, respektive). Při dobách ošetření nad 180 s schopnost nasávání vody po 24 h prudce klesá na 18 % ve srovnání s kontrolními vzorky.

Závislosti délky a hmotnosti sušiny při různé době ošetření je negativní (*Obrázek 21 a, b*). Jak je patrné na *Obrázku 21 a*) hmotnost kořenů a výhonku klesá s prodloužením doby ošetření, překračuje minimum při době ošetření 30 s pro kořene (11,714 mg  $\pm$  0.448 mg) a 60 s pro výhonky (10,333 mg  $\pm$  0.557 mg), a dosahuje nejnižší hodnoty při ošetření po 180 s (kořene = 11,230 mg  $\pm$  0.630 mg; výhonek = 10,494 mg  $\pm$  0.590 mg).



*Obrázek 21. a)* Průměrná hmotnost sušiny, *b)* průměrná délka kořene a výhonku a *c)* poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena pšenice.

Něco podobného lze pozorovat u délky kořene a výhonku při různé době ošetření (*Obrázek 21b*). Jediným rozdílem je, že křivka prochází jedním minimumem (délka kořenů 207 mm a stonků 153 mm ve srovnání s kontrolou 263 mm a 168 mm, respektive) při době ošetření osiva 30 a 60 sekund. Průběh dokresluje obrázek výpočtu poměru délek kořene a stonku (*Obrázek 21c*). Práce [Rahman et al, 2018](#) potvrzuje negativní vliv plazmatu za sníženého tlaku na délku a hmotnost kořenů



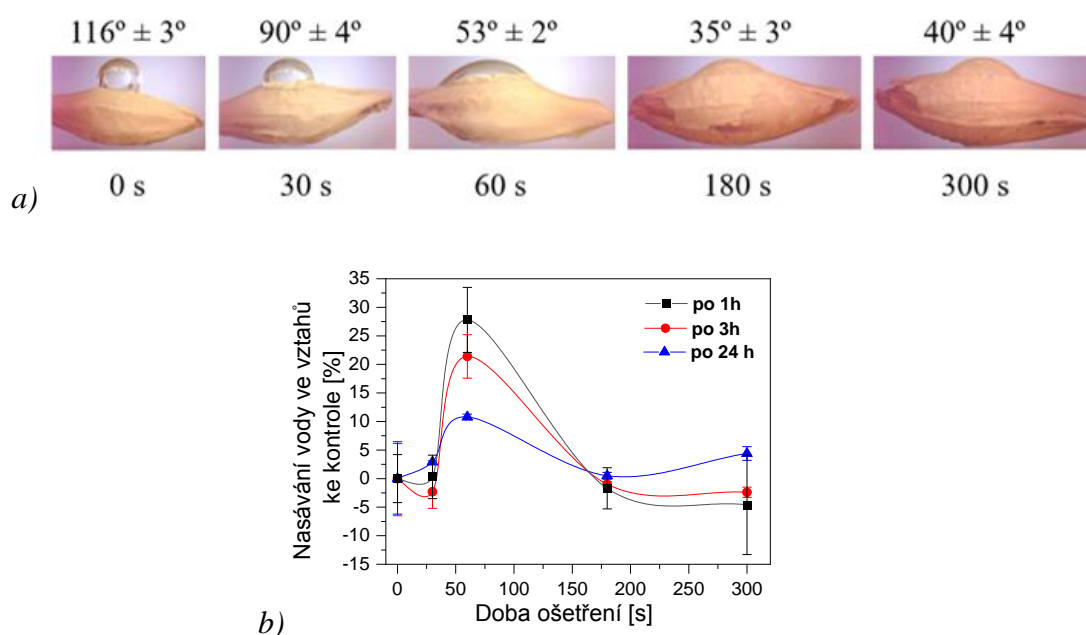
pšenice. Autoři prokázali, že při době ošetření 90 s délka kořene klesá od 7,3 cm do 5,6 cm a hmotnost kořene klesá od 0,058 g do 0,044 g.

Negativní vliv tohoto typu plazmatu na růstové parametry semen pšenice lze vysvětlit pouze předpokladem, neboť literatury na toto téma je dnes velmi málo. To znamená, že pokud shromáždíme všechna naše data, můžeme říci následující. Vzhledem k tomu, že při ošetření plazmou ve vakuu se povrch semen začne erodovat a rozpraskávat (Rahman et al, 2018), schopnost nasávání vody v prvních hodinách se zvyšuje (Obrázek 20b), což s největší pravděpodobností stimuluje klíčení semen s krátkou dobou ošetření (Obrázek 10a), přesto, že hmotnost a délka sušiny klesá (Obrázek 21a,b). Delší doba ošetření semen pšenice v plazmě více rozpraskává jejich povrch (Rahman et al, 2018). Také by se nemělo zapomínat na vliv dlouhodobého působení vakua (extrémní vysušení), což může být jedním z faktorů, který výrazně snižuje schopnost růstu a vývoje semen.

V případě semen ječmene nejsou k dispozici výsledky o klíčení a době klíčení těchto semen ošetřených plazmou za sníženého tlaku. Není proto možné nakreslit úplný obrázek o vlivu tohoto typu plazmatu na růstové parametry semen ječmene. Pokud se však podíváme na výsledky nasávání vody ošetřených a kontrolních semen (Obrázek 22a,b), je patrný velmi zajímavý fakt. Při době ošetření 60 s je pozorován prudký skok ve schopnosti semen absorbovat vodu. Tato schopnost se v první hodině působení vody zvyšuje o 28,7 % ve srovnání s kontrolními vzorky. Po 24 hodinách mají ošetřená semena schopnost přijmout více o 10,8 % než kontrolní semena (Obrázek 22b). Zvýšení absorpce vody je potvrzeno snížením zdánlivého kontaktního úhlu již po 30 s ošetření s velkým snížením ( $53^\circ \pm 2^\circ$  ve srovnání s kontrolou  $116^\circ \pm 3^\circ$ ) při ošetření 60 s (Obrázek 22 a).

Dalším zajímavým faktem je, že při ošetření semen po dobu až 30 s a více než 60 s, zůstává schopnost semen ječmene nasávání vody na úrovni kontroly  $\pm 5\%$  s přihlédnutím k chybě (Obrázek 22b). Při ošetření 60 s je pozorován prudký skok v schopnosti nasakování vody (až o 30 % vyšší než u kontroly po 1 h a až o 10 % po 24 h). V práci Dawood et al., 2021 tento efekt pozorován nebyl a autoři prokázali, že s dobou ošetření kratší než 10 min s výkonem plazmy nižším než 80 W nebylo pozorováno žádné výrazné zvýšení schopnosti semen přijímat vodu. Avšak po dosažení těchto parametrů ošetření (10 min a 80 W) byl získán (podobný našemu) prudký skok ve schopnosti nasávání. Tento efekt vysvětlujeme tím, že při takovém dlouhém ošetření (10 min) je narušena krycí vrstva semen, to znamená, že epidemis

semen je rozpraskaná, což bylo prokázáno pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (Dawood et al., 2021). V našem případě se tento efekt projevil při ošetření 60 s a výkonu plazmy 30 W. Dá se to vysvětlit tím, že autoři práce Dawood et al., 2021 použili ke zpracování tlak 130 Pa a v naší práci byl použit tlak 4 krát nižší, což mohlo způsobit rozrušení obalu semen v kratší době. Delší doba ošetření semen v plazmatu za sníženého tlaku vede ke snížení životaschopnosti semen a schopnosti nasávat vodu.

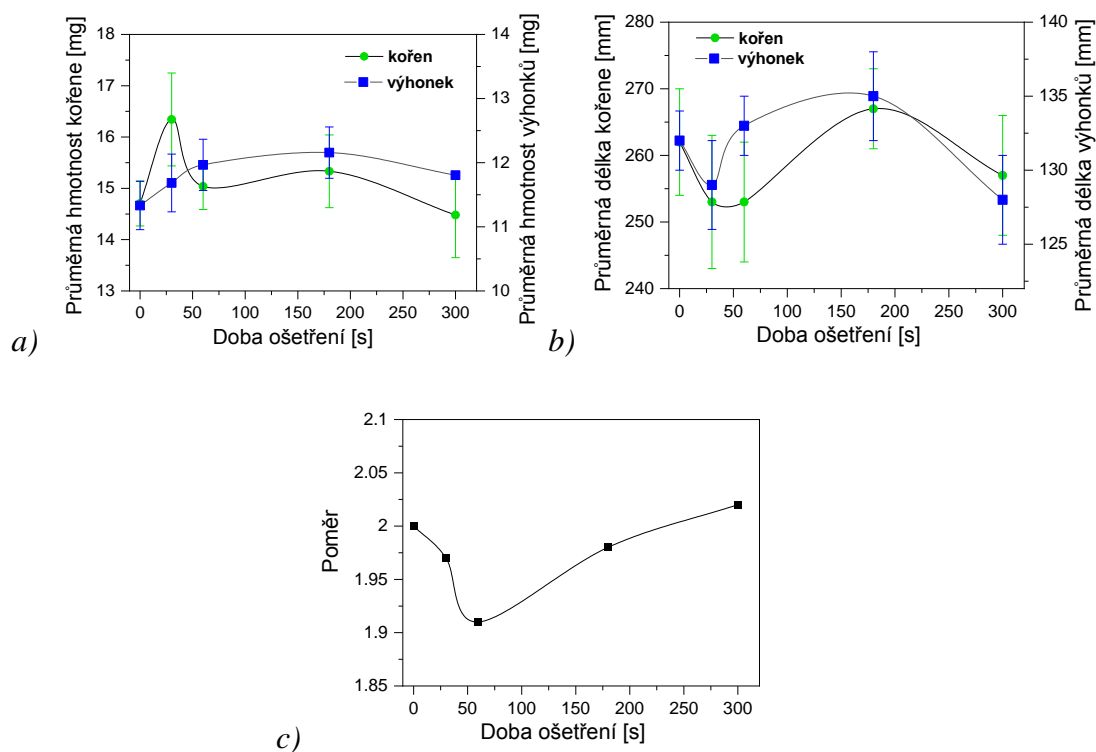


Obrázek 22. a) Obrázky vodních kapek na ošetřených a neošetřených semenech ječmene a b) příjem vody semenem ve srovnání s kontrolním vzorkem po 1 h, 3 h a 24 h.

Pokud se podíváme na hmotnost sušiny (Obrázek 23 a), vidíme že při době ošetření 30 s hmotnost kořenů má prudký skok v růstu (16,3 mg) ve srovnání s kontrolními vzorky (14,7 mg). Když je doba ošetření nad 30 m, hmotnost kořenů klesne na úroveň kontroly a mírně klesá s prodlužováním doby ošetření nad 180 s. Přitom hmotnost výhonku mírně roste s dobou ošetření do 180 s a pak se vrací na úroveň kontrolních vzorků. Kromě toho délka kořene a výhonku prochází minimem během ošetření po dobu 30 s a prochází maximem po 180 s ošetření, pak znovu klesne (Obrázek 23b). Chování délek kořenů a výhonku dobře ukazuje poměr (Obrázek 23c), kde se minimální hodnota tvoří při 60 s ošetření.

Podle všech výše uvedených údajů o růstových parametrech semen ječmene lze předpokládat, že klíčení semen také projde maximem při krátkodobém ošetření

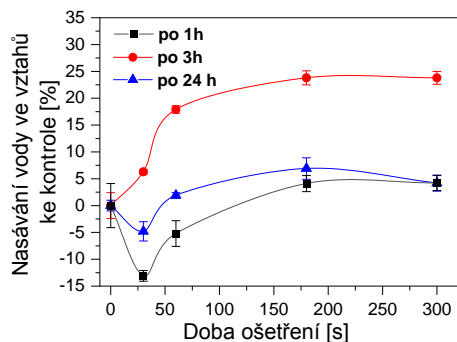
do 30 s, ale je nutné říct, že vliv plazmatu za sníženého tlaku na semena ječmene je spíše negativní než pozitivní, protože má na přítomnost semen ječmene ve vakuu negativní účinek. Toto je patrné například na semenech pšenice (*Obrázek 10*), kukuřice a sóji (*Obrázek 11*). V současné době však existuje jen velmi málo prací, souvisejících se studiem vlivu plazmatu za sníženého tlaku a vakua na semena ječmene, proto je zapotřebí další výzkum na toto téma.



*Obrázek 23. a) Průměrná hmotnost sušiny, b) průměrná délka kořene a výhonku a c) poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena ječmene.*

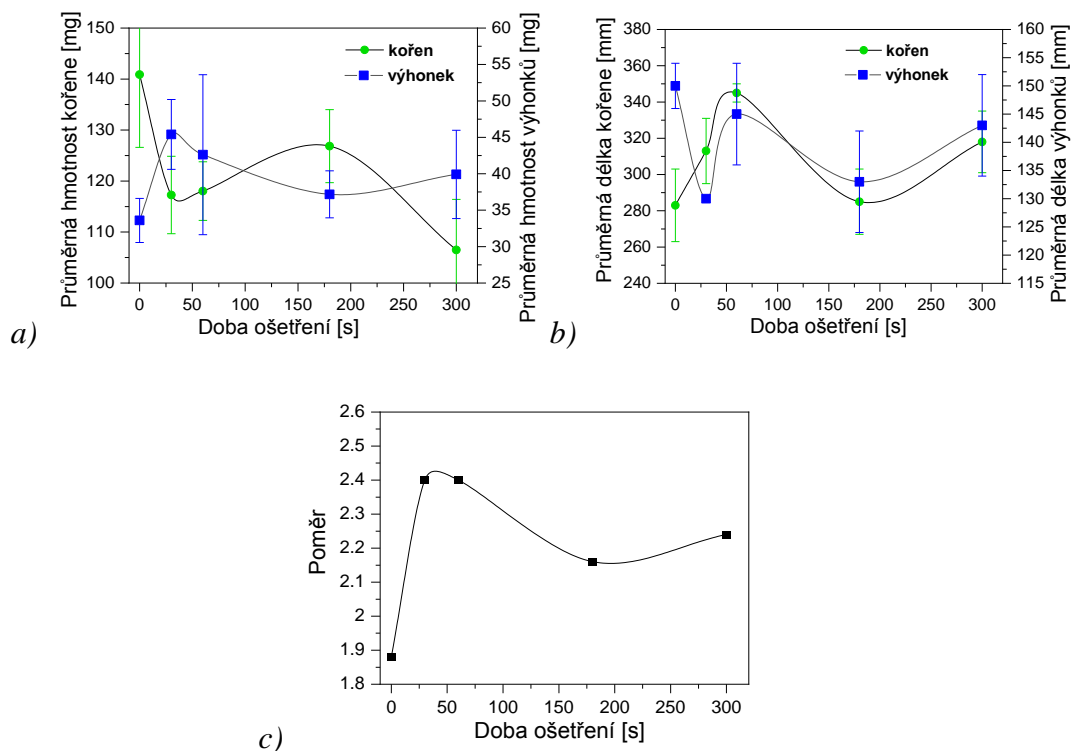
Pokud jde o semena kukuřice a sóji, je třeba poznamenat, že tato semena byla ošetřena pouze plazmou za sníženého tlaku. Také o vlivu ošetření těchto odrůd pomocí této metody existuje velmi málo prací a vyžaduje podrobnější studium.

Výsledky měření schopnosti nasávat vodu semeny kukuřice (*Obrázek 24*) podporují negativní vliv na klíčivost semen se zvětšením doby ošetření (*Obrázek 11a*). Tato schopnost nasávání vody je vyšší než u kontrolních vzorků o 23,8 % pouze po 3 h působení vody při době ošetření 180 s a 300 s. Po 1 h a 24 h namáčení ve vodě je absorpční kapacita semen nižší nebo srovnatelná s kontrolní.



Obrázek 24. Příjem vody semenem kukuřice ve srovnání s kontrolním vzorkem po 1 h, 3 h a 24 h.

Je patrné, že minimálních hodnot 13 % bylo dosaženo u vzorků ošetřených po dobu 30 s. V tomto případě lze předpokládat, že zvýšení schopnosti semen nasávat vodu po dobu 3 hodin je usnadněno poškozením obalu semen při delším ošetřování a udržování ve vakuu.

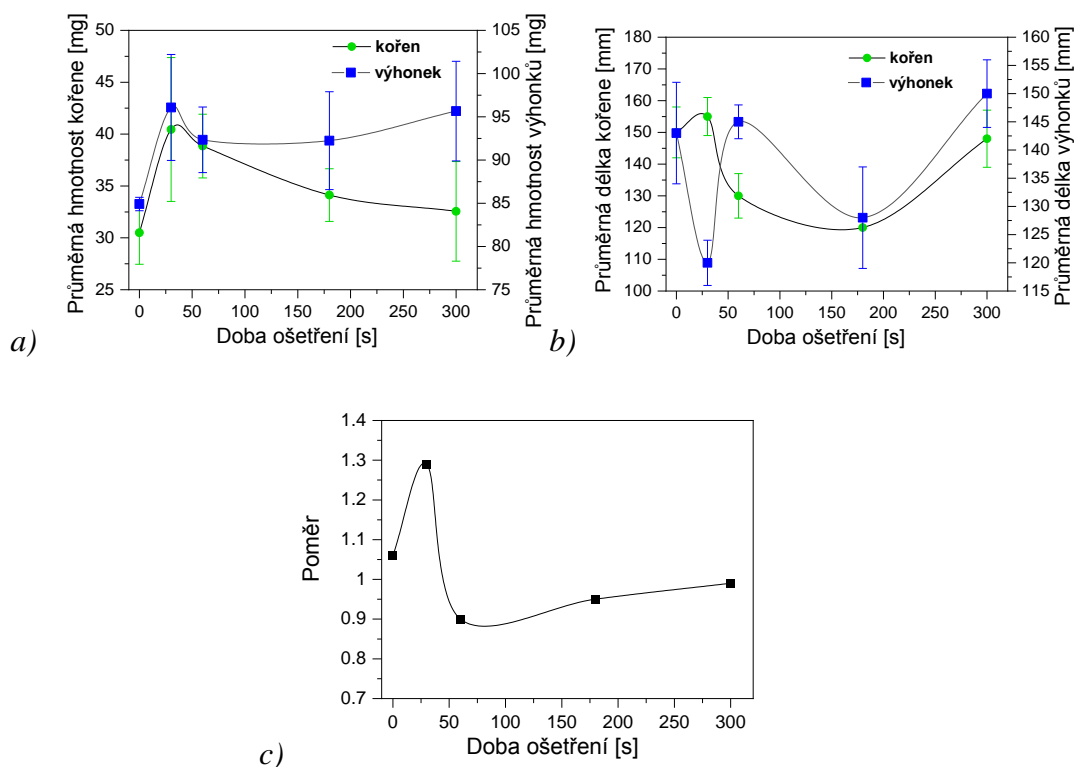


Obrázek 25. a) Průměrná hmotnost sušiny, b) průměrná délka kořene a výhonku a c) poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena kukuřice.

Střední hmotnost kořene kukuřice má tendenci klesat se zvyšující dobou ošetření a prochází maximem při 180 s. Přitom hodnota hmotností výhonku prochází maximem při 30 s ošetření a pak s přihlédnutím k chybě zůstává přibližně na stejné

úrovni (Obrázek 25a). Navzdory nízké hodnotě hmotnosti kořenů při ošetření po dobu 30 s a 60 s se jejich délka zvětšuje na  $345 \text{ mm} \pm 5 \text{ mm}$ , což je mnohem více než u kontroly ( $283 \text{ mm} \pm 20 \text{ mm}$ ). Délka výhonku přitom prochází minimem ( $130 \text{ mm} \pm 0 \text{ mm}$ ) při 30 s ošetření a zůstává na úrovni kontroly ( $145 \text{ mm} \pm 9 \text{ mm}$ ) při 60 s ošetření (Obrázek 25b). Při dalším zvýšení doby ošetření délka kořenů a výhonku mírně klesá s minimem při 180 s ošetření. Tendence chování délek kořene a výhonku je dobře patrná při výpočtu jejich poměrů (Obrázek 25c).

V případě semen sóji byl pozorován malý efekt zvýšení klíčivosti a doby klíčení s dobou ošetření do 60 s (Obrázek 11c,d). Zároveň je doba klíčení ošetřených semen kratší než u kontrolních a klíčivost nedosahuje úrovně kontrolních vzorků. Bohužel neexistují žádná data o schopnosti těchto semen přijímat vodu, ale při studiu závislosti hmotnosti a délky sušiny při různých dobách ošetření lze pozorovat zajímavé chování (Obrázek 26 a,b).



Obrázek 26. a) Průměrná hmotnost sušiny, b) průměrná délka kořene a výhonku a c) poměr R/S pro ošetřená a neošetřená semena sóje.

Při době ošetření delší než 60 s se hmotnost kořenů ( $38,85 \text{ mg} \pm 3,07 \text{ mg}$ ) snižuje na úroveň kontroly ( $32,55 \text{ mg} \pm 4,81 \text{ mg}$ ). Zatímco hmotnost výhonku zůstává přibližně na stejné úrovni (okolo 92 mg), ale je vyšší než u kontrolních vzorků ( $84,91 \text{ mg} \pm 0,77 \text{ mg}$ ). Délky sušin přitom procházejí minimem (délka kořenu =  $120 \text{ mm} \pm 0 \text{ mm}$

a délka výhonku = 128 mm ± 9 mm při ošetření 180 s) a při extrémních hodnotách (60 s a 300 s) zůstávají přibližně na úrovni kontroly (délka kořenu a výhonku okolo 150 mm) (*Obrázek 26b*).

Nejzajímavější efekt byl pozorován při době ošetření 30 s. Hmotnost sušiny dosáhla maximální hodnoty (kořene = 40,44 mg ± 6,90 mg, výhonek = 96,08 mg ± 6,10 mg) ve srovnání s kontrolními hodnotami pro kořeny 30,49 mg ± 3,04 mg a pro výhonky 84,91 mg ± 0,77 mg (*Obrázek 26a*). Současně je délka kořenů o 5 mm vyšší a délka stonku je o 23 mm nižší než u kontrolních vzorků, což je patrné na *Obrázku 26 b,c*.

Toto, řekněme, nestabilní chování hmoty a délky sušiny lze vysvětlit pomocí prací [Ling et al., 2014](#). Autoři této práce ([Ling et al., 2014](#)) prokázali, že při výkonu výboje 80 W a době ošetření 15 s všechny parametry růstu semen (délka a hmotnost sušiny, klíčivost) semena sóji dosahují maximální hodnoty ve srovnání s ostatními výkony výboje (60, 100 a 120 W). V našem případě minimální doba ošetření je 30 s při výkonu výboje 30 W. To znamená, že na základě výsledku práce [Ling et al., 2014](#) lze říci, že semena sóji vyžadují k dosažení pozitivních výsledků krátkou dobu ošetření při dostatečně vysokém výkonu plazmatu za sníženého tlaku. Je možné, že tento předpoklad platí i pro semena kukuřice.

Shrneme-li výsledky všech metod plazmového ošetření pro vybrané druhy sledované v této disertační práci, můžeme konstatovat následující. Minimální vystavení vnějších faktorů, jako je vakuum, proud horkého plynu a dlouhodobá interakce s výbojem, obecně vede k negativnímu dopadu na parametry růstu, schopnosti přijímat vodu a poklesu životaschopnosti semen. Na základě výše uvedeného považujeme za nejlepší způsob ošetření osiva DBV a plazmovou tryskou za atmosférického tlaku. Proto tyto metody byly zvoleny pro ověření v polních pokusech. Další údaje, včetně statistických výpočtů, jsou uvedeny v kapitole „Dodatečná data“.

### **5.3. Polní pokusy**

Pro výzkum polních pokusů byla použita semena pšenice a ječmene. Pro výzkum semen pšenice byly použity dvě odrůdy, Annie a Citrus a dvě plochy s rozdílným způsobem hospodaření (konvenční a eko). Pro výzkum semen ječmene byly použity tři odrůdy, Kampa, Grace a Azit, a pokusy byly založeny na ekologicky obhospodařovaném půdním bloku. K ošetření pšenice byly použity dielektrický

bariérový výboj (doba ošetření 1 s a 2,5 s) a plazmová tryska (doba ošetření 15 s a 30 s) za atmosférického tlaku. K ošetření semen ječmene byl použit jen dielektrický bariérový výboj za atmosférického tlaku s dobou ošetření 1, 2,5 a 3,5 s. Tyto metody a krátká doba ošetření osiva byly zvoleny na základě výsledků výše uvedených laboratorních pokusů a studia odborné literatury.

U ošetření pomocí DBV do 5 s (pro semena pšenice a ječmene) a při ošetření pomocí plazmové trysky do 30 sekund (pro semena pšenice) byly pozorovány pozitivní účinky na klíčivost a schopnosti příjmu vody. Volba metod ošetření a doba ošetření vychází a přihlíží k objemu osiva, které bylo potřeba připravit pro polní pokus a výsev osiva. V *Tabulkách 3 a 4* jsou uvedeny vstupní hodnoty a výsledky polních pokusů pro semena pšenice a ječmene. Takové hodnoty, jako je hmotnost tisíce semen (HTS), výsevek (kg/ha), počet rostlin na m<sup>2</sup> a výnos (t/ha), byly zprůměrovány ze třech opakování (A, B a C) na každou parcelku a přepočítány na plochu pokusné parcelky (12,5 m<sup>2</sup>).

Při analýze vlivu ošetření na osivo pšenice lze poznamenat, že průběžné a konečné výsledky polních pokusů jsou velmi ovlivněny způsobem hospodaření a odrůdou (*Tabulka 3*).

#### *Pšenice ozimá*

Na ekologicky obhospodařované ploše u odrůdy Annie bylo pozorováno snížení počtu rostlin na metr čtvereční při prodloužení doby ošetření bez ohledu na délku hodnoceného výboje. Navíc po ošetření DBV je negativní efekt mnohem vyšší (pokles o 13,1 %) než u plazmové trysky (pokles o 8,4 %). Pokud se však podíváme na výnos, tak i přes tento negativní efekt ošetření se u ošetření pomocí plazmové trysky zvyšoval výnos o 3,5 % při maximální délce ošetření (30 s) a při DBV ošetření výsledek zůstal přibližně na úrovni kontroly. Pro odrůdu Citrus jsou výsledky přibližně srovnatelné, rozdíl je pouze v tom, že při 15 s ošetření pomocí plazmové trysky se výnos zvýšil o 6,7 % (*Tabulka 3*).

U variant založených na konvenčních plochách byly získány zcela odlišné výsledky. Pro odrůdu Annie se počet rostlin zvyšoval s dobou ošetření za použití jakékoli metody ošetření plazmovou tryskou s maximální hodnotou (až 18,7% nárůst) při 30 s ošetření. Výnos zrna u varianty s osivem ošetřeným 30 sekund se také zvýšil o 6,2 % ve srovnání s kontrolou. Při použití DBV byl výnos o něco vyšší než u kontrolních vzorků, ale ne významně. Pro odrůdu Citrus se počet rostlin mírně

zvyšoval při ošetření pomocí DBV a klesal při použití plazmové trysky. Přitom výnos pro metodu DBV zůstal na kontrolní úrovni a při použití trysky klesal o 7,8 %.

Tabulka 3. Podmínky a výsledky pro polní pokusy semen pšenice ošetřených pomocí DBV a plazmové trysky za atmosférického tlaku.

Doba (typ) ošetření, s	Odrůda	Plocha	HTS, g	Výsevek, kg/ha	Počet rostlin na m <sup>2</sup> (*)	Výnos, t/ha
Kontrola	Annie	Eko	38,9	155,6	72,0	5.186
1,0 (DBV)			39,7	158,8	62,3	5.144
2,5 (DBV)			39,5	158,0	63,7	5.146
15,0 (Jet)			38,6	154,4	66,7	5.309
30,0 (Jet)			39,8	159,2	65,7	5.368
Kontrola	Citrus	Eko	30,5	122,0	69,0	4.410
1,0 (DBV)			30,3	121,2	63,0	4.360
2,5 (DBV)			30,8	123,2	60,3	4.280
15,0 (Jet)			31,8	127,2	66,3	4.706
30,0 (Jet)			30,5	122,0	60,0	4.216
Kontrola	Annie	Konvenční	39,7	158,8	58,7	5.141
1,0 (DBV)			39,7	158,8	65,7	5.248
2,5 (DBV)			39,3	157,2	65,3	5.221
15,0 (Jet)			39,5	158,0	63,7	5.360
30,0 (Jet)			40,5	162,0	69,7	5.458
Kontrola	Citrus	Konvenční	33,0	132,0	66,3	4.760
1,0 (DBV)			31,3	125,2	68,7	4.762
2,5 (DBV)			31,3	125,2	69,7	4.600
15,0 (Jet)			30,9	123,6	61,7	4.541
30,0 (Jet)			30,7	122,8	66,0	4.386

\*Počet rostlin na m<sup>2</sup> byl počítán na jaře.

Na základě výše uvedeného je krátkodobé ošetření semen pšenice pomocí plazmové trysky mnohem účinnější než ošetření pomocí DBV, a to i přes předpoklad laboratorních studií ve prospěch metody DBV. Hlavním závěrem je, že při zpracování plazmovou tryskou je výnos semen pšenice vyšší než u kontroly, a to i s negativním dopadem na počet rostlin na metr čtvereční.



### Ječmen jarní

V polním pokusu s osivem jarního ječmene byly pokusy založeny jen na ekologicky obhospodařované ploše (eko). Ke sledování byly použity tři různé odrůdy osiva (Kampa, Grace a Azit). Stejně jako u semen pšenice jsou výsledky velmi závislé na odrůdě. *Tabulka 4* ukazuje, že u odrůd ječmene Kampa a Grace při ošetření metodou DBV nebyl prokázán pozitivní efekt. Počet rostlin a výnos u těchto odrůd u všech dob ošetření zůstává přibližně na kontrolní úrovni, s výjimkou odrůdy Kampa s dobou ošetření 2,5 s, kde jsou hodnoty výnosu zrna nižší než u kontrolních vzorků.

*Tabulka 4.* Podmínky a výsledky pro polní pokusy semen ječmene ošetřených pomocí DBV za atmosférického tlaku.

Doba ošetření, s	Odrůda	Plocha	HTS, g	Výsevek, kg/ha	Počet rostlin na m <sup>2</sup> (*)	Výnos, t/ha
Kontrola	Kampa	Eko	53,0	169,6	75	4.330
1,0			50,2	160,6	73	4.264
2,5			50,8	162,6	65	3.368
3,5			48,5	155,2	69	4.208
Kontrola	Grace	Eko	48,4	154,9	75	4.066
1,0			49,5	158,4	72	3.952
2,5			47,0	150,4	74	4.080
3,5			48,9	156,5	77	4.018
Kontrola	Azit	Eko	49,2	157,4	77	3.784
1,0			48,7	155,8	67	3.946
2,5			49,5	158,4	64	4.072
3,5			51,3	164,2	73	3.952

\*Počet rostlin na m<sup>2</sup> byl počítán na jaře.

Při analýze výsledků pro odrůdu Azit byl potvrzen pozitivní efekt pro semena ječmene ošetřená metodou DBV. V tomto případě se při době ošetření 2,5 s počet rostlin na metr čtvereční snížil na 16,9 %, ale výnos se zvýšil o 7,6 % ve srovnání s neošetřenou kontrolou.

Tyto výsledky polních pokusu potvrzují, že zvolené plazmové metody (DBV a plazmová tryska za atmosférického tlaku) jsou účinné a zaslouží si další zkoumání jejich použití pro předseťové ošetření osiva. Další údaje, včetně statistického hodnocení, jsou uvedeny v kapitole „Dodatečná data“.

## 6. Vyjádření k hypotézám

- Aplikace nízkoteplotního plazmatu má pozitivní vliv na klíčení, vzcházení, růst rostlin a přetrvává až do výnosu.

*Hypotéza je potvrzena částečně.*

Bylo prokázáno, že plazmové ošetření má vliv na klíčení a růstové parametry osiva. Konečný výsledek závisí na typu semen, plazmové metodě a době ošetření. Například, krátká doba ošetření sledovaných metod má pozitivní vliv na klíčivost, vzcháživost, schopnost nasávání vody a stimulaci růstu kořenů pšenice seté. U semen ječmene byl podobný efekt dosažen pouze při ošetření pomocí DBV metody. Dlouhodobé vystavení osiva vlivu sledovaných vnějších faktorů, jako je vakuum, proud horkého plynu a dlouhodobá interakce s aktivními částicemi výboje, obecně vede k negativnímu dopadu na tyto parametry. Plazmové ošetření kukuřice má negativní efekt ve srovnání s neošetřenou kontrolou. V případě semen sóji byl pozorován malý efekt zvýšení klíčivosti a zkrácení střední doby klíčení při době ošetření do 60 s.

Experimenty s použitím plazmového ošetření u vybraných druhů osiv v jednoletém polním pokusu neprokázaly při statistickém vyhodnocení změny v klíčivosti, růstových parametrech a výnosových hodnotách.

- Nízkoteplotní plazma ovlivňuje morfologické změny na povrchu semen, což ovlivní zvýšení rychlosti příjmu vody.

*Hypotéza je potvrzena.*

Výsledky měření zdánlivého kontaktního úhlu ukazují na zvýšení smáčivosti povrchu semen, což přispělo při klíčení ke zvýšení rychlosti příjmu vody semenem.

## 7. Závěry a doporučení pro využití poznatků v praxi a pro další rozvoj vědního oboru

V rámci této disertační práce byl hodnocen vliv různých typů studené plazmy (plazmové trysky, dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku a radiofrekvenčního nízkoteplotního výboje generovaného při sníženém tlaku) na růstové schopnosti a klíčivost semen ozimé pšenice a ječmene jarního. Součástí hodnocení byly jednoleté polní maloparcelkové pokusy, které měly potvrdit účinek ošetření osiva studenou plazmou získaný v laboratorních experimentech na vybrané ukazatele v polních podmínkách.

Součástí práce bylo i sledování vlivu studené plazmy na semena kukuřice a sóji ošetřená výbojem generovaným při sníženém tlaku.

### *Pšenice ozimá*

Při ošetření **radiofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku** jsme prokázali závislost klíčivosti osiva na době ošetření:

- Doba ošetření 300 s snížila klíčivost na 26 % hlavně proudem horkého argonu (teplota 103 °C).
- Doba ošetření 15 s působila stimulaci klíčení, zkrácení střední doby klíčení, a stimulaci růstu zárodečných kořínků.
- Ošetření osiva vedlo k zmenšení zdánlivého kontaktního úhlu a nárůstu příjmu vody o 20 - 30 % ve srovnání s kontrolními vzorky osiva.

V případě **dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku**:

- Klíčivost osiva zůstala na úrovni kontroly.
- Růstové parametry se zvýšily přibližně o 7 %.
- Zdánlivý kontaktní úhel poklesl již po 2 s expozici.
- Rychlost absorpce vody se zvýšila o 23,3 % během první hodiny jejího příjmu.

Při ošetření pomocí **výboje za sníženého tlaku** klíčivost osiva závisí na době ošetření:

- Doba ošetření 300 s snížila klíčivost osiva na 92,5 %.
- Doba ošetření do 60 s působila stimulaci klíčení, zkrácení střední doby klíčení, a stimulaci růstu kořínků.

- Zdánlivý kontaktní úhel se snížil při minimální době ošetření ( $74^\circ \pm 3^\circ$ ) ve srovnání s kontrolními vzorky ( $113^\circ \pm 4^\circ$ ), příjem vody po 24 hod byl menší o 10 % než u kontrolního vzorku.

### ***Ječmen jarní***

Při ošetření **radiofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku:**

- Klíčivost osiva postupně s prodloužením doby ošetření klesala až na 0 % při expoziční době 300 s.
- 300 s ošetření vedlo ke zmenšení zdánlivého kontaktního úhlu ze  $116^\circ$  u neošetřené kontroly na  $50^\circ$ .
- 60 s ošetření vedlo k nárůstu příjmu vody o 10 % ve srovnání s kontrolou.

V případě **dielektrického bariérového výboje za atmosférického tlaku:**

- Doba ošetření neovlivnila klíčivost a střední doba klíčení zůstala na úrovni kontroly.
- 10 s ošetření vedlo k nárůstu střední délky a průměrné hmotnosti výhonku.
- 2 s ošetření zvýšilo příjem vody, který po 24 hod byl vyšší o 4 % než u neošetřené kontroly.

Při ošetření pomocí **výboje za sníženého tlaku:**

- Klíčivost poklesla na 20 %.
- Růstové parametry byly srovnatelné s kontrolou.
- 60 s ošetření zvýšilo příjem vody, po 24 hod o 10,8 % proti neošetřené kontrole.

### ***Kukuřice a sója***

Při ošetření pomocí **výboje za sníženého tlaku:**

- Při době ošetření 300 s klíčivost osiva poklesla na 88,5 %.
- Při době ošetření 180 s střední doba klíčení semen sóji poklesla na 4,47 dnů ve srovnání s kontrolou, u které byla 4,94 dnů.
- Příjem vody semenem po 24 hod namáčení mírně poklesl nebo byl srovnatelný s neošetřenou kontrolou.

## **ZÁVĚRY**

- Jednoleté maloparcelkové polní pokusy prokázaly statisticky nevýznamné zvýšení výnosu zrna při ošetření osiva plazmou.
- Na základě výše uvedeného se domníváme, že plazmová tryska a DBV za atmosférického tlaku jsou metody vhodné pro další ověřování jejich vlivu na semenářskou hodnotu osiva pšenice seté a ječmene jarního.
- Při sledovaných parametrech ošetření, plazma interaguje pouze s povrchem semen, což zlepšuje rychlost příjmu vody a stimuluje růstové schopnosti semen.

## 8. Seznam použité literatury

Acsente T., Ionita E. R., Teodorescu M., Marascu V., Dinescu G. Surface modification of polymethylmethacrylate foils using an atmospheric pressure plasma jet in presence of water vapors. *Thin Solid Films*, 614, 2016, p. 25–30.

Ahn Ch., Gill J., Ruzic D.N. Growth of Plasma-Treated Corn Seeds under Realistic Conditions. *Scientific REPORTS*, 9:4355, 2019, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40700-9>.

Aladjadjiyan A. The use of physical methods for plant growing stimulation in Bulgaria. *J. Cent. Eur. Agric.*, 8, 2007, 3, p. 369-380.

Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S., Karanov E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ*, 24, 2001, p. 1337–1344.

Atanasof D., Johnson A. G. Treatment of cereal seeds by dry heat. *J Agric Res*, XVIII, 7, 1920, p. 379–390.

Asgar T., Jamil Y., Iqbal M., Z.-ul-Haq, Abbas M. Laser light and magnetic field stimulation effect on some biochemical, enzymes activity and chlorophyll contents in soybean seeds and seedlings during early growth stages. 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.022.

Bewley J.D, Black M. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. 2nd edition, Springer Science, Business Media, Plenum Press New York, 1994.

Bilsborrow P., Cooper J., Tetard-Jones C., Srednicka-Tober D., Baranski M., Schmidt Ch., Shotton P., Volakakis N., Cakmak I., Ozturk L., Leifert Carlo, Wilcockson S. The effect of organic and conventional management on the yield and quality of wheat grown in a long-term field trial. *Eorupian Journal of Agronomy* 51, 2013, p. 71–80.

Bormashenko E., Grynyov R., Bormashenko Y., Drori E. Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Sci Rep* 2, 2012, p. 741.

Bormashenko E., Shapira Y., Grynyov R., Bormashenko Y., Drori E. Interaction of cold radiofrequency plasma with seeds of beans (*Phaseolus vulgaris*). *J Exp Bot*, 66(13), 2015, p. 4013–4021.

Brasoveanu M., Nemtanu M. R., Surdu – Bob C., Karaca G., Erper I. Effect of glow discharge plasma on germination and fungal load of some cereal seeds. *Romanian Reports in Physics*, 67, 2015, 2, p. 617–624.

Butscher D., Schlup T., Roth C., Müller-Fischer N., Gantenbein-Demarchi C., Rudolf von Rohr P. Inactivation of microorganisms on granular materials: reduction of *Bacillus amyloliquefacies* endospores on wheat grains in a low pressure plasma circulating fluidized bed reactor. *J Food Eng* 159, 2015, p. 48–56.

Butsche D., Zimmermann D., Schuppler M., Rudolf von Rohr P. Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge. *Food Control*, 60, 2016, p. 636-645.

- Butscher D.**, Van Loon H., Waskow A., P. R. von Rohr, Schuppler M.. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 2016, p. 222–232.
- Cetinel A.H.S.**, Yalcinkaya T., Akyol T.Y., Gokce A., Turkan I. Pretreatment of seeds with hydrogen peroxide improves deep-sowing tolerance of wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 2021, p. 321–336.
- Choukourov A.**, Biederman H., Slavinska D., Trchova M., Hollander A. The influence of pulse parameters on film composition during pulsed plasma polymerization of diaminocyclohexane. *Surface and Coatings Technology*, 174–175, 2003, p. 863–866.
- Christopher Whitehead J.** The chemistry of cold plasma. *Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and application*. Edited by Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J., Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016, p. 381.
- Chuai C.**, Almdal K., Lyngaae-Jørgensen J. Thermal behavior and properties of polystyrene/poly(methyl methacrylate) blends. *J Appl Polym Sci*, 91, 2001, p. 609–620.
- Copeland, L. O., McDonald, M. B.** *Principles of Seed Science and Technology*. Chapman a Hall, 1995.
- Dabkevičius Z.**, Sinkevičienė J., Semaškienė R., Sirvydas A., Kerpauskas P. The effect of thermal treatment of spring barley seed infection and germination. *Zemdirbyste-Agriculture*, 95, 4, 2008, p. 172–182.
- Dawood N.** Effect of air plasma treatment on water uptake of wheat and barley seeds. *Journal of Taibah University for Science*, 15:1, 2021, p. 1094–1100, DOI: 10.1080/16583655.2021.2021014.
- Dinescu G.**, Ionita E. R., Luciu I., Grisolia C. Flexible small size radiofrequency plasma torch for Tokamak wall cleaning. *Fusion Eng Des*, 82, 2007, p. 2311–2317.
- Dobrin D.**, Magureanu M., Mandache N. B., Ionita M.-D. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 2015, p. 255–260.
- Elwaki M. A.** Use of antioxidant hydroquinone in the control of seed-borne fungi of peanut with special reference to the production of good quality seed. *Plant Pathology Journal*, 2, 2003, p. 75-79.
- Filatova I. I.**, Azharonok V. V., Goncharik S. V., Lushkevich V. A., Zhukovsky A. G., Gadzhieva G. I. Effect of RF plasma treatment on the germination and phytosanitary state of seeds. *J Appl Spectrosc* 81(Russian Original 81, 2), 2014, p. 250–256.
- Filatova I.**, Azharonok V., Kadyrov M., Beljavsky V., Gvozdov A., Shik A., Antonuk A. The effect of plasma treatment of seeds of some grain and legumes on their sowing quality and productivity. *Rom J Phys*, 56, 2011, p. 139–143.
- Filatova I.**, Azharonok V., Lushkevich V., Zhukovsky A., Gadzhieva G., Spasic K., Zikovic S., Puac N., Lazovic S., Malovic G., Petrovic Z. Lj. Plasma seeds treatment as a promising technique for seed germination improvement. In: 31st ICPIG July 14–19. Granada, 2013.

- Florez M., Carbonell M. V., Martínez E. Exposure of maize seeds to stationary magnetic fields: Effects on germination and early growth. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 2007, p. 68–75.
- Granella S. J., Christ D., Werncke I., Bechlin T. R., Coelho S. R. M. Effect of drying and ozonation process on naturally contaminated wheat seeds. *J Cereal Sci*, 80, 2018, p. 205–211.
- Ghaly T. F., Sutherland J. W. Heat damage to grain and seeds. *J Agric Eng Res*, 30, 1984, p. 337–345.
- Grzegorzewski F., Rohn S., Kroh L. W., Geyer M., Schluter O. Surface morphology and chemical composition of lamb's lettuce (*Valerianella locusta*) after exposure to a low-pressure oxygen plasma. *Food Chem*, 122, 2010, p. 1145–1152.
- Guo Q., Meng Y., Qu G., Wang T., Yang F., Liang D., Hu S. Improvement of wheat seed vitality by dielectric barrier discharge plasma treatment. *Bioelectromagnetics*, 39, 2018, p. 120–131.
- Hosnedl, V. Stárnutí a vitalita osiva. In: Pazdera, J. (Ed.) *Osivo a sadba. Sborník referátů*. ČZU Praha, 1999, p. 77 - 81.
- Hong E.-J., Kang D.-H. Effect of sequential dry heat and hydrogen peroxide treatment on inactivation of *Salmonella Typhimurium* on alfalfa seeds and seeds germination. *Food Microbiology*, 53, 2016, p. 9-14.
- Houba M. and Hosnedl V. *Osivo a sadba*, Profi Press, 2002, p. 204.
- Iqbal M., Z. ul Haq, Malik A., Ayoub Ch. M., Jamil Y., Nisar J. Pre-sowing seed magnetic field stimulation: A good option to enhance bitter melon germination, seedling growth and yield characteristics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 2016, p. 30–37.
- Iqbal M., Z. ul Haq, Jamil Y., Nisar J. Pre-sowing seed magnetic field treatment influence on germination, seedling growth and enzymatic activities of melon (*Cucumis melo* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 6, 2016, p. 176–183.
- Jiao S., Zhong Y., Deng Y. Hot air-assisted radio frequency heating effects on wheat and corn seeds: Quality change and fungi inhibition. *Journal of Stored Products Research*, 69, 2016, p. 265-271.
- Ji S.-H., Choi K.-H., Pengkit A., Im J. S., Kim J. S., Kim Y. H., Park Y., Hong E. J., Jung S. K., Choi E.-H., Park G. Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605, 2016, p. 117-128.
- Justice, O.L.; Bass, L.N. Principles and practices of seed storage. *Agriculture Handbook - U.S. Dept. of Agriculture (USA)*. no. 506. NAL, USDA, Beltsville, Md. 20705 – USA, 1978.
- Kamran M., Wang D., Xie K., Lu Y., Shi Ch., Sabagh A.EL., Gu W., Xu P. Pre-sowing seed treatment with kinetin and calcium mitigates salt induced inhibition of seed germination and seedling growth of choysum (*Brassica rapa* var. *parachinensis*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112921, 2021, p. 1–13.



- [Kuzminova A.](#), Shelemin A., Kylián O., Choukourov A., Valentová H., Krakovský I., Nedbal J., Slavínská D., Biederman H. Study of the effect of atmospheric pressure air dielectric barrier discharge on nylon 6,6 foils, *Polym. Degrad. Stab.*, 110, 2014, p. 378–388.
- [Lancaster R.](#) Vegetable Seed Treatments. Department of Agriculture and Food. Government of Western Australia. Cited: October 27, 2016 from <https://www.agric.wa.gov.au/vegetables/vegetable-seed-treatments?page=0%2C0>.
- [Lee S.-H.](#), Kim J.-S., Lee J.-M. Moisture contents in bottle gourd seeds during dry heat treatment and subsequent germination. *Hort. Science*, 2004, 39, 4, p. 758-759.
- [Lee K.H.](#), Kim H.-J., Woo K.S., Jo Ch., Kim J.-K., Kim S.H., Park H.Y., Oh S.-K., Kim W.H. Evaluation of cold plasma treatments for improved microbial and physicochemical qualities of brown rice. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 2016, p. 442-447.
- [Lee Y.](#), Lee Y.Y., Kim Y.S., Balaraju K., Mok Y.S., Yoo S.J., Jeon Y. Enhancement of seed germination and microbial disinfection on ginseng by cold plasma treatment. *Journal of Ginseng Research*, 45, 2021, p. 519-526.
- [Lhotská, M. A.](#), Kropáč, Z. Kapesní atlas semen, plodů a klíčících rostlin. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. Pomocné knihy pro žáky. ISBN 14-120-85, 1985.
- [Lhotská, M. A.](#), Krippelová, T. Ako sa rozmnožujú a rozširujú rastliny. Ilustroval Katarína Cigánová. Bratislava, Obzor. Obrázky z prírody (Obzor). ISBN 65-014-87, 1987.
- [Ling L.](#), Jiafeng J., Jiangang L., Minchong Sh., Xin H., Hanliang Sh., Yuanhua D. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific Reports*, 4 : 5859, 2014, p. 1–7.
- [Los A.](#), Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Bourke P. Investigation of mechanisms involved in germination enhancement of wheat (*Triticum aestivum*) by cold plasma: effects on seed surface chemistry and characteristics. *Plasma Process Polym.*, 16, 2019, e1800148.
- [Marta K.](#) Non-thermal plasma for germination enhancement of radish seeds. *Procedia Computer Science*, 86, 2016, p. 132 – 135.
- [Marmur A.](#), Della Volpe C., Siboni S., Amirfazli A., Drelich J. W. Contact angles and wettability: towards common and accurate terminology. *Surf Innov.*, 5(1), 2017, p. 3–8.
- [Mazandarani A.](#), Goudarzi Sh., Ghafoorifard H., Eskandari A. Evaluation of DBD plasma effects on barely seed germination and seedling growth. *IEEE Transactions on Plasma Science*, Manuscript number: TPS12369, 2020, DOI: 10.1109/TPS.2020.3012909
- [McCormack Jeffrey H.](#) Seed Processing and Storage: Principles and Practices. Creative commons, Version 1.3, December 28, 2004.
- [Meng Y.](#), Qu G., Wang T., Sun Q., Liang D., Hu S. Enhancement of germination and seedling growth of wheat seed using dielectric barrier discharge plasma with various gas sources. *Plasma Chem Plasma Process.*, 37, 2017, p. 1105–1119.

Miller S. A., Lewis Ivey M. L. Hot water treatment of vegetable seeds to eradicate bacterial plant pathogens in organic production systems. The Ohio State University Extension, Columbus, OH, Ohio State Extension Bulletin HYG-3086-05, 2005, p. 3.

Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J. Chapter 1 – Plasma in food and agriculture. Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and application. Edited by Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J., Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016, p. 381.

Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J. Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and application. Elsevier Science Publishing Co Inc, Academic Press Inc, San Diego, 2016.

Nega E., Ulrich R., Werner S., Jahn M. Hot water treatment of vegetable seed – an alternative seed treatment method to control seed borne pathogens in organic farming. J. Plant Dis. Protect, 110, 2003, p. 220-234.

Ohta T. Plasma in Agriculture. Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and application. Edited by Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J., Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016, p. 381.

Ono R., Uchida S., Hayashi N., Kosaka R., Soeda Y. Inactivation of bacteria on plant seed surface by low-pressure RF plasma using a vibrating stirring device. Vacuum, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.vacuum.2016.07.01>.

Pazdera J. The possibilities of seed quality enhancement pre-sowing seed treatments. Agris, 2003, Cited: October 31, 2016 from <http://www.agris.cz/clanek/126180>.

Powelson D. S., Schlipf H., Garz J., Christensen B. T., Korschens M., Schellber J., Kirjushin B. D., Mercik St., Krzysch G., Caesar K., Peschke H., Lang H., Dressel J., Krauss M., Kubat J., Roggasik J., Mader P. Maintenance and comprehensive use of European long-term field trials. Memorandum of the International Conference „Long-term field trials as a research basis for sustainable agriculture“, Archive of Agronomy and Soil science, 42, 3-4, 1997, p. 154-156. ISBN 90-5702-3245.

Procházka, S. Botanika-Morfologie a fyziologie rostlin. Brno, MZLU. ISBN 80-7157-870-3, 2000.

Puligundla P., Kim J.-W., Mok C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. Food Control, 71, 2017, p. 376 – 382.

Rahman M. M. E., Ali M. E., Ali M. S., Rahman M. M., Islam M. N. Hot water thermal treatment for controlling seed-borne mycoflora of maize. Int. J. Sustain. Crop Prod., 3 (5), 2008, p. 5-9.

Rahman M. M., Sajib S. A., Rahi M. S., Tahura Sh., Roy N. Ch., Parvez S., Reza M. A., Talukder M. R., Kabir A. H. Mechanisms and signaling associated with LPDBD plasma mediated growth improvement in wheat. Scientific REPORTS, 8:10498, 2018, DOI:10.1038/s41598-018-28960-3.

Randeniya L. K., Gerard J. J. B. de Groot. Non-Thermal Plasma Treatment of Agricultural Seeds for Stimulation of Germination, Removal of Surface Contamination and Other Benefits: A Review. Plasma Process. Polym., 12, 2015, p. 608–623.

Recek N., Vesel A., Zaplotnik R., Paul D., Primc G., Gselman P., Mozetič M. Hydrophilization of corn seeds by non- equilibrium gaseous plasma. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 8:32, 2021, <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00231-w>.

Rupiasih N. N., Vidyasagar P. B. Effect of UV-C radiation and hypergravity on germination, growth and content of chlorophyll of wheat seedlings. *AIP Conf Proc*, 1719, 2016, 030035, <https://doi.org/10.1063/1.4943730>.

Sarapirom S., Yu L.D. Low-pressure and atmospheric plasma treatments of sunflower seeds. *Surface & Coatings Technology*, 406, 126638, 2021, p. 1–9.

Sarinont T., Amano T., Attri P., Koga K., Hayashi N., Shiratani M. Effects of plasma irradiation using various feeding gases on growth of *Raphanus sativus* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605, 2016, p. 129-140.

Sedlářová K. Podle Vinter V.

Selcuk M., Oksuz L., Basaran P. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. *Bioresource Technology*, 99, 2008, p. 5104–5109.

Shao C., Wang D., Tang X., Zhao L., Li Y. Stimulating effects of magnetized arc plasma of different intensities on the germination of old spinach seeds. *Mathematical and Computer Modelling*, 58, 2013, p. 814–818.

Sharma K.K., Singh U.S., Sharma P., Kumar A., Sharma L. Seed treatments for sustainable agriculture-A review. *J. Appl. & Nat. Sci.*, 7 (1), 2015, p. 521 – 539.

Singh R., Kishor R., Singh V., Singh V., Prasad P., Aulakh N.S., Tiwari U.K., Kumar B. Radio-frequency (RF) room temperature plasma treatment of sweet basil seeds (*Ocimum basilicum* L.) for germination potential enhancement by immaculation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 26, 100350, 2022, p. 1–12.

Sliwinska E. and Bewley J. D. Overview of Seed Development, Anatomy and Morphology. CAB International 2014. *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 3rd Edition. Edited by Gallagher R.S., CPI Group (UK) Ltd, Croydon, 2014, p. 307.

Starič P., Vogel-Mikuš K., Mozetič M., Junkar I. Effects of Nonthermal Plasma on Morphology, Genetics and Physiology of Seeds: A Review. *Plants*, 9, 1736, 2020, 9, p. 1–18.

Šerá B. Klíčivost semen jako běžný test v botanickém pozorování, šlechtění a experimentech. Edited by Bláha L., Šerá B. *Příspěvky k problematice zemědělského pokusnictví: contribution to agricultural experimentation*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2014, p.140.

Šerá B., Špatenka P., Šerý M., Vrchotová N., Hrušková I. Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 38, 10, 2010, p. 2963.

Šerá B., Stranák V., Šerý M., Tichý M., Špatenka P. Germination of *Chenopodium album* in response to microwave plasma treatment. *Plasma Science and Technology*, 10, 4, 2008, p. 506.

Taylor A. G., Harman G. E. Concepts and technologies of selected seed treatments. *Phytopathology*, 28, 1990. p. 312-339.

[Teodorescu M.](#), Bazavan M., Ionita E. R., Dinescu G. Characteristics of a long and stable filamentary argon plasma jet generated in ambient atmosphere. *Plasma Sources Sci Technol*, 24, 2015, 025033.

[Turner M.](#) Physics of cold plasma. Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and application. Edited by Misra N. N., Schluter O., Cullen P. J., Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016, p. 381.

[Vinter V.](#) Rostliny pod mikroskopem – Základy anatomie cévnatých rostlin. Olomouc, Twin s. r. o. ISBN 978-80-244-2223-7, 2009.

[Volin J. C.](#), Denes F. S., Young R. A., Park S. M. T. Modification of seed germination performance through cold plasma chemistry technology. *Crop Sci*, 40, 2000, p. 1706–1718.

[Zahoranová A.](#), Henselová M., Hudecová D., Kaliňáková B., Kováčik D., Medvecká V., Černák M. Effect of cold atmospheric pressure plasma on the wheat seedlings vigor and on the inactivation of microorganisms on the seeds surface. *Plasma Chem Plasma Process*, 36, 2016, p. 397–414.

[Zákon č. 219/2003 Sb.](#) O uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a o změně některých zákonů (zákon o oběhu osiva a sadby), 2003.

[Zanganeh R.](#), [Jamei R.](#), [Rahmani F.](#) Pre-sowing seed treatment with salicylic acid and sodium hydrosulfide confers Pb toxicity tolerance in maize (*Zea mays L.*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111392, 2020, p. 1–9.

## 9. Seznam zkratk

BA	Bacillus amyloliquefaciens
DBV	Dielektrický bariérový výboj
HTS	Hmotnost tisíce semen
IČ	Infračervená
ISTA	Mezinárodní asociace pro testování osiv
MFF UK	Fakulta makromolekulární fyziky Univerzity Karlovy
NTP	Nízkoteplotní plazma
RF	Radiofrekvenční
R/S	Poměr kořene/výhonek (Root/Shoot)
UF	Ultrafialové

## 10. Dodatečná data

*Tabulka D1.* Statistická data klíčení a vzcházení semen pšenice ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 20 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	96,24	A -	3,85	E D
15	98,51	A -	3,67	E -
30	98,75	A -	3,85	E D
45	95,75	A -	3,90	- D
60	92,97	A -	4,90	- C
180	53,43	B -	5,80	- B
300	25,50	C -	6,20	- A

t – Doba ošetření.

KL – Průměrně klíčení na 4 a 7 den, respektive.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

MGT – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D2.* Statistická data průměrné hmotností sušin (kořene a výhonku) rostlin pšenice ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 20 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	13,63	A	14,82	B A -
15	13,49	A	16,22	B A -
30	13,64	A	14,80	B A C
45	13,49	A	16,03	B A -
60	12,37	A	17,18	- A -
180	10,43	B	15,21	B - C
300	9,37	C	12,66	- - C

t – Doba ošetření.

DWSH1plant – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

DWRO1plant – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D3.* Statistická data klíčení a vzcházení semen pšenice ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 24 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	98,25	A A	3,97	C C
15	98,75	A -	3,89	C -
30	98,75	A A	3,96	C C
45	98,25	A A	3,98	C C
60	98,00	A A	4,20	B -
180	83,25	B -	4,97	A A
300	77,71	C -	5,02	A -

t – Doba ošetření.

KL – Průměrně klíčení na 4 a 7 den, respektive.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

MGT – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D4.* Statistická data průměrné hmotností sušin (kořene a výhonku) rostlin pšenice ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 24 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	11,94	B A -	15,11	- A
15	12,65	- A -	17,65	- A
30	12,11	- A -	14,86	B A
45	11,63	B A C	13,66	B A
60	11,63	B A C	17,07	- A
180	10,47	B - C	14,91	B A
300	10,15	- - C	12,47	B -

t – Doba ošetření.

DWSH1plant – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

DWRO1plant – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D5.* Statistická data klíčení a vzcházení semen ječmene ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 20 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	96,80	A A	3,97	D -
15	94,30	A -	4,01	D D
30	56,55	B -	4,27	C -
45	25,57	C -	4,57	B -
60	15,92	D -	5,43	A -
180	2,64	-		-
300	0,00	-	-	-

t – Doba ošetření.

KL – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

MGT – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D6.* Statistická data průměrné hmotnosti sušin (kořene a výhonku) rostlin ječmene ošetřených vysokofrekvenční plazmovou tryskou za atmosférického tlaku při vzdálenosti 20 mm. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	9,19	B - B -	15,41	A A
15	9,82	B A B -	15,13	A A
30	8,54	B - - -	14,47	A -
45	9,51	B - B -	14,59	A A
60	10,75	- A - A	18,47	A A
180	-	-	-	-
300	-	-	-	-

t – Doba ošetření.

DWSH1plant – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

DWRO1plant – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.



*Tabulka D7.* Statistická data klíčení a vzcházení semen pšenice ošetřených dielektrickým bariérovým výbojem za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	95,90	A A	4,06	A -
2	95,00	A A	3,83	B B
5	94,34	A A	3,79	B B
10	96,35	A A	3,77	B -

t – Doba ošetření.

EK4 a KL – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

MGT – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D8.* Statistická data průměrné hmotností sušin (kořene a výhonku) rostlin pšenice ošetřených dielektrickým bariérovým výbojem za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	10,61	A A	14,47	B B
2	11,58	A A	12,13	B B
5	12,67	A A	15,36	A -
10	11,22	A A	13,42	B -

t – Doba ošetření.

DWSH1plant – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

DWRO1plant – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D9.* Statistická data klíčení a vzcházení semen ječmene ošetřených dielektrickým bariérovým výbojem za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	92,44	A A	4,14	A
2	93,34	A A	4,00	A
5	92,15	A A	4,00	A
10	94,30	A A	4,01	A

t – Doba ošetření.

**EK4 a KL** – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

**MGT** – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D10.* Statistická data průměrné hmotností sušin (kořene a výhonku) rostlin ječmene ošetřených dielektrickým bariérovým výbojem za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	8,17	A	16,30	A
2	10,66	A	12,55	A
5	10,74	A	16,04	A
10	12,17	A	17,57	A

t – Doba ošetření.

**DWSH1plant** – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

**DWRO1plant** – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D11.* Statistická data klíčení a vzcházení semen pšenice ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	95,20	A A	3,96	A -
30	97,05	A A	3,72	B -
60	96,62	A -	3,77	B B
180	93,83	A A	3,76	B B
300	92,55	A A	3,72	B B

t – Doba ošetření.

KL – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

MGT – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D12.* Statistická data průměrné hmotnosti sušin (kořene a výhonku) rostlin pšenice ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku..

(Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	11,79	A A	13,17	A A
30	11,23	A A	11,71	A A
60	10,33	A -	12,25	A A
180	10,58	A A	11,11	A -
300	10,49	A A	11,23	A A

t – Doba ošetření.

DWSH1plant – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

DWRO1plant – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D13.* Statistická data průměrné hmotnosti sušin (kořene a výhonku) rostlin ječmene ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku..

(Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	11,33	A -	14,70	A A
30	11,68	A A	16,34	A A
60	11,96	A A	15,03	A A
180	12,15	A A	15,33	A A
300	11,80	A A	14,48	A -

t – Doba ošetření.

**DWSH1plant** – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

**DWRO1plant** – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D14.* Statistická data klíčení a vzcházení semen kukuřice ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku. (Rozdíly dat byly

považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	93,00	A A	5,65	A A
30	91,55	A A	5,67	A A
60	91,00	A A	5,67	A A
180	89,57	A A	5,66	A -
300	88,50	A -	5,63	A A

t – Doba ošetření.

**KL** – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

**MGT** – Střední doba klíčení semen.

*Tabulka D15.* Statistická data průměrné hmotnosti sušin (kořene a výhonku) rostlin kukuřice ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku.

(Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	33,59	A -	140,88	- A - A
30	45,40	A A	117,26	B A B -
60	42,61	A A	118,03	B - B -
180	37,17	A A	126,84	B A B A
300	39,91	A A	106,48	B - - -

t – Doba ošetření.

**DWSH1plant** – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

**DWRO1plant** – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D16.* Statistická data klíčení a vzcházení semen sóji ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku. (Rozdíly dat byly

považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	KL, %	HSD Test	MGT, day	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	91,00	A A	4,94	- A - A
30	82,53	A A	4,90	- A - A
60	81,06	A -	4,50	B A B A
180	84,48	A A	4,36	B - - -
300	88,59	A A	4,47	B A B -

t – Doba ošetření.

**KL** – Průměrné klíčení na 4 a 7 den, respektive.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

**MGT** – Střední doba klíčení semen.

Tabulka D17. Statistická data průměrné hmotnosti sušin (kořene a výhonku) rostlin sóji ošetřených radiofrekvenčním nízkoteplotním výbojem za sníženého tlaku..

(Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t, s	DWSH1plant, mg	HSD Test	DWRO1plant, mg	HSD Test
		Tukey Group		Tukey Group
0	84,91	A -	30,49	A -
30	96,08	A A	40,44	A A
60	92,39	A A	38,84	A A
180	92,24	A A	34,12	A A
300	95,65	A A	32,55	A A

t – Doba ošetření.

**DWSH1plant** – Průměrná suchá hmotnost výhonku 1 rostliny.

**DWRO1plant** – Průměrná suchá hmotnost kořene 1 rostliny.

**HSD Test** – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

*Tabulka D18.* Statistická data polních pokusů semen pšenice ošetřených pomocí DBV a plazmové trysky za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t (typ), s	Plocha (Odrůda)	NrosM2	HSD Test	Vynos, t/ha	HSD Test
			Tukey Group		Tukey Group
0	Eko (Annie)	72,0	A A	5.186	B A C B A C
1,0 (DBV)		62,3	A A	5.144	B A C B A C
2,5 (DBV)		63,7	A A	5.146	B A C B A C
15 (Jet)		66,7	A A	5.309	B A C B A C
30 (Jet)		65,7	A A	5.368	B A - B A -
0	Eko (Citrus)	69,0	A A	4.410	B A C B A C
1,0 (DBV)		63,0	A A	4.360	B A C B - C
2,5 (DBV)		60,3	A A	4.280	B - C - - C
15 (Jet)		66,3	A A	4.706	B A C B A C
30 (Jet)		60,0	A A	4.216	- - C - - -
0	Konvenční (Annie)	58,7	A -	5.141	B A C B A C
1,0 (DBV)		65,7	A A	5.248	B A C B A C
2,5 (DBV)		65,3	A A	5.221	B A C B A C
15 (Jet)		63,7	A A	5.360	B A - B A -
30 (Jet)		69,7	A A	5.458	- A - - A -
0	Konvenční (Citrus)	66,3	A A	4.760	B A C B A C
1,0 (DBV)		68,7	A A	4.762	B A C B A C
2,5 (DBV)		69,7	A A	4.600	B A C B A C
15 (Jet)		61,7	A A	4.541	B A C B A C
30 (Jet)		66,0	A A	4.386	B A C B A C

t (typ) – Doba (typ) ošetření.

NrosM2 – Počet rostlin na m<sup>2</sup>.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami

DBV – Dielektrického Bariérového Výboje za atmosférického tlaku.

Jet – Vysokofrekvenční plazmové trysky za atmosférického tlaku.

*Tabulka D19.* Statistická data polních pokusů semen pšenice ošetřených pomocí DBV a plazmové trysky za atmosférického tlaku. (Rozdíly dat byly považovány za významné na základě  $P < 0,05$ ).

t (typ), s	Plocha (Odrůda)	NrosM2	HSD Test	Vynos, t/ha	HSD Test
			Tukey Group		Tukey Group
0	Eko (Kampa)	75	A A	4.330	A A
1,0 (DBV)		73	A A	4.264	A A
2,5 (DBV)		65	A A	3.368	A A
3,5 (DBV)		69	A A	4.208	A A
0	Eko (Grace)	75	A A	4.066	A A
1,0 (DBV)		72	A A	3,952	A A
2,5 (DBV)		74	A A	4,080	A A
3,5 (DBV)		77	A A	4.018	A A
0	Eko (Azit)	77	A A	3.784	A -
1,0 (DBV)		67	A A	3.946	A A
2,5 (DBV)		64	A -	4.072	A A
3,5 (DBV)		73	A A	3.952	A A

t (typ) – Doba (typ) ošetření.

NrosM2 – Počet rostlin na m<sup>2</sup>.

HSD Test – Tukey's Studentized Range test s Tukey Grouping hodnotami.

DBV – Dielektrického Bariérového Výboje za atmosférického tlaku.