

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra rostlinné výroby



Seed Enhancements

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Tereza Lubanda

Vedoucí práce: Ing. Kateřina Pazderů Ph.D.

2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Seed Enhancements vypracovala samostatně a použila jsem jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze, dne

Poděkování

Ráda bych poděkovala ing. Kateřině Pazderů, Ph.D. za cenné rady a připomínky a také za vstřícný a přátelský přístup. Zároveň bych chtěla poděkovat své rodině za trpělivost a podporu.

Souhrn

Levandule náleží mezi LAKR rostliny, která nachází uplatnění v mnoha směrech. Generativní rozmnožování je však poněkud obtížné, protože její semena jsou relativně málo klíčivá.

Cílem této práce bylo navrhnout způsob, jak klíčivost a vzcházivost osiva levandule zlepšit a také zjistit nejvhodnější podmínky pro toto klíčení. K ošetření semen bylo využito prehydratační ošetření s provzdušňováním v délce 12, 18, 24, 30 a 36 hodin. Poté byla semena ponechána klíčit na světle / ve tmě, při 15 °C/20 °C, případně s předchozím předchlazením, na filtračním papíře / na písku. Test laboratorní vzcházivosti probíhal v písku při 15 °C.

Z výsledků vyplývá, že prehydratační úpravy měly prokazatelný vliv na klíčivost osiva levandule, ve většině parametrů se kontrola významně lišila od ošetřených variant. Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi různými délkami prehydratace. Klíčení ve tmě při 15 °C i 20 °C neposkytlo žádné průkazné rozdíly v klíčivosti mezi ošetřenými variantami a kontrolou. Obecně byla klíčivost prokazatelně vyšší ve 20 °C než v 15 °C a také na světle než ve tmě. Ve všech sledovaných parametrech laboratorní vzcházivosti levandule se výsledky kontroly prokazatelně liší od výsledků alespoň některých ošetřených variant.

Klíčová slova

Hydratační úpravy, klíčivost, teplota, světlo, vzcházivost, levandule

Summary

Lavender belongs to a group of aromatic plants and it is used in many ways. Generative reproduction is however somewhat difficult, because germination of its seeds is relatively low.

The aim of this work was to design a method to improve germination and seedling emergence of lavender seeds and also to find out best conditions for the germination. The seeds were prehydrated for 12, 18, 24, 30 and 36 hours respectively and let germinate in light/darkness, at 15 °C/20 °C, with or without prechilling on filter paper/ on sand. The test of laboratory seedling emergence was carried out in the sand at 15 °C.

The results show that the hydration treatments had a demonstrable effect on germination of lavender seeds, results of the control sample significantly differed in most cases from those of treated samples. However, no demonstrable differences between the individual lengths of prehydration treatment were found. Germination in darkness at 15 °C and 20 °C did not provide any demonstrable differences between the control sample and treated samples. Generally, germination was higher at 20 °C than at 15 °C and also in light rather than in darkness. The results of the control sample significantly differs from at least some of the treated samples in all parameters of laboratory seedling emergence.

Keywords

Hydration treatment, germination, temperature, light, seedling emergence, lavender

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Kvalita osiva	10
3.2	Stavba semene.....	10
3.3	Klíčivost.....	11
3.3.1	Podmínky klíčení	12
3.3.2	Hodnocení klíčivosti	15
3.4	Vitalita osiva	16
3.5	Dormance.....	17
3.6	Vliv fytohormonů na dormanci a klíčení.....	18
3.7	Úpravy zlepšující kvalitu osiva.....	19
3.7.1	Posklizňové úpravy.....	19
3.7.2	Předseťové úpravy osiva.....	20
3.7.2.1	Hydratační úpravy.....	21
3.7.2.1.1	Priming (řízený příjem vody)	22
3.7.2.1.2	Kontrolovaná hydratace	24
3.7.2.1.3	Prehydratace (neřízený příjem vody).....	24
3.7.2.1.4	Nakličování.....	25
3.7.2.2	Obalování semen.....	25
3.7.2.3	Regulace patogenů.....	26
3.7.2.3.1	Biologické úpravy.....	26
3.7.2.3.2	Fyzikální úpravy- Ošetření horkou vodou	27
3.8	Levandule.....	27
3.8.1	Obecné informace	27
3.8.2	Úpravy osiva levandule pro zlepšení klíčivosti	28
4	Materiál a metodika	30
4.1	Materiál	30
4.2	Metodika	30
4.2.1	Prehydratační ošetření.....	30
4.2.2	Stanovení klíčivosti.....	30

4.2.3	Stanovení laboratorní vzcházivosti.....	31
4.2.4	Způsob hodnocení výsledků	31
4.2.5	Statistické vyhodnocení	32
5	Výsledky	33
5.1	Výsledky klíčivosti	33
5.1.1	Průběh klíčení ve 20 °C na světle	33
5.1.2	Průběh klíčení ve 20 °C ve tmě	34
5.1.3	Průběh klíčení v 15 °C na světle.....	35
5.1.4	Průběh klíčení v 15 °C ve tmě	36
5.1.5	Průběh klíčení kontrolních vzorků v různých podmínkách	37
5.1.6	Vliv teploty na zjišťované semenářské parametry.....	38
5.1.7	Vliv jednotlivých abiotických faktorů na klíčivost.....	39
	Porovnání vlivu podmínek na klíčivost	42
5.2	Výsledky laboratorní vzcházivosti.....	43
6	Diskuze	45
7	Závěr	48
8	Použité zdroje	49

1 Úvod

Dobré a kvalitní osivo je základním předpokladem k úspěšnému pěstování jakékoliv rostliny. Sklizené osivo určené k dalšímu množení, prodeji či k pěstování je proto kontrolováno Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZUZ) a musí být garantována jeho kvalita. Tato kontrola se však netýká všech obchodovatelných rostlin, respektive jejich osiva. K takovým rostlinám patří například i léčivé, aromatické a kořeninové rostliny.

Levandule je LAKR rostlinou, která se pěstuje v mnoha zemích Evropy, Asie a Severní Ameriky, zejména pak v Bulharsku a ve Francii. Využívá se v široké paletě odvětví, například v kosmetice a výrobě parfémů, při přípravě jídel, nápojů a likérů, léků a jako biologická ochrana rostlin či proti erozi půdy, jako okrasná rostlina a také v léčitelství (Tonutti a Liddle, 2010). Její význam je tedy z ekonomického hlediska nesporný.

Množení levandule je možné provádět dvěma způsoby. Existuje vegetativní způsob, tedy řízkování a dělení trsů, přičemž se získá geneticky totožná rostlina s matečnou rostlinou a generativní způsob, tedy množení semeny, kdy jsou získaní jedinci geneticky odlišní. Klíčivost a následná vzcházivost semen levandule ovšem bývá relativně nízká.

Předseťové úpravy jsou nadstandardním ošetřením osiva, kterým lze zlepšit semenářské parametry osiva. S jejich pomocí se dosáhne se rychlejšího a jednotnějšího klíčení a vzcházení semen a podpoří se tak schopnost osiva poskytnout požadovanou kvalitu výsledného porostu. Uplatňují se ve prakticky ve všech odvětvích zahradnické produkce, tedy v zelinářství, ovocnictví, i v květinářství. Jednou z dostupných a relativně snadných metod předseťových úprav jsou hydratační metody, a právě jejich aplikací na osivo levandule za účelem zlepšení semenářských parametrů se bude zabývat tato práce.

2 Cíl práce

Cílem této práce bylo zjistit, jak by bylo možné zlepšit klíčivost a vzcházivost osiva levandule a navrhnout pro to vhodnou metodu. K tomuto účelu bylo využito prehydratační ošetření osiva. Následně bylo v závislosti na předchozí rešerši zjišťováno, jaká by měla být optimální délka tohoto hydratační ošetření a jaké podmínky, tj. teplota a světlo/tma, jsou pro klíčení této rostliny nejvhodnější. Za tímto účelem bylo prováděno klíčení v různých podmínkách, přičemž bylo sledováno několik semenářských parametrů.

Hypotézy:

Hydratační úprava zlepší klíčivost osiva levandule oproti neošetřené kontrole.

Hydratační úprava zlepší vzcházivost osiva levandule oproti neošetřené kontrole.

Klíčivost levandule je ovlivněna světlem.

Klíčivost levandule je ovlivněna teplotou.

3 Literární rešerše

3.1 Kvalita osiva

Kvalitní osivo je důležitou složkou pro úspěšné pěstování rostlin, protože je základním předpokladem a nejlevnějším agrotechnickým zásahem pro získání zdravého a vitálního porostu a tím i vysokého hospodářského výnosu. Jak uvádí Chloupek (2000), posuzuje se kvalita osiva na základě několika faktorů. Mezi ně se řadí zejména klíčivost a vitalita osiva, zdravotní stav a dále také čistota osiva, odrůdová pravost a odrůdová čistota.

Podle Houby a Hosnedla (2002) mají na kvalitu osiva významný vliv jak jeho vnitřní vlastnosti, tak i přírodní podmínky, které působí na mateřskou rostlinu již před vytvořením samičích buněk. Je proto velmi důležitý původ neboli provenience osiva. Dále hraje svoji roli také agrotechnika pěstování, vlastní sklizeň, posklizňové úpravy a následně skladování. Jak se zmiňují Hilhorst a Toorop (1997), nezanedbatelný není vliv ani daného druhu a odrůdy.

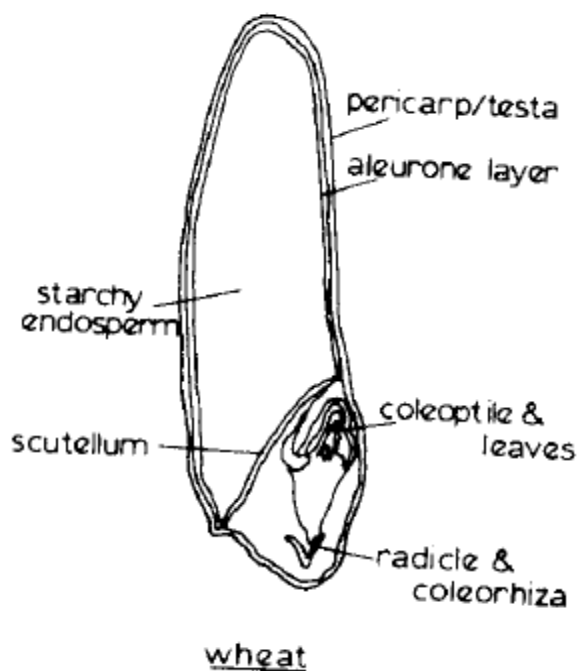
3.2 Stavba semene

Semeno je reprodukčním orgánem rostlin, který se vyvíjí z oplozeného vajíčka. Skládá se obvykle z embrya, endospermu, perispermu a testa neboli osemení (obr.1) .

Embryo se skládá z embryonální osy, která dále zahrnuje vegetační vrchol (plumuli) a embryonální vrchol kořene (radikulu) a dále obsahuje jednu nebo dvě dělohy. Tvar a velikost embrya se ve vztahu k ostatním strukturám semene mohou značně lišit. (Bewley a Black, 1985)

Endosperm vzniká v důsledku oplození diploidního jádra zárodečného vaku jednou pohlavní buňkou pylové láčky, je proto triploidní. Jak uvádí Bewley a Black (1985), semena mohou mít endosperm buď dobře vyvinutý (například obilniny) anebo může být tvořen jen několika vrstvami buněk (například u salátu). Ve druhém případě potom plní funkci zásobního orgánu dělohy. Perisperm je také zásobním pletivem semene, tzv. vnější bílek.

Testa neboli osemení plní funkci ochrannou, vytváří bariéru mezi embryem a vnějším prostředím. Vzniká přeměnou vaječných obalů. (Bewley a Black, 1985) Oplodí (perikarp) se vyskytuje jen u plodů, například u obilek a jak uvádí Houba a Hosnedl (2002), vzniká přeměnou stěn semeníku a květních částí.



Legenda

Starchy endosperm: škrobnatý endosperm

Pericarp/testa: perikarp/osemení

Aleurone layer: aleuronová vrstva

Coleoptile & leaves: koleoptile (pupen. pochva) & listy

Scutellum: štítek

Radicle & coleorhiza: kořínek & koleorhiza (kořenová pochva)

Obrázek č. 1: Stavba semene pšenice (zdroj Bewley, J. D., Black, M. 1985. Seeds: Physiology of Development and Germination)

3.3 Klíčivost

Ze semenářského hlediska se klíčivostí rozumí schopnost semene vyklíčit a vyvinout se v životaschopnou rostlinu za předpokladu, že jsou pro klíčení daného osiva zajištěny vhodné podmínky a dormantní semena jsou ze vzorku odstraněna (například aplikací kyseliny giberelové). Jak dále uvádí Chloupek (2000), do výpočtu klíčivosti se nezahrnují abnormální a poškození klíčenci, dormantní a neživá semena.

Klíčení začíná příjmem vody neboli bobtnáním a je ukončeno proražením klíčku osemením. Jak uvádí Bewley a Black (1985), zahrnuje tento proces mnoho fází, například hydrataci bílkovin, dýchání, makromolekulární syntézu, prodlužování buněk apod.. Tyto pochody se sice účastní i jiných procesů, ale v tomto případě je důležitý jejich společný účinek. Houba a Hosnedl (2002) se s Copelandem a McDonaldem (1995) shodují, že se během klíčení v semeni, které se nachází v klidovém stádiu s nízkou vlhkostí a nízkou metabolickou, aktivují složité metabolické procesy, což následně umožní vytvoření klíčku a růst a vývin semene v životaschopnou rostlinu.

Dle Copelanda a McDonalda (1995) jsou semena většiny rostlinných druhů schopna vyklíčit již před dosažením fyziologické zralosti. Tuto teorii potvrzují i Houba a Hosnedl (2002), kteří uvádějí, že semena většiny kulturních druhů rostlin mají schopnost klíčit již v raných fázích svého vývinu.

Míra klíčivosti je ovlivněna několika aspekty. Jak se zmiňuje Chloupek (2000), jedná se především o kvalitu užitého osiva, teplotu, vlhkost, případné mechanické poškození, sušení a uskladnění semen. Obecně lze také konstatovat, že nízký obsah vody v semenech a nízká teplota při skladování klíčivost osiva významně prodlužují. Ztráta schopnosti klíčit obvykle nastane v důsledku spotřeby rezervních látek semenným zárodkem či mikroflórou anebo škůdci, tj. hmyzem.

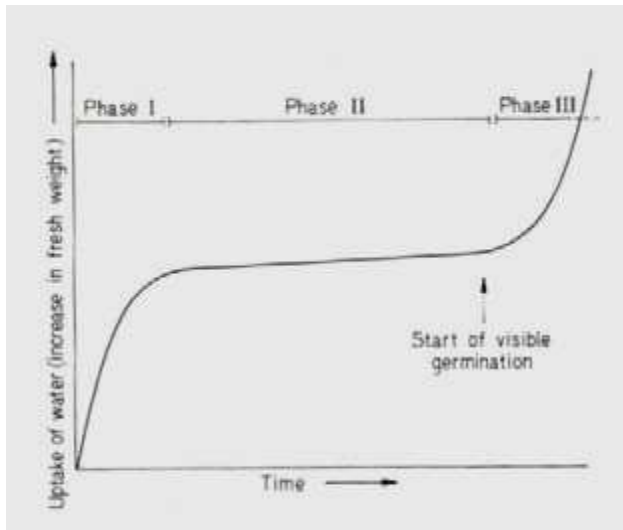
3.3.1 Podmínky klíčení

Základními podmínkami pro klíčení jsou voda, vzduch (kyslík), optimální teplota a v některých případech i světlo.

Voda je spjata s klíčením od samého počátku, protože je nutná pro aktivaci enzymů, přesun a využití zásobních látek. Suchá semena mají nízkou metabolickou aktivitu, což se dle Copelanda a McDonalda (1995) přisuzuje jejich nízké vlhkosti (obvykle 5 – 10 %). Příjem vody semeny probíhá ve třech fázích (Obr. č. 2):

- V I. fázi neboli ve fázi bobtnání (imbibice) přijímají suchá semena vodu, týká se to i semen dormantních a neživých. Rychlost bobtnání se odvíjí od rozdílu vodního potenciálu semen a okolního prostředí a také na propustnosti semenných obalů. V této fázi je příjem vody nejrychlejší.
- Ve II. fázi se aktivují metabolické procesy, a proto se tato fáze týká pouze klíčivých semen. Houba a Hosnedl (2002) tvrdí, že až do této fáze nepředstavuje přerušení dodání vody prakticky žádné riziko pro porušení klíčku nebo klíčivosti semene. Dle Copelanda a McDonalda (1995) probíhají procesy nutné ke klíčení a aktivují se enzymy, které štěpí sacharidy, tuky, bílkoviny a další látky. Semeno také ztrácí na váze z důvodu prodýchávání zásob.

- III. fáze se probíhá pouze u živých semen a je spjatá zejména s metabolickou aktivitou. V této fázi dochází k viditelnému klíčení. Proražení kořínku nastává podle Bewleyho (1985) v důsledku prodlužování nebo dělení buněk.



Legenda

Phase: Fáze

Uptake of water: Množství přijaté vody

Time: Čas

Start of visible germination: Počátek viditelného klíčení

Obrázek č. 2: Křivka průběhu klíčivosti (zdroj Bewley, J. D., Black, M. 1985. Seeds: Physiology of Development and Germination)

Dobu, kterou se semena stráví v každé fázi, dle Bewleyho a Blacka (1985) závisí na mnoha faktorech, jako jsou například:

- složení semene
- teplota
- obsah kyslíku
- vlhkost semen
- propustnost semenných obalů
- dostupnost vody

V podstatě všechny metabolické procesy, které v semeni probíhají před ukončením klíčení nedormantních semen, probíhají podle Bewleyho (1997) velmi podobně i v nabobtnalých dormantních semenech. V dormantních semenech je však podle Cadman a kol. (2006) velké množství ABA a málo giberelinů.

Předpokládá se, že struktury a enzymy potřebné pro metabolické pochody jsou přítomné v suchých semenech, poté co přečkaly stadium vysušení. Při příjmu vody se proto podle Bewleyho (1997) rychle metabolická aktivita obnovuje.

Vzduch, zejména kyslík a oxid uhličitý jsou také důležitými faktory. U suchých semen je dýchání málo intenzivní, avšak s počátkem klíčení se spotřeba kyslíku velmi zvyšuje. Tak jako v případě vody ve II. fázi klíčení spotřeba kyslíku poněkud stagnuje a ve III. fázi opět narůstá. (Houba a Hosnedl, 2002).

Vzduch normálně obsahuje asi 20 % kyslíku a 0,03 % kysličníku uhličitého. Vyšší koncentrace CO₂ a nižší O₂ působí podle Copelanda a McDonalda (1995) na klíčení negativně, protože ho zpomalují. Existují však i botanické druhy, které jsou na nedostatek kyslíku méně citlivé jako například vodní rostliny. Některé druhy jsou dokonce schopny vyklíčit i bez přítomnosti kyslíku, např. rýže, ale klíčenci bývají slabí.

Teplota z velké míry ovlivňuje klíčení, protože jak uvádí McDonald M. B. (2005), mnohé biochemické a fyziologické pochody nutné ke klíčení probíhají jen při vhodné teplotě. Každá rostlina či odrůda má tyto optimální teplotní podmínky odlišné a jak poukazují Copeland a McDonald (1995), tak i v každé fázi klíčení se může lišit. Nejnižší, optimální a nejvyšší teplota, při které semena vyklíčí se nazývají kardinálními hodnotami.

V některých případech je těžké stanovit minimální teplotu pro klíčení, protože semena mohou v nízkých teplotách stále klíčit, ale velmi pomalu. Nízké teploty mohou tedy klíčení zpomalovat, ale na druhou stranu mohou mít podle Copelanda a McDonalda (1995) pozitivní vliv na odstranění dormance nebo urychlit klíčení.

Optimální teplota je teplota, při které se získá největší klíčivost během nejkratšího období, většinou se ale pohybuje mezi 15 °C a 30 °C. Maximální teplota se podle Copelanda a McDonalda (1995) obvykle pohybuje mezi 30 °C a 40 °C, při vyšší teplotě by začala denaturace proteinů, které jsou nutné pro klíčení.

Kvalitní osivo je schopno klíčit v širším teplotním rozmezí než osivo nízké kvality. U mnoha druhů rostlin můžou klíčení zlepšit střídavé teploty, přičemž je důležitý rozdíl teplot, který by neměl podle Copelanda a McDonalda (1995) překročit 10 °C.

Světlo může podle McDonalda M. B. (2005) u některých rostlin podporovat klíčení, důležitá je proto jeho intenzita a spektrální složení. Tato potřeba světla se u pozitivně fotoblastických semen projevuje již při nabobtnání. Důvod jejich potřeby světla je vysvětlován nedostatkem zásobních látek, a proto nutností klíčících rostlinek rychle přejít na

autotrofní výživu. Obecně čím je menší velikost semene, tím větší je pravděpodobnost, že bude potřebovat ke klíčení světlo.

Jak uvádí Copeland a McDonald (1995), bylo zjištěno, že intenzita mezi 1080 – 2160 luxů většinou pro klíčení dostačuje, podporuje ho potom světlo o délce 660 – 700 nm. Také se může vyskytovat závislost klíčení na délce dne podobně jako při kvetení, například u *Amaranthus retroflexus*, která vyžaduje krátký den.

3.3.2 Hodnocení klíčivosti

Zkouška klíčivosti je jedním z hlavních kritérií při certifikaci osiva. Je proto nutné, aby tento test splňoval určité požadavky. Měl by být levný, rychlý, reprodukovatelný, uniformní a dobře vysvětlitelný, i když v praxi to často bývá těžko proveditelné. Dalším problémem podle Houby a Hosnedla (2002) je, že nemůže být zcela objektivní, protože například je nutné subjektivně rozhodnout, zda je určitý klíček normální či abnormální a neodráží skutečnou polní vzházivost. Semenařské organizace International Seed Testing Association (ISTA) a Associazione of Official Seed Analysts (AOSA) usilují o zpřesnění metodiky těchto testů a dosažení jejich standardizace, jakož například i pravidla pro předběžné úpravy osiva v případě odstranění dormance semen.

Jak uvádí Hosnedl (2003), vyhodnocuje se klíčivost jako podíl vyklíčených semen ve vzorku na konci období, kdy se předpokládá, že je klíčení již ukončeno. Všechna semena v jednom však neklíčí stejně intenzivně. Proto lze rychlost a vyrovnanost klíčení hodnotit na základě hodnot energie klíčení, střední doby klíčení (MTG) či maximálního denního přírůstku procenta klíčivosti.

Jak je uvedeno v Metodice zkoušení osiva Ministerstva zemědělství (Trnka, 2004), laboratorní zkouška klíčivosti poskytuje informaci o schopnosti semen poskytnout v optimálních podmínkách za stanovenou dobu maximální počet normálních klíčících rostlin, u kterých se předpokládá, že by se za příznivých podmínek v půdě vyvinuly v normální rostliny. Klíčivost se obvykle uvádí v procentech, do výpočtu se nezahrnují nevyklíčená semena a abnormální klíčenci.

I když existují standardizované testy klíčivosti v optimálních laboratorních podmínkách, získané výsledky mohou být v různých případech odlišné. Velký vliv hraje dormance osiva, protože biologickým testy není možné od sebe rozlišit semena dormantní a neživá, a vitalita

osiva. Dalšími důležitými aspekty jsou zkušenost pracovníka při určování vadných klíčků či technické podmínky. (Hosnedl, 2003)

3.4 Vitalita osiva

V mnoha případech se laboratorní výsledky klíčivosti mohou značně lišit od polní vzcházivosti daného osiva. Může to být způsobeno například většinou optimálními podmínkami pro klíčení v laboratoři. Hodnoty klíčivosti udávají nejvyšší možný potenciál osiva ke klíčení, ale nemusí být dostatečně vypovídajícím znakem kvality osiva, protože v praxi mohou být podmínky značně odlišné. Vitalita osiva je tedy chápána, jak odkazuje Geneve (2005) na definice semenářských organizací ISTA a AOSA, jako souhrn vlastností semene, které zajišťují rychlé a jednotné klíčení a vzcházení v různých podmínkách prostředí. Hlavním cílem testování vitality je tedy poskytnutí předpokládané klíčivosti a vzcházivosti v méně příznivých podmínkách. Vitalita osiva ovšem představuje mnohostranný rys a polní podmínky mohou značně kolísat od příznivých až k extrémům, a proto se mohou testy vitality od skutečnosti značně lišit. V případě mnoha plodin však tyto testy zajišťují dostatečnou průkaznost a využívají se zejména při hodnocení a porovnání různých partií osiva. (Hampton a Coolbear, 1990)

Vitalita osiva má významný vliv na skutečnou vzcházivost a růst plodin ve venkovních podmínkách. Proto ovlivňuje především výnos plodin sklízených ve vegetační fázi, méně již plodin sklízených v plné zralosti. TeKrony a Egli (1991) dále upozorňují, že i v případě méně příznivých podmínek zabezpečí požadovanou hustotu výsledného porostu užití jen vysoce vitálního osiva.

K rozhodujícím faktorům, které ovlivňují vitalitu osiva, náleží přírodní a pěstební podmínky během vývoje semen, způsob skladování osiva a také vnitřní genetické faktory. Chloupek (2000) zdůrazňuje, že pouze zdravá semena mohou mít vysokou vitalitu. Ztráta vitality či nízká vitalita je obvykle způsobena poškozením buněčných membrán například kvůli mechanickému poškození, škůdcům a chorobám a podílem tvrdých semen, kvůli předčasné či zpožděné sklizni, kvůli stárnutí semen apod. Geneve (2005) se dále zmiňuje, že vliv mohou mít i přírodní podmínky působící na matečnou rostlinu či speciální úpravy jako peletizace. Vitalita osiva je geneticky podmíněná, lze ji tedy zlepšit šlechtěním jak se provádí například u vojtěšky. Důležitá je také optimalizace pěstebních podmínek, sklizně a uskladnění.

Obecně jsou semena nejvitalnější v období fyziologické zralosti nebo dříve, dále až do sklizňové zralosti vitalita klesá.

Existuje několik metod, kterými lze vitalitu osiva hodnotit. K nim patří například Hiltnerův test laboratorní vzcházivosti, chladový test, konduktometrický vodivostní test, testy urychleného stárnutí (TUS, AA) a další. Jsou však použitelné pouze v případě, že osivo má dobrou klíčivost. Tyto testy obsahují určité stresující faktory a porovnává se klíčivost ve stresových a v optimálních podmínkách. Výsledky těchto testů lépe korespondují se skutečnou polní vzcházivostí, avšak jsou velmi závislé na dobré klíčivosti daného osiva. (Hosnedl, 2003)

3.5 Dormance

Houba a Hosnedl (2002) uvádí, že semena prochází po dozrání určitým obdobím klidu. Může se jednat o quiescenci nebo dormanci. Quiescence je vlastně vynucený klid, kdy semena nemohou klíčit z důvodu nepříznivých podmínek prostředí.

Naopak dormanci se podle Chloupka (2000) rozumí neschopnost klíčivých semen vyklíčit, i když mají k dispozici optimální tepelné i vlhkostní podmínky a dostatek kyslíku. Během zkoušky klíčivosti potom tato semena bobtnají, ale neklíčí ani neplesniví. Jak se zmiňuje Bewley (1997), ne všechna semena klíčí stejně a ne na všechny bude mít shodný vliv jeden stimul k přerušení dormance.

Rozlišují se dvě formy dormance a to dormance primární a sekundární. Dormance primární se dále dělí na dormanci endogenní a exogenní. Podle Copelanda a McDonalda (2002) je endogenní dormance nejčastější formou primární dormance. Jedná se o fyziologickou dormanci, která je vyvolána podmínkami během vývinu a zrání semene. V tomto případě je v semeni charakteristická přítomnost látek, které inhibují klíčení jako je například kumarin, ABA a další. Jejich tvorba závisí například na délce dni a teplotě během zrání semen, vláhových podmínkách během dozrávání, pozici semen v květenství a podobně. Baskin a Baskin (2005) uvádějí, že se tento typ dormance objevuje ve všech klimatických zónách světa.

Jak je popsáno v Metodice zkoušení osiva Ministerstva zemědělství (Trnka, 2004), lze využívat metody jako například předběžné chlazení či zahřívání semen, osvětlení během klíčení, užití kyseliny giberelové nebo dusičnanu draselného. Dále je možné v případě tvrdého oplodí či osemení semena po dobu 24 až 48 hodin namáčet, skarifikovat mechanicky nebo

kyselinou. Také pokud se v oplodí nebo osemení vyskytují inhibiční látky, je možné před zkouškou klíčivosti semena promývat nebo odstranit rostlinné části, které semeno obklopují, jako plucha nebo pleva.

Dormance exogenní většinou vzniká v důsledku nepropustných semenných obalů. Takováto semena jsou takzvaně tvrdosemenná. Její výskyt je častý například u leguminóz. Tato překážka způsobuje nemožnost příjmu vody semenem anebo zabraňuje inhibičním látkám opustit embryo a znemožňuje výměnu plynů. Lze ji tak jako u endogenní dormance odstranit mechanickou nebo chemickou skarifikací či použitím různých chemických látek a enzymů, které poškodí semenné obaly a umožní tak výměnu plynů, příjem vody atd. (Baskin a Baskin, 2005) Jak se zmiňuje Bewley (1997), embrya těchto semen jsou klíčivá, překážkou jsou tedy jen semenné obaly, na rozdíl od endogenní dormance, kde jsou embrya dormantní.

Sekundární dormance se na druhou objevuje u zralých nedormantních semen, pokud nemají zabezpečené vhodné podmínky ke klíčení. Jak poukazují Hilhorst a Toorop (1997), stačí i jen jeden limitující faktor. Rozlišuje se například termodormance, tedy nevhodná teplota, obvykle pak příliš vysoká teplota, které jsou semena vystavena, fotodormance, tedy vliv světla a další. (Houba a Hosnedl, 2002) Také zralá primárně dormantní semena mohou v případě nepříznivých podmínek vstoupit do sekundární dormance a mohou zůstat dlouhodobě nabobtnalá bez ztráty životaschopnosti. Jak dále uvádí také Hosnedl (2003), při sekundární dormanci se z pohledu biochemického jedná o nevyrovnaný poměr látek, které klíčení podporují a naopak látek, které klíčení inhibují. Jako v případě primární dormance může podle Hilhorsta a Tooropa (1997) pomoci odstranit sekundární dormanci například předchlazení.

3.6 Vliv fytohormonů na dormanci a klíčení

Jak uvádějí Psota a Šebánek (1999), fytohormony u rostlin řídí mnoho procesů, k nimž patří i klíčení, dormance a tvorba hydrolytických enzymů. Pole svého účinku je lze rozdělit na stimulatory růstu a inhibitory růstu.

Podle Bewleyho (1997) se lze domnívat, že podíl na iniciaci dormance a jejím trvání má inhibitor růstu kyselina abscisová (ABA). Primární dormance je vyvolaná již během vývinu semene, semena krátce po dozrání bývají zřídka klíčivá, když se to náhodou stane, bývá to většinou spojováno právě s nedostatkem ABA. Největší množství této kyseliny je v semenech nashromážděno ve středním stadiu vývinu a při dozrávání klesá. Během vývinu semene

zabraňuje jeho předčasnému klíčení ABA, osmotické prostředí obklopující semeno nebo oboje.

Ke stimulatorům růstu se naopak řadí kyselina giberelová (GA), která příznivě ovlivňuje proces klíčení. Při klíčení vysílá embryo signál v podobě kyseliny giberelové do aleuronové vrstvy, aby se začala produkovat hydrolytické enzymy a embryo mohlo přestat využívat své vnitřní rezervy. Podle Psoty a Šebánka (1999) je kyselina giberelová blokována ABA. Pokud semena obsahují méně ABA, je potřeba méně GA k indukci klíčení. Spolu s gibereliny se klíčení také aktivně účastní cytokininy. Jsou primárními faktory v zahájení růstu radikuly (Pinfield a Stobart, 1972). Zatímco udržení dormance podle Cadman a kol. (2006) závisí na širokém poměru ABA: GA, odstranění dormance zahrnuje zvýšenou biosyntézu GA a odbourávání ABA, což vyústí v úzký poměr ABA: GA. Znamená to, že GA je v semeni přítomná v dostatečné koncentraci a může podnítit klíčení ve chvíli, kdy se omezí biosyntéza ABA.

3.7 Úpravy zlepšující kvalitu osiva

3.7.1 Posklizňové úpravy

Sklizené osivo představuje heterogenní směs, kde se vždy najdou rozdíly ve velikosti, barvě a váze jednotlivých semen, a to i pokud bylo osivo sklizeno v optimální zralosti. (Kwong a kol., 2005) Dále se daném osivu mohou vyskytovat půdní částice, balastní látky, zbytky rostlin, semena jiných botanických druhů a jiné nečistoty.

Jak uvádí Houba a Hosnedl (2002), toto heterogenní osivo by nebylo možné bezpečně uskladnit či s ním nakládat bez rizika snížení jeho kvality, zejména pak existuje riziko samovolného zahřátí osiva, což může následně výrazně snížit jeho klíčivost.

Účelem posklizňového ošetření je, jak se zmiňují Pazderů a Hosnedl (2008), odstranění všech nečistot a nezralých semen a semen s nízkou kvalitou od kvalitních semen. Zabrání se tím, aby osivo ztratilo svoji kvalitu.

K posklizňovým úpravám patří například předčištění, sušení, čištění či třídění a kalibrace osiva.

Předčištění obecně snižuje objem balastu a usnadňuje sušení čerstvě sklizeného osiva. Podle Chloupek (2000) by mělo probíhat co nejdříve po sklizni, čímž se mimo jiné snižuje riziko zapáření a ztráty klíčivosti a vitality semen.

K sušení se podle Houby a Hosnedla (2002) využívají například roštové sušárny s promícháváním, kontejnery se síťovým dnem a horkovzdušné sušárny. Je nutné osivo vysušit na vlhkost, při které se bude moci skladovat a nedojde ke zhoršení jeho kvality. Pomalejší sušení, tj. pomalejší snížení vlhkosti osiva je výhodnější. Jak zmiňuje Chloupek (2000), rychlost sušení závisí na velikosti semen, upřednostňuje se však pomalé sušení a teploty nepřevyšující 25 °C.

Čištění a třídění osiva může být podle Kwong a kol. (2005) prováděno na základě různých vlastností semen jako je jejich velikost, tedy šířka a délka, jejich povrch či odlišná měrná hmotnost semen a dalších látek a to za pomoci gravitace, vzdušného proudu, vytřásáním a podobně. Dále také existuje optické třídění osiva, které pracuje na principu prosvětlování semen, kdy se měří spektrální složení odraženého světla.

Kalibrace osiva zahrnuje roztřídění semen do různých kategorií na základě jejich velikosti, tvaru či hmotnosti. Tento postup vede k vyrovnanosti osiva a tudíž k uniformitě výsledného porostu. (Chloupek, 2000). Využívají se například vzdušný proud či vytřásání, kde jsou semena rozdělována na různé sekce. (Kwong a kol., 2005)

3.7.2 Předset'ové úpravy osiva

Nadstandardním ošetřením osiva jsou speciální předset'ové úpravy, které mají za cíl zlepšit jeho výkonnost (Houba a Hosnedl, 2002). Patří mezi ně hydratační úpravy (předklíčování), moření, obalování osiva, biologické úpravy, nově i ošetření horkou vodou (HWT).

Účelem hydratačních úprav je podle Pazdery (2003) zlepšení a dosažení jednotnosti klíčení a vzcházení, zatímco biologické úpravy a moření mají za cíl zlepšit zdravotní stav osiva. Obalování pak usnadňuje rozmístění semen při výsevu, případně také umožňuje aplikaci hnojiv a pesticidů.

Pomocí předset'ových úprav je možné dosáhnout stejnoměrného vývoje rostlin a získání uniformního porostu. Pazderů a Hosnedl (2008) a Pazdera (2002) se shodují, že je však nutné brát v úvahu také vitalitu daného osiva, protože jen vysoce vitální osivo může zaručit rychlé a uniformní klíčení a vzcházení.

Dále podle Hosnedla (2003) mohou speciální úpravy osiva před klíčením odstranit možné nežádoucí faktory, které by mohly negativně ovlivnit klíčení, zajišťují tedy

zabezpečení vhodných podmínek pro klíčení všech živých semen. Při těchto úpravách se ovšem může také vyskytnout sekundární dormance.

3.7.2.1 Hydratační úpravy

Při hydratačních úpravách dochází k řízenému bobtnání semen. Cílem těchto úprav je podle Pazderů a Hosnedla (2008) nechat částečně nebo úplně nabobtnat semeno tak, aby aktivovalo své metabolické pochody, ale zároveň aby nedošlo do třetí fáze klíčení. Houba a Hosnedl (2002) uvádějí, že jsou spuštěny opravné mechanismy, které mohou napomoci částečné opravě poškozených metabolických procesů, způsobených stárnutím semene. Jak dále poukazuje Pazdera (2003), v semeni se zvyšuje také enzymatická aktivita, probíhají opravy poškozených buněčných membrán a odstraňují se toxické látky nahromaděné během stárnutí semene. Uspíšení klíčení a překonání dormance díky hydratačním úpravám navíc podle Hilhorsta a Tooropa (1997) vede k většímu procentu klíčenců a nižšímu počtu abnormálních klíčenců.

Podle Pazderů a Hosnedla (2008) je účelem hydratačních úprav dosažení vyrovnanějšího, jednotnějšího a rychlejšího klíčení a vzházení, a tedy v důsledku i zapojení a vyrovnanost výsledného porostu. Zároveň se také rozšiřuje variabilita podmínek prostředí, kde budou semena schopna vyklíčit. Hydratačními úpravami se také podle Houby a Hosnedla 2002 zamezí poškození z bobtnání, pokud by se osivo vysévalo do chladné půdy a snižuje se tím sekundární dormance semen. Zároveň dochází k větší odolnosti semen vůči nedostatku kyslíku či vody.

Jak uvádí Pazderů a Hosnedl (2008), hydratační ošetření osiva před výsevem zahrnuje osmotický priming, priming v pevné fázi (matriční priming), řízenou hydrataci, prehydrataci a nově i nakličování. Po ošetření jsou semena obvykle opět vysušena. Hydratační úpravy se využívají zejména u zeleniny a květin a trav. Největšího efektu se pak podle Pazdery (2002) dosahuje u drobnosemenných rostlin.

Basu (1995) tvrdí, že existuje několik důvodů, jak hydratační úpravy mohou zlepšit vitalitu osiva. Mezi ně patří nastartování klíčení, zvětšení embrya, odstranění toxických látek, snížení příjmu vody ošetřenými semeny a enzymatické opravy.

Hydratační úpravy vycházejí z pozorování přírody. Podle Chloupka (2000) se například zjistilo, že pokud dochází k výkyvům v dostupnosti vody (deště a sucha), klíčivost se u některých rostlin může zvyšovat. Nabobtnalá semena mohou přečkat období sucha a vyklíčí až po následujícím dešti. Metoda hydratace se také podle Brugginka (2005) pravděpodobně

praktikuje již několik tisíc let, kdy se semena před setím namáčejí do vody, což umožní iniciaci prvních kroků klíčení a odplavení inhibičních látek. Hydratační úpravy se poprvé jako empirické objevují u Theophrasta (372-278 př. n. l.).

Po hydratačním ošetření se osivo pro snazší manipulaci či skladování obvykle vysuší. Vysoušení může efekt hydratace na semena významně ovlivnit, proto je způsob vysoušení velmi důležitý. Sušit se může volně na filtračním papíře, i v sušárně s přirozeným či nuceným oběhem vzduchu či vakuově. Rychlé vysoušení může podle Houby a Hosnedla (2002) vést k poškození semen, proto je vhodné sušit pozvolna. Sušení není nutné při předklíčování v gelu, kdy jsou po naklíčení přímo vysévána. Pokud se semena po úpravě dlouhodobě skladují, může dojít k vyšší ztrátě vitality a životaschopnosti než u semen neošetřených.

3.7.2.1.1 Priming (řízený příjem vody)

Bobtnání probíhá v tomto případě v osmotickém roztoku, který má vyšší vodní potenciál než čistá voda. Z tohoto důvodu je bobtnání pomalejší a dostupnost vody pro semena omezená. Houba a Hosnedl (2002) uvádí, že bobtnání je ovlivněno užitým osmotikem, dostupností kyslíku, délkou ošetřování, podmínkami prostředí, tedy teplem a světlem a možnostmi omezení mikrobiální kontaminace. Dále je také důležitý způsob sušení. Existuje priming v roztoku a priming v pevné fázi.

Je velmi důležité, aby v žádném případě nedošlo ke klíčení semen, protože by jejich životnost po vysušení byla velmi nízká. Většinou se priming provádí při optimálních teplotách pro klíčení pro daný druh, většinou se proto pohybuje mezi 15 °C a 25 °C. Po úpravě by měla být semena co nejdříve vyseta, což však není vždy možné, a proto následuje sušení. Většina výhod získaných díky primingu zůstává podle Brugginka (2005) zachována.

- **Osmotický priming (priming v roztoku)**

V průběhu osmotického primingu se nechávají semena částečně nebo úplně nabobtnat v provzdušňovaném osmotiku s nízkým vodním potenciálem. Houba a Hosnedl (2002) uvádějí, že se používá zejména osmotikum polyethylenglykol (PEG), dále glycerol, mannitol, soli různých sloučenin jako KNO₃, MgSO₄. Osmotikum může semenům poskytnout dusík a ostatní prvky, avšak na druhou stranu mohou být pro semeno tyto látky i toxické.

Bobtnání většinou probíhá při teplotě 15°C nebo 20°C. Doba bobtnání se podle Pazdery (2003) pohybuje v řádu hodin až týdnů, po jeho ukončení se semena opatrně vysuší.

Bruggink (2005) uvádí, že kvůli nižší výsledné vlhkosti semene probíhají metabolické procesy v semeni pomaleji než při bobtnání ve vodě. Proto je zamezeno proražení kořínku a toto ošetření může probíhat i delší dobu bez rizika úplného vyklíčení. Tento způsob umožňuje také využití růstových regulátorů, především při aplikaci přímo do roztoku osmotika.

Nevýhodou použití PEG představuje spotřeba velkého množství osmotika, je ho potřeba až desetkrát více než množství ošetřených semen. Také je nutné používat provzdušňování, protože kyslík je v roztoku PEG málo rozpustný. (Bruggink, 2005)

Osmotický priming v roztoku PEG 6000 může být s úspěchem využit například u cibule (Selvarani a Umarani, 2011). Naopak u mrkve byla zaznamenána pouze rychlejší rychlost klíčení při ošetření trvajícím 2 dny. Moradi a Younesi (2009) uvádějí, že osmopriming trvajícím 12 a 24 hodin zlepšil semenářské parametry čiroku a Li a kol. (2009) prokázali účinek osmotického primingu na rychlost a uniformitu klíčení astry. Dále Rouhi a kol. (2011) zjistili vliv osmorprimingu na klíčivost a vzcházivost kostřavy.

Membránový priming je podle Rowse a kol. (2001) vlastně vylepšenou verzí osmotického primingu, kdy jsou semena od roztoku PEG oddělena membránou. Výhodou je snížená spotřeba PEG, lepší provzdušňování a možnost primingu i malého množství semen.

- **Priming v pevné fázi**

Semena jsou při matričním primingu smíchána se zvlhčeným pevným nosičem, ze kterého přijímají vodu. Jako nosič se využívají přírodní látky jako například rašelina, písek nebo komerčně vyráběné produkty jako Celite a Zonolite. Syntetické silikáty s velkým povrchem dobře absorbují živiny a růstové látky a na druhé straně eliminují toxické látky a inhibitory ze semen. Efekt matričního primingu se podle Chloupka (2000) projevuje zejména u semen s horší vitalitou.

Jak se zmiňují Houba a Hosnedl (2002), na rozdíl od osmoprimingu má k semenům přístup vzduch, je tedy zajištěno aerobní prostředí. Poměr osiva, pevného nosiče a vody se hmotnostně pohybuje v poměru okolo 1 : 0,3 – 0,5 : 1 – 2.

Rovnoměrná vlhkost je obvykle zajištěna tím, že směs rotuje v bubnu. Na konci hydratace se semena oddělí od nosiče a vody, suší se a mohou se na ně aplikovat fungicidy nebo regulátory růstu. Tento způsob není příliš podle Brugginka (2005) praktický v případě menšího množství osiva.

Pazdera (2003) uvádí, že semena mohou být exponována až 14 dní. Jedná se o levnější metodou primingu, protože nosič může být opětovně použit.

Tento způsob ošetření může podle Selvarani a Umarani (2011) zlepšit klíčivost i rychlost vzcházení cibule i mrkve, poukazují však, že nosič v podobě jemně mletého materiálu nemívá takový účinek jako hrubší materiály.

3.7.2.1.2 Kontrolovaná hydratace

Při kontrolované hydrataci se k osivu přidá přesně určené množství vody buď najednou či postupně. V obou případech se ponechají nějakou dobu vlhká a poté se opět vysuší. Množství vody se předem přesně vypočítá. (Taylor a kol., 1998).

Například Demir (2002) prováděl experiment s osivem papriky a zjistil, že se toto ošetření dá využít ke zlepšení kvality osiva především v případě, kdy partie obsahovala nedozrálá i přezrálá semena. Dále Venkatasubramanium a Umarani (2007) zjistili pozitivní vliv na vitalitu lilku a chilli paprik při ošetření trvajícím 3 dny.

3.7.2.1.3 Prehydratace (neřízený příjem vody)

Při prehydrataci je voda pro semena volně k dispozici. Protože je její příjem ovlivňován jen vodním potenciálem semene, mohou některá semena i viditelně vyklíčit. Z tohoto důvodu, jak upozorňují Houba a Hosnedl (2002), musí být prehydratace včas ukončena.

Bobtnání probíhá ve vodě nebo ve vlhčeném prostředí, obvykle po dobu 6 – 12 hodin. Výhodou této metody je, že lze upravit větší množství semen najednou a je relativně levná. (Pazdera, 2003). Hilhorst a Toorop (1997) však upozorňují, že vysoušení prehydratovaných semen může značně snížit efekt tohoto ošetření.

Farahani a kol. (2011) prováděli prehydratační úpravu semen bazalky *Ocimum basilicum* a zjistili významný vliv na procento klíčivosti a MGT při ošetření 12 hodin.

Moradi a Younesi (2009) studovali vliv hydratačních úprav na semenářské parametry čiroku *Sorghum bicolor*. Ošetření po dobu 12 a 24 hodin při 20 °C významně zlepšilo klíčivost a vzcháživost, naopak při 36 hodinách se tyto parametry zhoršily. Také při

prehydrataci semen kostřavy *Festuca arundinacea* zjistil Rouhi a kol. (2010) vliv na klíčivost, největší efekt zaznamenal při ošetření trvajícím 12 hodin a při klíčení v 15 °C.

Dále Selvarani a Umarani (2011) také testovali účinky hydratačních metod na vitalitu cibule a mrkve, podle jejich výsledků má nejlepší vliv na mrkev prehydratace trvající 36 hodin a podle Venkatasubramanium a Umarani (2007) na klíčení rajčat prehydratace 48 hodin. Thornton a Powell (1995) zjistili i příznivý vliv hydratace s provzdušňováním na klíčivost květáku a růžičkové kapusty.

Prehydratace ovlivnila podle Yu-jie a kol. (2009) také klíčení astry *Callistephus chinensis* nejvíce při 48 hodinách hydratace a následném klíčení při 10 °C. Na druhou stranu ovšem uvádí, že výsledky osmoprimingu hydrataci všeobecně předčily.

Ghassemi-Golezani a kol. (2008) uvádí, že prehydratace významně zlepšila rychlost klíčení a polní vzcházivost čočky *Lens culinaris*. Harris a kol. (1999) zjistil zlepšení u rýže, kukuřice a cizrny a Demir a Okcu (2004) u lilku a papriky. U netýkavky Expo Wine byl zjištěn příznivý účinek jen při délce hydratace 4 a 8 hodin, delší doba naopak způsobila již zpomalení klíčivosti. Li a kol. (2005) zjistili, že při hydrataci záleží na velikosti semen, měla by být roztríděna, větší semena totiž klíčila dříve než menší.

3.7.2.1.4 Nakličování

K hydratačním úpravám se nově podle Pazderů a Hosnedla (2008) řadí i nakličování. Při nakličování dochází u semen na rozdíl od ostatních technik až k vývinu kořínku. Vyklíčená semena se od nevyklíčených oddělí flotační technikou, což zajistí 100% klíčivost.

Bruggink (2005) zdůrazňuje, že nejvitálnější semena klíčí nejrychleji a setí nakličovaných semen je z časového hlediska výhodné.

3.7.2.2 Obalování semen

Tato metoda se využívá především při přesných výsevech semen, zlepšuje kvalitu setí a rozdělení semen. Je možné tak přímo na semeno aplikovat růstové látky, hnojiva a podobně. Často se obalování spojuje s dalšími předset'ovými úpravami.

- **Inkrustace:** při tomto způsobu se na semeno nanese jen tenká vrstva materiálu, nezmění se tedy příliš jeho tvar a hmotnost (jen asi 1 – 10 %). Materiál, který se nanáší buď nástřikem nebo se do něj semeno ponoří, je směsí polymeru, aditiva (např. fungicidu, insekticidu, mikroprvků) a barviva. Po aplikaci je nutné semena rychle

vysušit teplým vzduchem. V takto ošetřeném osivu je snížené tření mezi jednotlivými semeny. (Pazdera, 2003). Také se na semeno aplikují látky jako fungicidy, insekticidy a stopové prvky. Jako výhodu vidí Copeland a McDonald (1995) možnost minimalizace případných stresů na stanovišti. Je použito méně chemických látek než v případě plošné aplikace.

- **Peletizace:** semena jsou v peletizačním bubnu smíchána s vodou, pojídkem a plnidlem. Plnidlem může být jíla, vermikulit, vápenec apod. a plnidlem želatina, arabská guma a další látky. Jak se buben otáčí, plnidlo se nalepuje na semena a tím se tvoří pelety. Mohou se přidávat inokulanty, fungicidy a hnojiva a barviva. Houba a Hosnedl (2002) zdůrazňují, že nesmí vznikat prázdné pelety nebo naopak se nesmí objevit více semen v jedné peletě. Obalením v inertním materiálu se tedy mění tvar a velikost semene a zvyšuje se jeho hmotnost, což usnadní vysévání. Poměr peleta : semeno se pohybuje v rozmezí přibližně od 4-9:1 až do 100:150:1 (např. u petúnií). Tento způsob se využívá zejména u mnoha druhů zelenin, cukrovky a květin. (Pazdera, 2003)

3.7.2.3 Regulace patogenů

3.7.2.3.1 Biologické úpravy

Tyto úpravy využívají živé organismy nebo rostlinné extrakty k regulaci patogenů, kteří jsou přenosní semeny či se nachází v půdě a napadají klíčící semena a semenáčky. Mezi komerčně využívané bioagens patří dle Chloupek (2000) například houby *Trichoderma harzianum* a *Pythium oligandrum*, či bakterie *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas fluorescens*. Jejich účinnost závisí mimo jiné na způsobu aplikace, jejich množství na semeni a samozřejmě na jejich regulační schopnosti.

Biologické ošetření lze také aplikovat společně s hydratací (osmotickým primingem). Například Warren a Bennett (1999) prováděli pokusy s osivem rajčete a zjistili, že aplikace bakterie *Pseudomonas aureofaciens* a osmoprimingu zaručila podobné výsledky jako aplikace fungicidu a ochránila před napadením houbou *Pythium ultimum*. Dále Amer a Utkhede (2000) zaznamenali účinek bakterií *Bacillus subtilis* a *Pseudomonas putina* na kořenovou hnilobu rajčete a okurky.

Co se týká rostlinných extraktů, je možné použít extrakty například z aloe, bazalky a dalších rostlin. Jak upozorňuje Pazderů a Hosnedl (2008), existuje ovšem problém

standardizace těchto látek a relativně nižší účinnost v porovnání s chemickým způsobem ošetření semen.

Výhodou těchto úprav je, jak uvádí Pazdera (2003) že působí během celého vegetačního období a ne jen při vzcházení rostlin, tak jako některé chemické přípravky. Zároveň jsou šetrnější k životnímu prostředí.

3.7.2.3.2 Fyzikální úpravy- Ošetření horkou vodou

Ošetření horkou vodou (hot water treatment nebo HWT) náleží mezi fyzikální metody ošetření semen a je možné ji použít i v ekologickém zemědělství. Spočívá v ponoření semen na krátkou dobu do vody o teplotě 45- 54 °C podle dané plodiny. Horká voda tak zahubí patogeny přítomné na semeni, aniž by došlo k poškození semene a dokonce může i zvýšit klíčivost a vitalitu osiva. Chloupek (2000) se zmiňuje, že je toto ošetření například úspěšné u kukuřice, kde může zahubit *Fusarium*. Podle Pazderů a Hosnedla (2008) se účinnost této úpravy může lišit. Existuje také verze moření horkou párou (ThermoSeed), kde je způsob ošetření podobný.

3.8 Levandule

Hydratační úpravy se s výhodou využívají pro zlepšování klíčení osiv s problematickým klíčením a vzcházením. Modelovou plodinou může být například levandule.

3.8.1 Obecné informace

Levandule (*Lavandula*) je vytrvalý polokeř z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*). Má nazelenalé čárkovité listy a kvete modrofialovými květy od června do srpna. Je medonosná a jejím plodem je oříšek. Rozmnožuje se dělením trsů nebo semeny, které je podle Thurzové (1975) nutné v zimě stratifikovat z důvodu jejich nízké klíčivosti. Existuje mnoho druhů, nejčastěji se pěstuje levandule lékařská (*Lavandula angustifolia*).

Využívají se květ a nať levandule, které obsahují nejvíce požadovaných látek, zejména tedy silic, tříslovin, hořčin, kumarínu a dalších látek. Hlavními složkami silic podle Zheljzkova a kol. (2011) jsou linalool a linalylacetát.

Rota a kol. (2004) uvádějí, že tyto silice mají antibakteriální účinky a například podle Vokou a kol. (1993) bylo zjištěno, že levandulový olej potlačuje klíčení u brambor (*Solanum tuberosum*).

3.8.2 Úpravy osiva levandule pro zlepšení klíčivosti

Podle Chavagnata (1978) je osivo levandule značně heterogenní, což závisí na podílu dormantních semen ve vzorku. Příznivý vliv na odstranění dormance a zlepšení klíčivosti má podle něj předchlazení samostatně nebo s kyselinou gibberelovou, přičemž klíčivost vzrůstá s délkou předchlazení.

Naopak Singh a Srivastava (1990) nezaznamenali vliv předchlazení semen, ale klíčivost vzrostla asi o 40% při namočení semen do 1% HCl po dobu 12-15hodin a při teplotě 21°C.

Ellis, Hong a Roberts (1985) se odvolávají se na doporučené postupy pro klíčení nedormantních semen podle ISTA. Uvádějí jako nejúčinnější způsob opět kyselinu gibberelovou a předchlazení, přičemž se teplota střídá v rozmezí 20 - 30°C se semeny vystavenými světlu 8 hodin denně při 30°C a použitím GA3 při množství 200ppm.

Také Ruminska, Suchorska, Weglarz (1977) zjistili, že při namáčení semen levandule do GA3 v roztoku 500, 1000, 1500 a 2000 ppm se zvýšila nejen schopnost klíčení, ale také její rychlost a rychlost růstu semenáčků. Největší efekt byl pozorován po 21 dnech od namočení v GA3.

Aoyama a kol. (1996) studovali vliv kyseliny gibberelové, světla/ tmy a předchlazení na klíčivost levandule. Semena byla 18 hodin namočena do kyseliny nebo destilované vody, případně předchlazena po dobu 48 hodin či 7 dní. Poté byla v destilované vodě ponechána vyklíčit při 25 °C. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při aplikaci GA3 v dávce 100 i 200 ppm bez předchlazení.

Při zjišťování vlivu teploty na klíčivost levandule Maher, Gerasopoulos a Maloupa (2000) dosáhli nejvyšší klíčivosti *Lavandula stoechas* v rozmezí teplot 10 °C – 20 °C při střídání 12 hodin světla a tmy. Také uvádějí, že obecně semena klíčila lépe na světle než ve tmě.

Podíl klíčících semen levandule *Lavandula latifolia* i *L. angustifolia* se zvýšil při nepřetržitém ozařování červeným světlem. Lercari, Magnani, Agnoli (1997) dále zjistili, že GA3 a GA4 podporují klíčivost levandule a reagují s fytochromovým systémem. Fusicocin také zlepšil její klíčivost, ale pouze v přítomnosti červeného světla.

Návod na zkoušku klíčení levandule podle metodiky AOSA zahrnuje na filtračním papíře při 15 °C, přičemž zkouška trvá 21 dní. Jak již bylo uvedeno výše, AOSA také doporučuje ošetření kyselinou gibberelovou a světlo během klíčení.

4 Materiál a metodika

4.1 Materiál

K pokusům bylo použito osivo levandule lékařské *Lavandula angustifolia* od společnosti SEMO s.r.o., číslo šarže 0-0040-9926-01. Toto osivo bylo skladováno při normální pokojové teplotě.

4.2 Metodika

4.2.1 Prehydratační ošetření

K ošetření osiva metodou prehydratace bylo naváženo pět vzorků osiva po 5 g. Každý vzorek byl vložen do promývačky s vodou a semena zde byla ponechána po dobu 12, 18, 24, 30 a 36 hodin a provzdušňována atmosférickým vzduchem. Po ukončení ošetření byla semena vysušena na původní vlhkost volně na filtračním papíře.

4.2.2 Stanovení klíčivosti

Klíčivost všech ošetřených variant a neošetřené kontroly byla zjišťována ve čtyřech různých kombinacích podmínek:

- Ve tmě při 20 °C bez předchlazení, na filtračním papíře
- Ve tmě při 15 °C bez předchlazení, na filtračním papíře
- Na světle při 20 °C s předchlazením 48 hodin při 5 °C, na filtračním papíře
- Na světle při 15 °C s předchlazením 48 hodin při 5 °C, na písku

Testy klíčivosti byly prováděny v plastových miskách s perforovanými víčky. V případě klíčení na filtračním papíře byly do misky vloženy 4 kusy filtračního papíru a rovnoměrně přilito 32 ml vody. V případě stanovení klíčivosti na písku bylo do plastových misek přidáno 210 g křemičitého písku a opět 32 ml vody rovnoměrně rozlito po jeho povrchu.

Zkouška klíčivosti byla založena ve čtyřech opakováních po 50 semenech od každé varianty úpravy a také z neupraveného osiva jako kontroly. Výše uvedené podmínky pro klíčení byly zajištěny klíčením v klimaboxu Sanyo MLR-352, kde je možné nastavit přesnou

teplotu i světlo či tmu. Předchlazení bobtnajících semen probíhalo v klimaboxu při 5 °C 48 hodin. Poté byla teplota zvýšena na 15, resp. 20°C.

Klíčivost byla zjišťována každých 24 hodin po dobu 21 dní. Za klíčivý byl považován klíček s délkou minimálně 2 mm. Plesnivá semena a již započítaná semena byla ze vzorků pravidelně odstraňována a na konci pokusu byla dopočítána všechna nevyklíčená semena.

4.2.3 Stanovení laboratorní vzcházivosti

Test laboratorní vzcházivosti byl tak jako test klíčivosti prováděn v plastových boxech s perforovanými víčky. Na dno misek bylo umístěno 210 g křemičitého písku s přídatkem 50 ml vody, na písek rozprostřena semena, která byla nakonec pokryta tenkou vrstvou hrubšího písku. Cílem je zajistit, aby klíčení a vzcházení semen probíhalo ve stresujících podmínkách.

Opět byla založena 4 opakování každé varianty po 50 semenech a vzešlí klíčenci byli počítáni každých 24 hodin. Zkouška probíhala ve tmě při 15 °C. Za vzešlé klíčence byli považováni ti, kteří měli všechny orgány normálně vyvinuté.

4.2.4 Způsob hodnocení výsledků

U ošetřených vzorků a kontroly při stanovení klíčivosti byly sledovány následující semenářské parametry:

- Klíčivost (KL): procento vyklíčených semen z celkově vyšetěho množství semen ve 21 dnech
- Energie klíčení po 3 dnech (EK3): procento vyklíčených semen během prvních tří dní klíčení z celkového počtu semen
- Energie klíčení po 4 dnech (EK4): procento vyklíčených semen během prvních čtyř dní klíčení
- Energie klíčení po 5 dnech (EK5): procento vyklíčených semen během prvních pěti dní klíčení
- Střední doba klíčení (MTG): vyjadřuje rychlost a vyrovnanost klíčení osiva. Výpočet je následující: $MTG = \frac{\sum T_i * N_i}{\sum N_i}$

kde N_i je počet vyklíčených semen v čase T_i .

U ošetřených vzorků a kontroly při stanovení laboratorní vzcházivosti byly sledovány následující semenářské parametry:

- Laboratorní vzcházivost (LVZ): procento vzešlých semen z celkově vyšetěho množství semen
- Energie laboratorní vzcházivosti po 12 dnech (ELVZ12): procento vzešlých semen během prvních 12 dní
- Energie laboratorní vzcházivosti po 14 dnech (ELVZ14): procento vzešlých semen během prvních 14 dní
- Energie laboratorní vzcházivosti po 16 dnech (ELVZ16): procento vzešlých semen během prvních 16 dní

4.2.5 Statistické vyhodnocení

Naměřená data byla vyhodnocena balíkem statistických programů SAS, verze 9.1.3. (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Byla provedena analýza rozptylu (ANOVA) a pro porovnání rozdílů byla využita metoda HSD (Tukey).

5 Výsledky

Zjištěné výsledky jsou rozděleny do dvou částí:

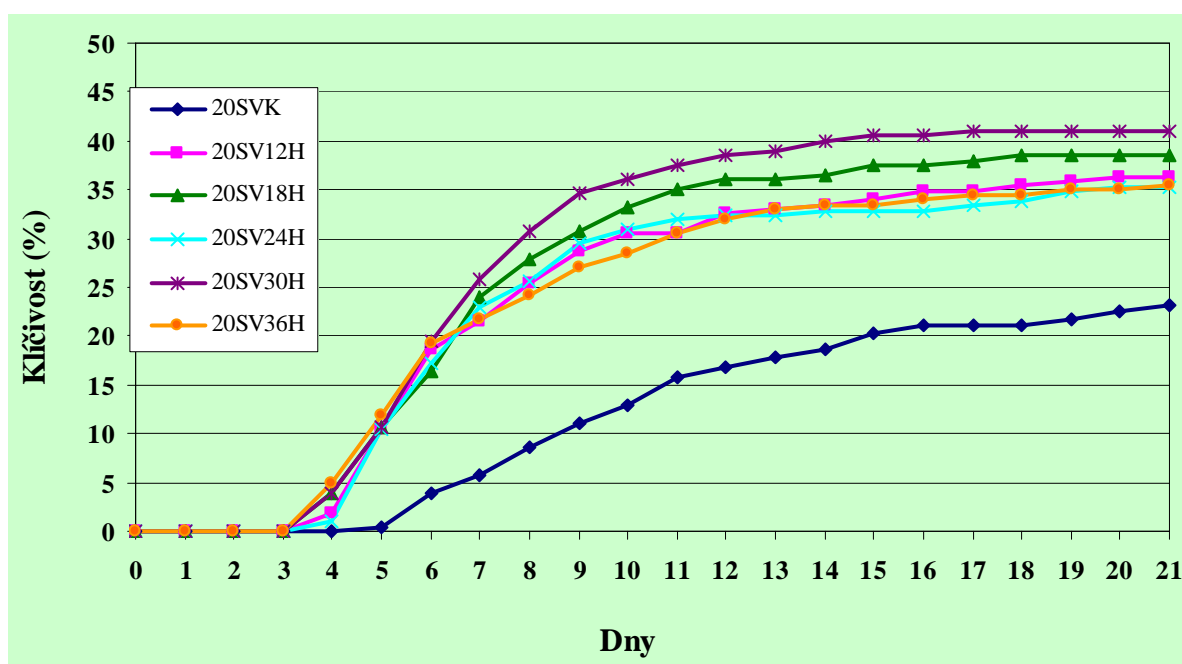
1. Výsledky klíčivosti
2. Výsledky laboratorní vzcházivosti

Data k vyhodnocení klíčivosti a laboratorní vzcházivosti vycházejí z průměrů všech měření pro dané sledování. Neošetřené osivo neboli kontrola je označeno jako K, prehydratačně ošetřené vzorky jsou označeny dle délky své prehydratace, např. osivo hydratované 12 hodin je označeno jako 12h.

5.1 Výsledky klíčivosti

5.1.1 Průběh klíčení ve 20 °C na světle

Graf 1 ukazuje výrazný rozdíl mezi klíčivostí kontroly a klíčivostí upraveného osiva. Maximální klíčivost kontroly dosáhla méně než 25 %, zatímco klíčivost všech variant upraveného osiva se ve 21 dnech pohybovala mezi 35 - 42 %. Také je patrný rozdíl mezi počátkem klíčení. Počátek klíčení byl u všech variant upraveného osiva zaznamenán 4. den, u kontroly až 6. den.

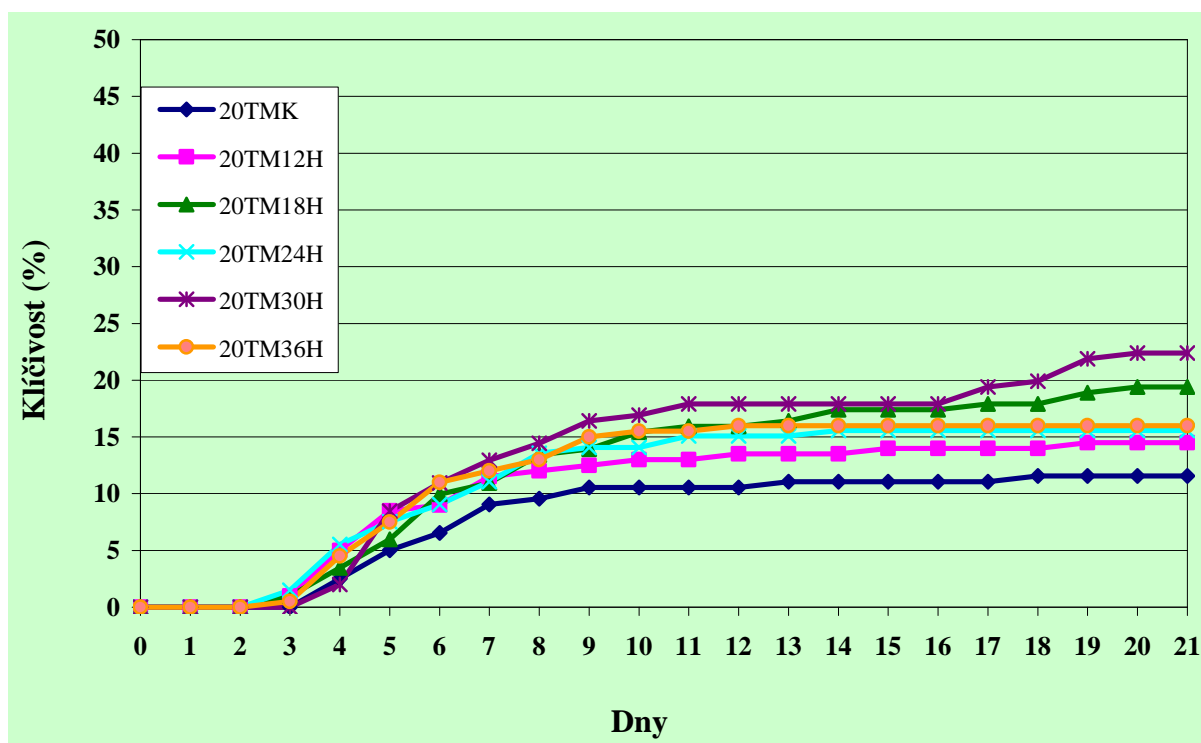


Graf č. 1: Průběh klíčení ve 20 °C na světle

Nejvyšší klíčivosti na světle ve 20 °C bylo dosaženo u varianty 30 hodin prehydratace, dále u prehydratace trvajících 18 hodin. Nejvýraznější nárůst klíčivosti u upravených variant nastal mezi 4. a 9. dnem a dále byl téměř stacionární, zatímco u kontroly byl nárůst pozvolný přibližně mezi 5. a 16. dnem.

5.1.2 Průběh klíčení ve 20 °C ve tmě

Klíčení ve 20 °C ve tmě se podle grafu 2 zdá být vyrovnanější než na světle. Počátek klíčení nastal u většiny vzorků již 3. den, pouze u kontroly a u vzorku hydratovaného 30 hodin až 4. den.



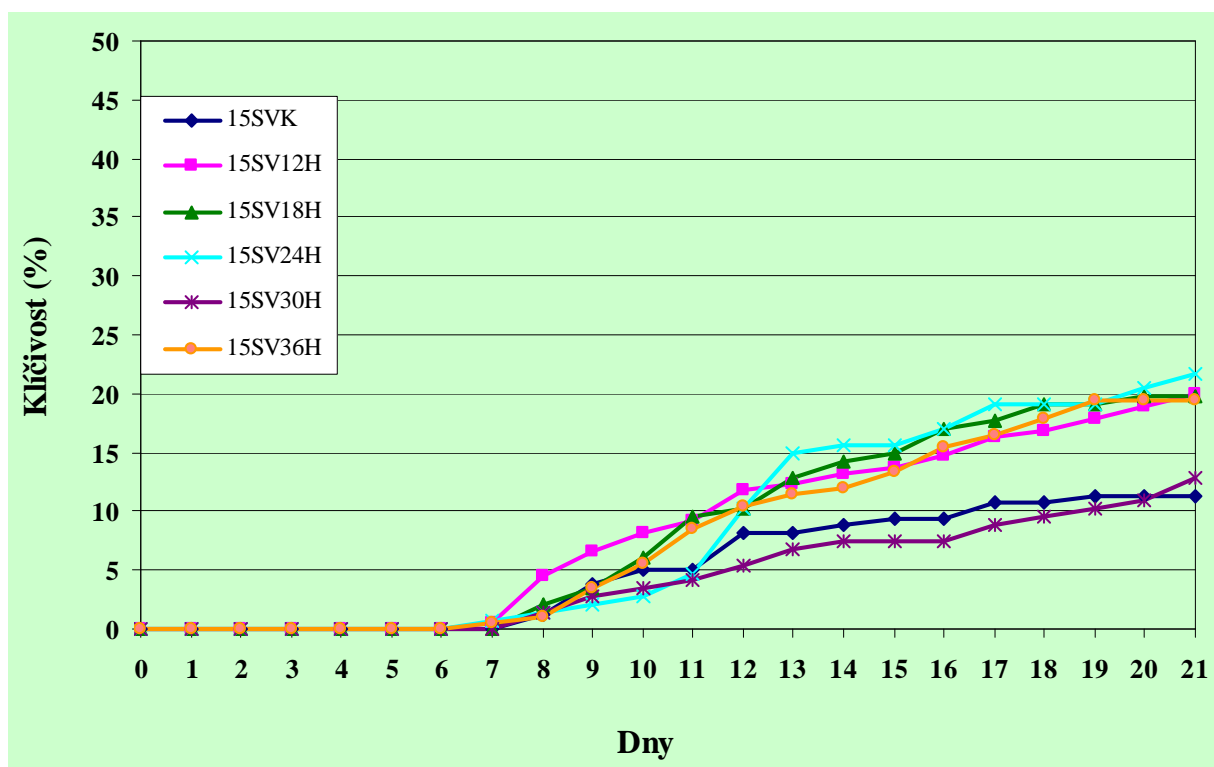
Graf č. 2: Průběh klíčení ve 20 °C ve tmě

Obecně klíčivost nedosáhla tak vysokých hodnot jako při klíčení na světle. Největší klíčivost byla zjištěna u osiva s 30 hodinovou prehydratací (22,4 %). Naopak nejnižší klíčivost v průběhu celého pokusu byla zjištěna opět u kontrolního vzorku, celková klíčivost se rovnala 11,5 %. Výsledky prehydratace po dobu 36 hodin a 24 hodin poskytly podobné výsledky (16,0 % a 15,6 %).

Od 9. dne se u většiny vzorků zdá být klíčivost téměř stacionární, pouze snad s výjimkou vzorků ošetřených 30 a 18 hodin. U nich je patrný ještě mírný vzestup klíčivosti mezi 18. a 21. dnem.

5.1.3 Průběh klíčení v 15 °C na světle

Na grafu 3 je vidět, že semínka na světle v 15 °C začala klíčit později než ve 20 °C na světle i ve tmě. Pouze osivo prehydratované 12 a 24 hodin začalo klíčit 7. den, všechny ostatní vzorky až 8. den pokusu. Také je zajímavé, že osivo hydratované 30 hodin mělo mezi 11. a 20. dnem nejhorší výsledky, tedy i horší než kontrolní vzorek. Nakonec však kontrolní vzorek osiva dosáhl 21. den 11,6 % klíčivosti, zatímco 30 hodin prehydratované osivo o 2,1 % více, protože na rozdíl od kontroly počet klíčivých semen ještě mírně vzrostl.



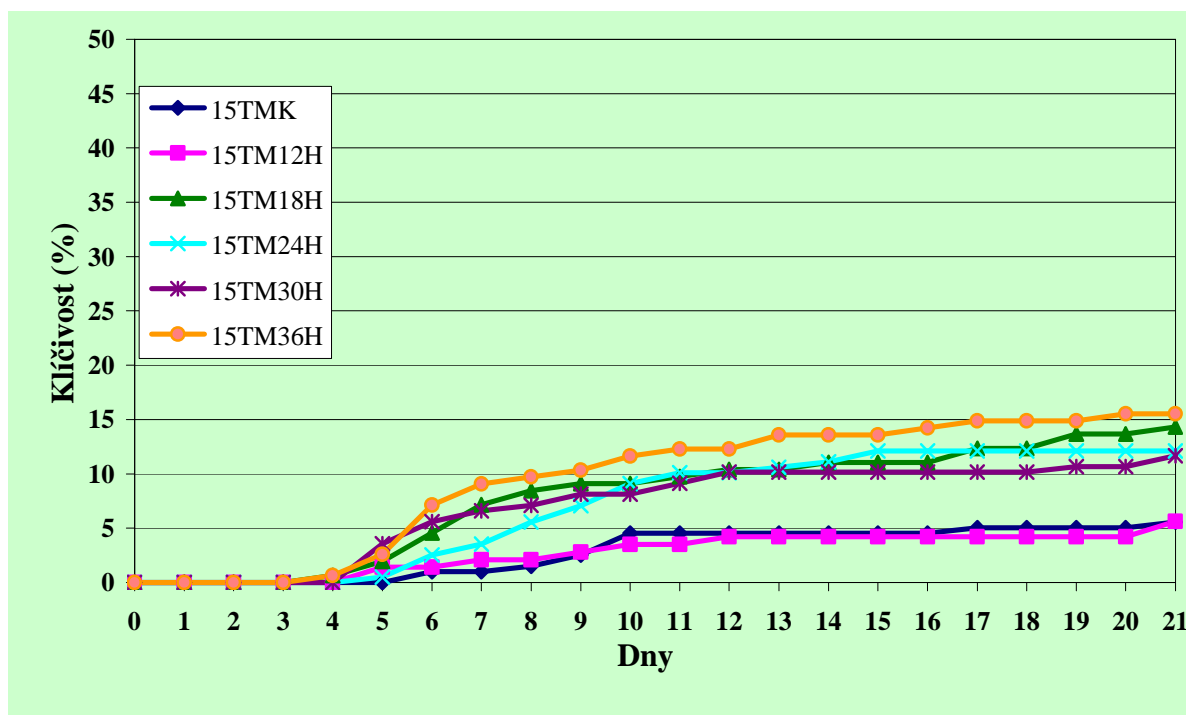
Graf č. 3: Průběh klíčení v 15 °C na světle, na písku

Nejvyšší klíčivost byla zjištěna u osiva prehydratovaného 24 hodin (21,5 %), které však mezi 8. a 10. dnem mělo naopak nejnižší klíčivost. Od 11. dne nastal značný růst a od přibližně 12. dne až do konce pokusu byla jeho klíčivost přibližně shodná s klíčivostí osiva

ošetřovaného 12, 18 a 36 hodin. Osivo hydratované 12 hodin zaznamenalo mezi 7. a 11. dnem největší nárůst klíčivosti.

5.1.4 Průběh klíčení v 15 °C ve tmě

Počátek klíčení byl zaznamenán 4. den u osiva hydratovaného 18 a 36 hodin, u ostatních vzorků 5. den. Jak je vidět na grafu 4, vývoj klíčení kontroly a osiva s 12 hodinovou úpravou je téměř shodný, přičemž od 10. dne u nich téměř nedochází k nárůstu klíčení. Největší nárůst klíčení je zaznamenán mezi 4. a 7. dnem u osiva prehydratovaného 36 hodin. Tato úprava se zdá být také celkově nejúčinnější, její konečná klíčivost dosahuje 16 %, což je více než trojnásobek klíčivosti kontroly a od 6. dne až do ukončení pokusu vykazuje nejvyšší hodnoty klíčivosti.

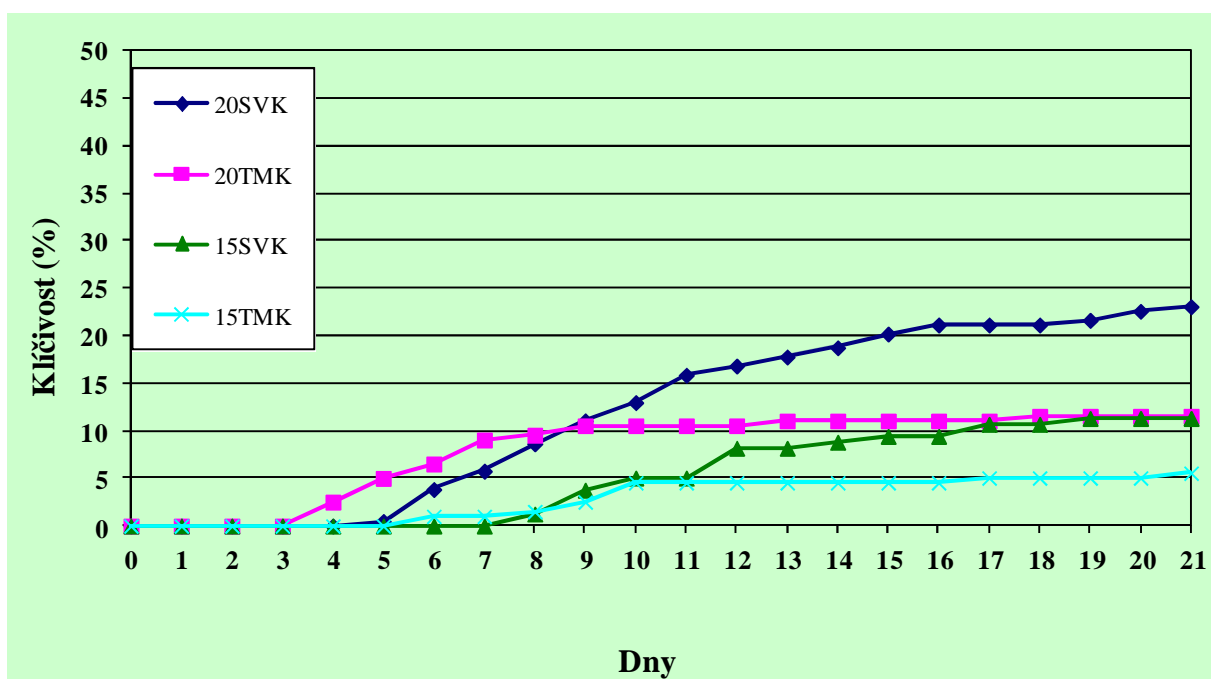


Graf č. 4: Průběh klíčení v 15 °C ve tmě

Obecně vzato výsledky klíčivosti v 15 °C a ve tmě dosahují nižších hodnot v porovnání s ostatními podmínkami.

5.1.5 Průběh klíčení kontrolních vzorků v různých podmínkách

Podle grafu 5 je možné usuzovat, že nejvhodnějšími podmínkami pro klíčení neošetřených semen levandule je 20 °C a světlo. Již od 9. dne byla klíčivost v těchto podmínkách nejlepší, ve 21 dnech dosáhla přibližně dvojnásobku výsledků klíčivosti v podmínkách 20 °C a tmy a také 15 °C a světla. Ve 20 °C na světle byl nárůst klíčivosti od 5. do 16. dne pozvolný a až po 16. dni se začal výrazněji zpomalovat. Na druhou stranu ve 20 °C ve tmě započalo klíčení již 4. den, ale od 9. dne nebyl zaznamenán téměř žádný nárůst klíčivosti. Klíčení v 15 °C na světle v písku započalo až 8. den, mezi 10. – 11. dnem nebyl sledován žádný nárůst a od 12. do 21. dne byl růst pouze minimální.



Graf č. 5: Průběh klíčení kontrolních vzorků v různých podmínkách

Podmínky 15 °C a tma byly dle grafu 5 jednoznačně nejméně příznivé. Počátek klíčení byl zaznamenán 6. den, ale od 10. dne klíčivost stagnovala a nárůst klíčivosti byl pouze minimální. Výsledná klíčivost dosáhla méně než čtvrtiny klíčivosti nejuspěšnější varianty.

5.1.6 Vliv teploty na zjišťované semenářské parametry

TEPLOTA	EK3	EK4	EK5	KL	MGT
20 °C	8,1a	15,8a	21,5a	25,7a	8,0b
15 °C	0,8b	2,6b	6,5b	14,1b	12,3a
HSD	1,13	1,76	1,88	2,08	1,06

HSD – minimální průkazná diference podle Tukey

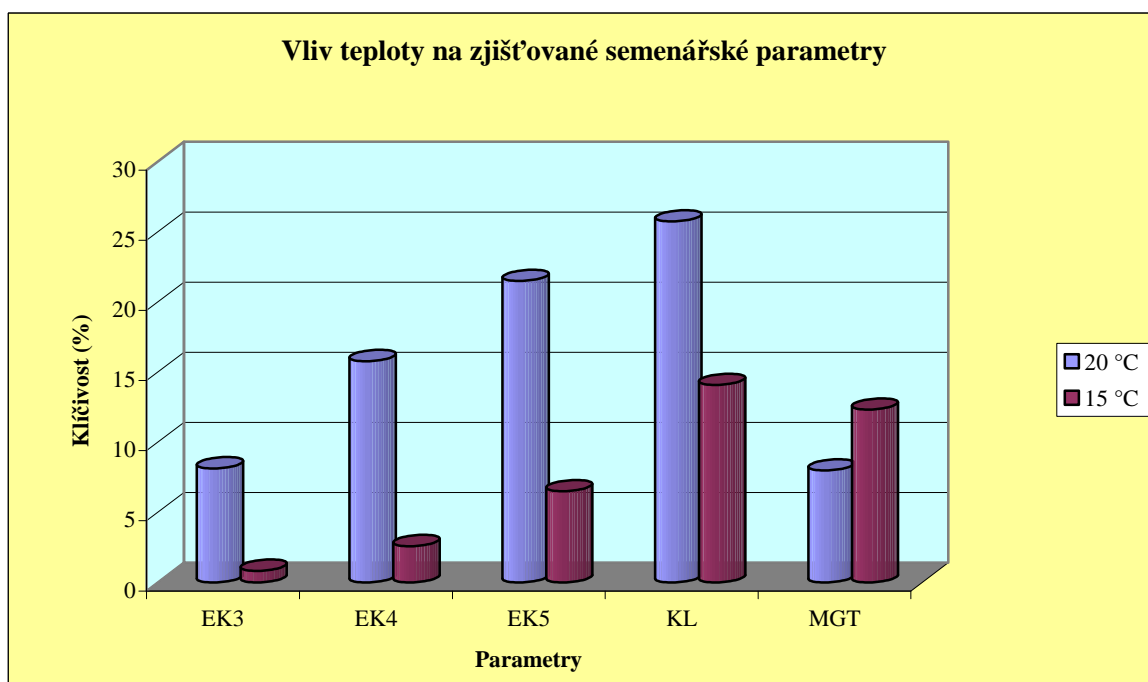
Průměry označené stejným písmenem v rámci sloupců nejsou významně odlišné ($P < 0.05$).

Tabulka č. 1: Vliv teploty na semenářské parametry klíčení

Z tabulky 1 je patrné, že u všech sledovaných semenářských parametrů existuje prokazatelný rozdíl mezi klíčením ve 20 °C a 15 °C, přičemž jsou brána v úvahu výsledná data všech variant klíčení.

Klíčivost byla prokazatelně vyšší ve 20 °C (25,7 %) než ve 15 °C (14,1%). Energie klíčení ve 3 dnech byla v 15 °C minimální (0,8 %), avšak ve 20 °C výraznější (8,1 %). Největší rozdíl je patrný v energii klíčení po 5 dnech v 15 °C (2,6 %) a ve 20 °C (21,5 %). Naopak u střední doby klíčivosti (MGT) je vidět opačný trend, při 20 °C je MGT nižší (8 %), zatímco v 15 °C prokazatelně vyšší (12,3 %).

Níže na grafu 6 je možné pozorovat plynulý růst energie klíčení od třetího do pátého dne jak v případě 15 °C, tak i při teplotě 20 °C.



Graf č. 6: Vliv teploty na semenářské parametry při klíčení

5.1.7 Vliv jednotlivých abiotických faktorů na klíčivost

Vliv světla

	EK3	EK4	EK5	KL	MGT
Světlo	5,0a	11,2a	18,1a	27,1a	11,1a
Tma	4,6a	8,2b	11,2b	13,8b	8,9b
HSD	1,13	1,76	1,87	2,07	1,06

HSD – minimální průkazná diference podle Tukey

Průměry označené stejným písmenem v rámci sloupců nejsou významně odlišné ($P < 0.05$).

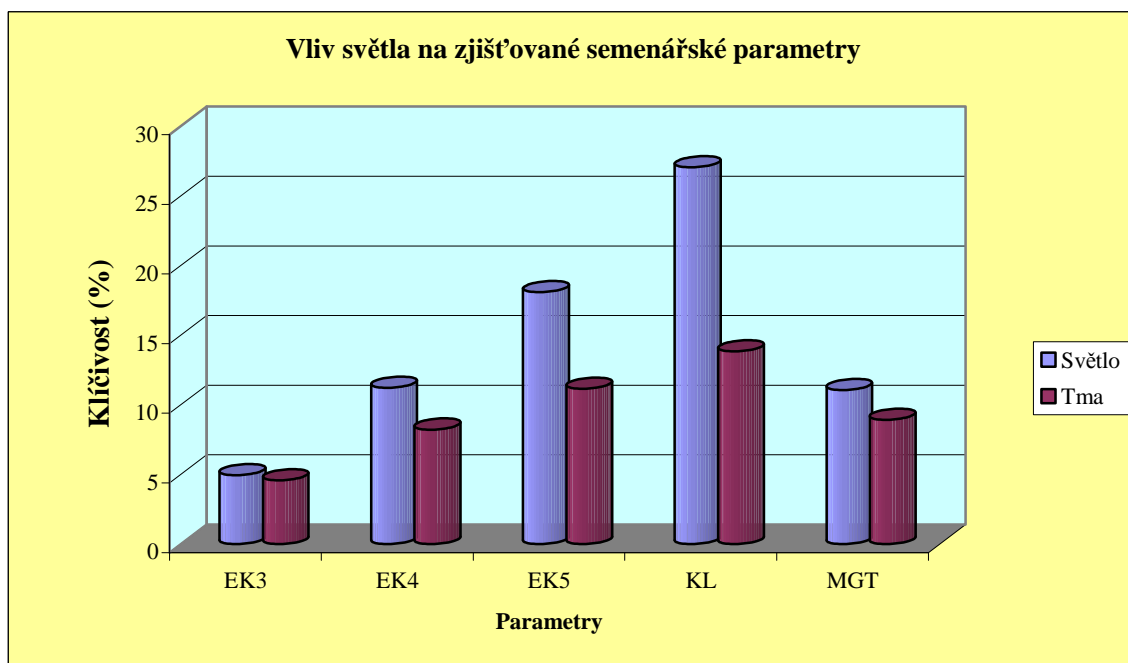
Tabulka 2: Vliv světla na semenářské parametry klíčení

Jak vyplývá z tabulky 2 a grafu 7, u všech sledovaných semenářských parametrů je vidět prokazatelný vliv světla na klíčení levandule, přičemž jsou analyzována výsledná měření všech variant klíčení a délky prehydratace.

Energie klíčení ve třech dnech je téměř srovnatelná v případě klíčení na světle (5 %) i ve tmě (4,6 %). S přibývajícím počtem dní se však rozdíl prokazatelně zvětšuje. EK4 na světle stoupla na 11,2 %, zatímco ve tmě na 8,2 % a EK5 na světle dosahovala 18,1 % a ve tmě 11,2 %. Střední doba klíčení je také průkazně vyšší na světle (11,1 %) než ve tmě (8,9 %).

Největší rozdíl byl zjištěn u parametru celkové klíčivosti ve 21 dnech. Tato klíčivost dosahovala na světle (27,1 %) téměř dvojnásobku klíčivosti ve tmě (13,8 %). Je zajímavé, že v případě klíčení ve tmě nastal pouze 2,6 % nárůst klíčivosti v porovnání s EK5. Na druhou stranu v případě klíčení na světle je tento nárůst s EK5 na světle výraznější (9 %).

Na grafu 7 je vidět, že celkově byl strmější růst klíčivosti v případě klíčení na světle než ve tmě. Na světle je nárůst energie klíčení obecně zaznamenán rychlejší než ve tmě.



Graf č.7: Vliv světla na semenářské parametry

Vliv prehydratačních úprav

ÚPRAVA	EK3	EK4	EK5	KL	MGT
K	1,5b	4,2b	8,5b	13b	10,5a
12h	5,3a	9,4a	14,5a	19,9a	10,2a
18h	5,2a	11,6a	17,2a	24,0a	9,9a
24h	4,9a	10,1a	15,0a	21,1a	9,5a
30h	6,1a	12,1a	16,9a	22,5a	10,3a
36h	5,7a	11,0a	15,6a	22,0a	9,5a
HSD	2,87	4,48	4,77	5,28	2,7

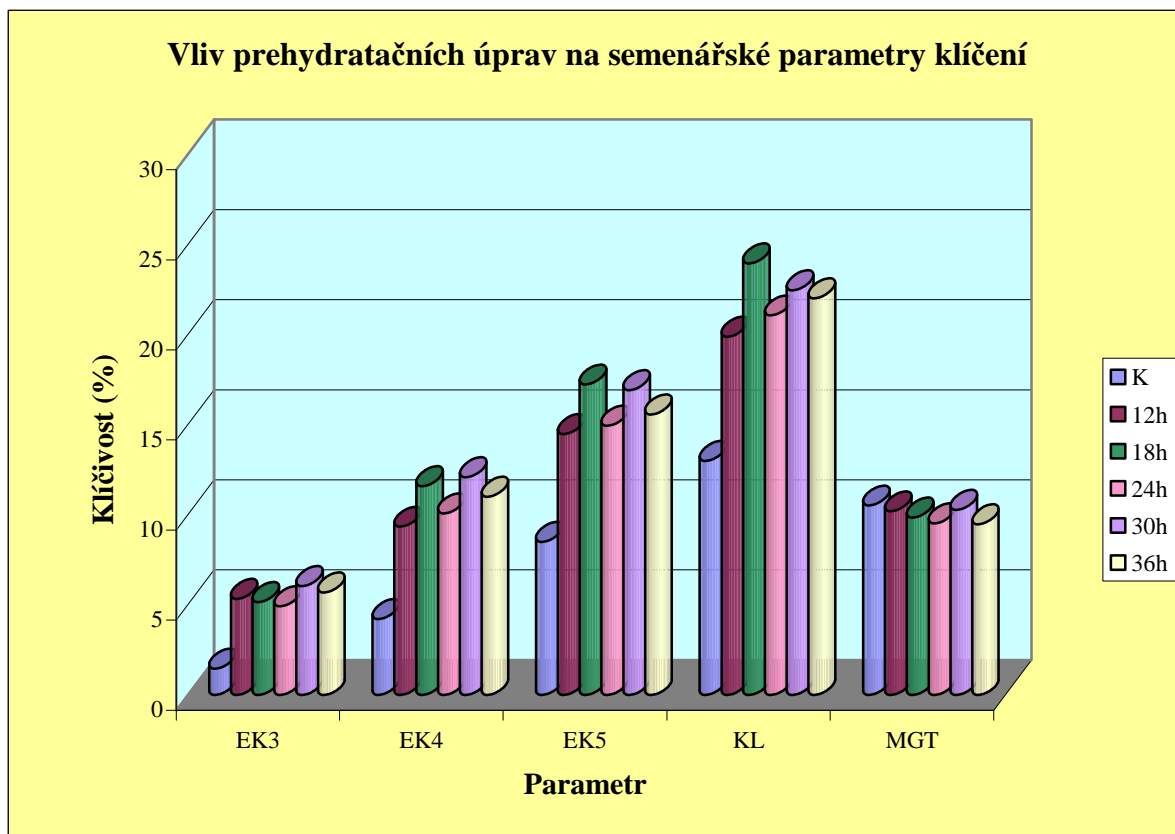
HSD – minimální průkazná diference podle Tukey

Průměry označené stejným písmenem v rámci sloupců nejsou významně odlišné ($P < 0.05$).

Tabulka č. 3: Vliv prehydratačních úprav na sledované semenářské parametry klíčení

Z tabulky 3 vyplývá, že u většiny sledovaných semenářských parametrů existuje průkazný rozdíl mezi výsledky variant ošetřených prehydratací a neošetřenou kontrolou. Například u EK3 kontrola dosahovala pouze 1,5 %, ale doba ošetření 12 hodin již 5,3 % klíčivosti. Pouze u ukazatele střední doby klíčivosti nebyl zjištěn žádný statisticky prokazatelný rozdíl.

Dále je z tabulky 3 patrné, že nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými variantami hydratačních úprav, přičemž byla analyzována výsledná měření všech podmínek klíčení.



Graf č.8: Vliv prehydratačních úprav na sledované semenářské parametry

Podle tabulky 3 a grafu 8 je zřejmé, že obecně byla nejvyšší celková klíčivost a EK5 v případě prehydratace 18 hodin (KL 24 % a EK5 17,2 %) a dále 30 hodin (KL 22,5 % a EK5 16,9 %). Naopak u EK4 výsledky ukázaly opačný trend, nejlepší byla prehydratace 30 hodin (12,1 %) a dále 18 hodin (11,6 %). Rozdíly mezi jednotlivými úpravami však byly statisticky neprůkazné.

Porovnání vlivu podmínek na klíčivost

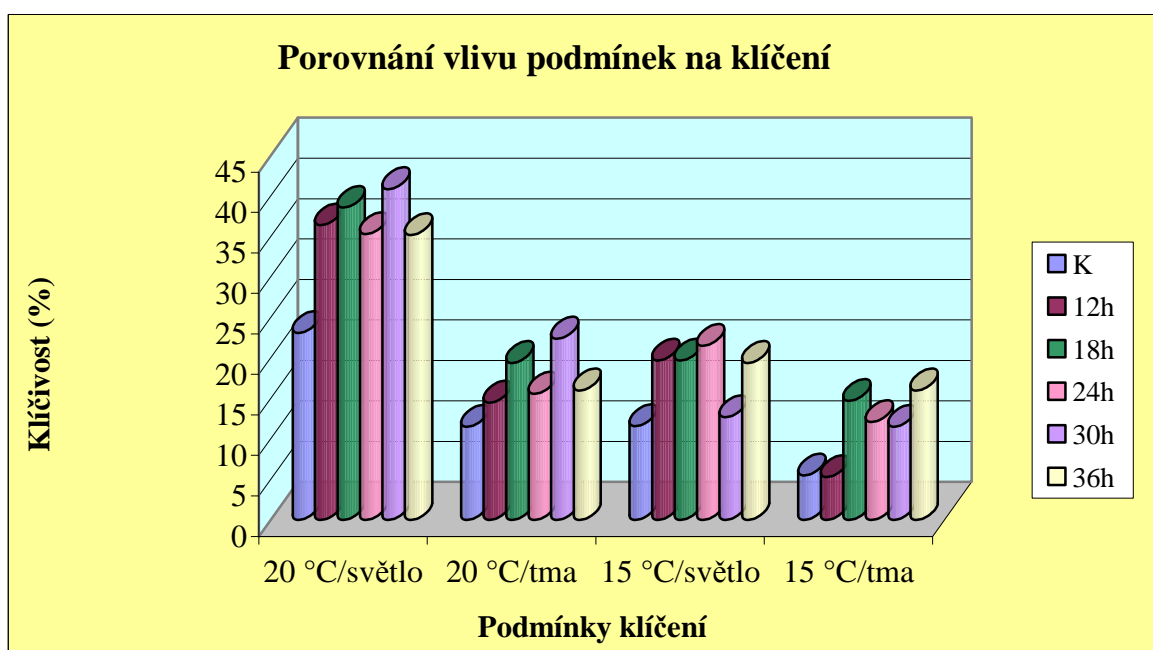
ÚPRAVA	20 °C/ SVĚTLO	20 °C/ TMA	15 °C/ SVĚTLO	15 °C/ TMA
K	23,1b	11,5a	11,6c	5,5a
12h	36,4a	14,5a	19,7ab	5,3a
18h	38,6a	19,4a	19,7ab	14,7a
24h	35,3a	15,6a	21,5a	12,1a
30h	40,9a	22,4a	12,7bc	11,5a
36h	35,2a	16,0a	19,4ab	16,0a
HSD	12,02	11,58	7,36	13,60

HSD – minimální průkazná diference podle Tukey

Průměry označené stejným písmenem v rámci sloupců nejsou významně odlišné ($P < 0.05$).

Tabulka 4: Výsledky klíčení v různých podmínkách

Z tabulky 4 je patrné, že nejvyšší klíčivost byla dosažena při klíčení ve 20 °C na světle, a to při hydratačním ošetření 30 hodin (40,9 %). V rámci těchto podmínek je patrný určitý trend, kontrola (23,1 %) se průkazně odlišuje od všech upravených variant, přičemž tato hodnota převyšuje dosaženou klíčivost všech výsledků v rámci ostatních podmínek. Klíčení ve tmě ve 20 °C i v 15 °C neposkytlo žádné průkazné rozdíly v klíčivosti mezi jednotlivými variantami, je zde také patrná vysoká variabilita uvnitř tříd. Při klíčení v 15 °C na světle v písku se průkazně nejlepším ošetřením ukázala být prehydratace 24 hodin (21,5 %) a průkazně nejmenší klíčivost byla zjištěna opět u kontroly (11,6 %).



Graf č.9: Výsledky klíčení v různých podmínkách

Jak je velmi dobře vidět na grafu 9, celkově nejméně úspěšnými podmínkami pro klíčení levandule se zdá být světlo a teplota 20 °C. Naopak nejnižší klíčivost byla zaznamenána v podmínkách tmy při teplotě 15 °C, kde je klíčivost osiva s 12 hodinovou prehydratací nižší (5,3 %) než u kontroly (5,5 %).

5.2 Výsledky laboratorní vzcházivosti

ÚPRAVA	ELVZ12	ELVZ14	ELVZ16	LVZ
K	1,3b	2,0c	2,0c	2,7c
12h	8,0ab	8,5ab	9,0ab	9,5ab
18h	7,3ab	10,0ab	10,7a	14,0a
24h	3,5ab	4,5ab	5,0bc	6,5bc
30h	9,5a	12,5a	13,5a	13,5a
36h	8,0ab	8,5ab	10,0a	11,5ab
HSD	6,88	5,5	4,71	5,33

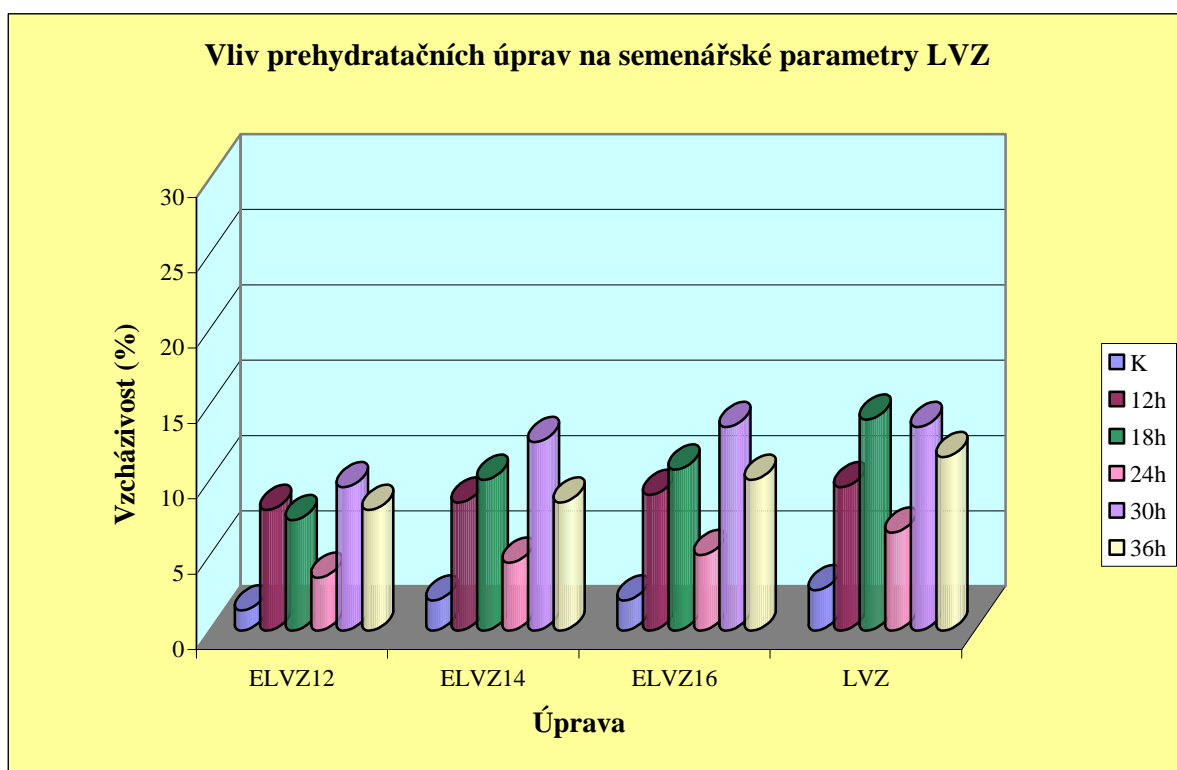
HSD – minimální průkazná diference podle Tukey

Průměry označené stejným písmenem v rámci sloupců nejsou významně odlišné ($P < 0.05$).

Tabulka 5: Vliv prehydratačních úprav na semenářské parametry laboratorní vzcházivosti

Na údajích z tabulky 4 a na grafu 10 je vidět, že ve všech sledovaných parametrech laboratorní vzcházivosti levandule se výsledky kontroly prokazatelně liší od výsledků alespoň některých ošetřených variant. V případě ELVZ12 se vzcházivost od kontrolního vzorku (1,3 %) průkazně odlišovala jen u osiva hydratovaného 30 hodin (9,5 %). Energie klíčení ve 14 dnech u kontroly (2,0 %) byla prokazatelně nejnižší a lišila se od všech upravených vzorků, přičemž nejlepšího výsledku bylo opět dosaženo u hydratace 30 hodin (12,5 %). Podobná situace nastala i u ELVZ16, kdy u kontroly byla zjištěna nejnižší (2,0 %) a prokazatelně odlišná vzcházivost, zatímco prokazatelně nejvyšší byla zjištěna u vzorků ošetřených 30 hodin (13,5 %), 18 hodin (10,7 %) a 36 hodin (10 %).

Laboratorní vzcházivost byla zjištěna jako nejvyšší u osiva ošetřeného 18 hodin (14,0 %) a dále 30 hodin (13,5 %). Oba tyto vzorky se průkazně lišily od ostatních úprav a nejnižší vzcházivost byla opět pozorována u kontroly (2,7 %), která se statisticky průkazně nelišila jen od osiva ošetřeného 24 hodin (6,5 %). Je zajímavé, že u ošetření 30 hodin se vzcházivost mezi ELVZ16 a LVZ neliší, ačkoliv se jedná o ošetření s téměř nejlepšími výsledky vzcházivosti.



Graf č. 10: Vliv prehydratačních úprav na semenářské parametry laboratorní vzcházivosti

6 Diskuze

Z výsledků pokusů vyplývá, že klíčivost u sledovaného vzorku levandule byla výrazně vyšší na světle než ve tmě a také při klíčení ve 20 °C než v 15 °C. V experimentu byl ověřován právě vliv světla na projev klíčivosti. Klíčení na světle doporučují také metodiky AOSA i ISTA, první organizace však uvádí teplotou 15 °C, naopak ISTA uvádí jako vhodnou teplotu 20 °C. Také výsledky porovnání klíčení kontrol udává jako nejlepší variantu světlo a 20 °C.

Vysoká variabilita výsledků mezi variantami klíčení by mohla být vysvětlena metodickou chybou. Při opakování experimentu by mohla být variabilita nižší, metoda hodnocení fyziologické klíčivosti podle délky kořínku (v tomto experimentu byla 2 mm) je ale touto chybovostí jako subjektivní metoda hodnocení ovlivněna. Pouze větší rutina v počítání denních klíčivostí by pomohla chybu snížit. V budoucnu by denní klíčivost mohla být zaznamenávána kamerovým systémem a vyhodnocována počítačem. (Ducournau S. a kol., 2005)

Při analýze vlivu teploty na semenářské parametry byly hodnoty vyšší při 20 °C než při 15 °C kromě střední doby klíčení. Indikuje to, že rychlost klíčení byla vyšší při 15 °C než při 20 °C.

Z výsledků pokusů také vyplývá, že ve většině případů neexistuje průkazný rozdíl v klíčivosti a vzcházejivosti mezi jednotlivými variantami ošetření. Bylo by proto dobré navrhnout další pokus, který by pomohl nalézt průkazně nejlepší ošetření.

V ČR v současnosti neexistuje právně závazná minimální klíčivost pro osivo léčivých rostlin. Ve vyhlášce 191/1996 Sb. byla uvedena minimální klíčivost 70 %, avšak tato vyhláška byla zrušena vyhláškou 175/2004 Sb., kde tyto podmínky již uvedeny nejsou. McDonald (2005) ve své práci uvádí také 70 % minimální klíčivost a Delgado a kol. (2006) prováděli pokus s *Lavandula luisieri* a dosáhli klíčivosti 81 – 95 %, přičemž nejlepší výsledky byly dosaženy při střídajících teplotách 18/8 °C a 8 hodinové fotoperiodě. Na druhou stranu Pérez-García a kol. (2003) ve své studii zjistili, že klíčivost různých partií levandule (v jejich případě *L. stoechas*) může být značně variabilní: 16 – 95 %. Tato skutečnost se může odrážet i v nynějších pokusech s *L. angustifolia*, protože maximální dosažená klíčivost nikdy nepřesáhla 41 %.

Problémem také je, že se při klíčení na filtračním papíře značně rozšířila plíseň. Do jisté míry se pravděpodobně vyskytovala již na semenech před začátkem klíčení, kdy bylo na

semenech s pomocí lupy vidět jakési světlé plochy. Na druhou stranu však hydratovaná semena klíčila lépe než neošetřená, i když plíseň by se spíše projevila na prehydratovaném osivu. Proto je původ této změny barvy semen diskutabilní a bylo by nutné další zkoumání. Přítomnost plísně na filtračním papíře a rozšíření se na semena se zdálo být větší při vyšší teplotě, přičemž však ve 20 °C byla zaznamenána i vyšší klíčivost. Klíčení na písku mělo simulovat ztíženou dostupnost vody pro semena, a možná proto se zde tolik plíseň nerozšiřovala. Finální klíčivost byla ve srovnání s klíčením při stejné teplotě ve tmě na filtračním papíře vyšší a v porovnání s klíčením v průběhu celého pokusu mírnější, rovnoměrnější a vyrovnanější u všech variant ošetření. Jak již bylo dříve uvedeno, pro klíčení je rozhodující zdravotní stav osiva. Pokud by se pokus prováděl s méně plesnivějším osivem, mohly by být hodnoty klíčení vyšší. Také by mohlo být prováděno častější odstraňování poškozených semen, čímž by se mohlo zabránit dalšímu rozšiřování plísně.

V souvislosti s dormancí levandule je možné zmínit práci Baskin a Baskin (2005), kteří uvádějí, že rostliny čeledi *Lamiaceae* vykazují obvykle fyziologickou dormanci typu 1 a 2. Typ 1 se podle nich často objevuje u letniček mírného pásma nebo u vytrvalých rostlin, jejichž semena dozrají na jaře a klíčí na podzim. V obou případech to znamená, že k přerušení dormance potřebují vysoké teploty. Typ 2 se také vyskytuje u letniček mírného pásma a dále u vytrvalých rostlin klíčících na jaře. V každém případě potřebují semena těchto rostlin k přerušení dormance nízké teploty. Z výsledků pokusů je možné potvrdit tuto teorii a lze usuzovat, že levandule by byla spíše zařazena do druhého typu, protože se zdá, že předchlazení klíčení prospělo.

Na druhou stranu McDonald (2005) se zmiňuje, že se dá předpokládat, že čím menší semeno je, tím větší je pravděpodobnost, že bude vyžadovat ke klíčení světlo. Světlo může mít vliv nejen na přerušení dormance, ale také na indukci klíčení. Semena levandule jsou velmi malá, proto je pravděpodobné, že světlo ke klíčení potřebují. Tuto hypotézu je možné na základě pokusů potvrdit.

Otázkou tedy zůstává, do jaké míry se na výsledcích podílely počáteční nízké teploty a do jaké míry světlo. V porovnání s klíčením bez předchlazení a ve tmě byla klíčivost na světle s předchlazením prokazatelně vyšší. Například oficiální metodiky AOSA i ISTA doporučují ke klíčení levandule jako nedílnou součást oba faktory - předchlazení i světlo. Pro případné posouzení, který z těchto dvou faktorů má větší vliv na klíčivost levandule či se jedná o jejich společný účinek, by bylo potřeba uskutečnit další pokus.

V případě posuzování laboratorní vzcházivosti docházelo v závěru pokusu k vysychání písku a již vzešlí klíčenci usychali. Proto by ani semínka s nižší rychlostí klíčení zřejmě nemohla vzejít, prakticky od 17. dne již nebyl zaznamenán nárůst vzešlých rostlin. Je však možné, že pokud by měla semena po celou dobu pokusu dostatek vody, vzešlo by jich více. Nedostatek vody není ale na rozdíl od klíčení na filtračním papíře viditelný, proto je velmi těžké posoudit, zda (případně kdy a v jakém množství) by bylo nutné vodu semínkům dodat. Tento pokus však lépe simuluje přirozené podmínky než test klíčivosti a je zde patrné, že prehydratované osivo dosáhlo lepších výsledků než kontrolní neošetřený vzorek. Lze tedy konstatovat, že prehydratace splnila svůj účel a zlepšila vzcházivost osiva.

Na základě výše uvedených pokusů a zmíněných problémů může vzniknout doporučení pro co nejjednodušší a nejúspěšnější pěstování levandule v praxi. Pokud chceme pěstovat tuto rostlinu ze semene, zdá se, že nejlepší volbou je vysetí semínek na široko a následné přepikýrování semenáčků. Odpadne tak problém s nízkou klíčivostí a příliš řídkým a mezerovitým porostem. Nevýhodou však je, že spotřeba osiva a tudíž i ekonomické náklady budou vyšší.

Existuje také možnost vegetativního množení nebo komerčního množení *in vitro* s užitím růstových regulátorů (Andrade a kol. 1999). Posledně zmíněným způsobem lze předejít nevyrovnanému růstu rostlin a různému obsahu silic v jednotlivých rostlinách, což se projevuje u generativně množené levandule a zároveň se zajistí rychlejší růst a zakořenění a sníží se riziko změny morfologických a chemických vlastností, které se objevuje u vegetativně množných rostlin.

Na závěr lze říci, že k dosažení spolehlivého zlepšení klíčivosti levandule metodou prehydratace by bylo potřeba uskutečnit další experimenty, které by zahrnovaly výše uvedená doporučení a poznatky, týkající se již provedených pokusů. Tyto pokusy ukázaly, že existuje rozdíl mezi neošetřeným a ošetřeným osivem, ale již neprokázaly rozdíl mezi jednotlivými variantami ošetření.

7 Závěr

- Obecně lze říci, že prehydratační úpravy měly prokazatelný vliv na klíčivost a na laboratorní vzcházivost osiva levandule.
- Ve 20 °C na světle byl zjištěn statisticky prokazatelný rozdíl mezi klíčivostí kontrolního vzorku a ošetřených variant.
- Klíčení ve tmě ve 20 °C ani i v 15 °C neposkytlo žádné průkazné rozdíly v klíčivosti mezi ošetřenými variantami a kontrolou.
- Výsledky klíčivosti v 15 °C ve tmě dosáhly nejnižších hodnot v porovnání s ostatními podmínkami.
- Teplota hraje při klíčení významnou roli. Byl zjištěn prokazatelný rozdíl mezi klíčením ve 20 °C a 15 °C, klíčivost ve 20 °C byla prokazatelně vyšší.
- Na klíčení levandule má prokazatelný účinek světlo.
- Nejvyšší klíčivost byla dosažena při klíčení na světle ve 20 °C s osivem prehydratovaným po dobu 30 hodin a předchlazeným po dobu 48 hodin v 5 °C.
- V souvislosti s prehydratačními úpravami existuje u většiny sledovaných semenářských parametrů průkazný rozdíl mezi výsledky variant ošetřených prehydratací a neošetřenou kontrolou, ale nebyl zjištěn průkazný rozdíl mezi jednotlivými variantami ošetření.
- Ve všech sledovaných parametrech laboratorní vzcházivosti levandule se výsledky kontroly prokazatelně liší od výsledků alespoň některých ošetřených variant.

8 Použité zdroje

- Amer, G. A., Utkhede, R. S. 2000. Development of formulations of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. *Canadian Journal of Microbiology*. P. 809 - 816.
- Andrade L. B., Echeverrigaray S., Fracaro, F. Pauletti, G. F., Rota L. 1999. The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Vol. 56. p. 79 – 83.
- AOSA. Test Methods for Species without Rules. [online] [cit. 2011- 12-29] Dostupné z: <http://www.aosaseed.com/docs/070426_Species_wo_AOSA_list_plus_adds.pdf>
- Aoyama E. M., Ono E. O., Furlan M. R. 1996. Estudo da germinacao de sementes de lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller). *Scientia Agricola* vol. 53. [online] [cit. 2012-02-27] Dostupné z: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161996000200013&script=sci_arttext>
- Baskin, C. B., Baskin M. J. 2005. Seed Dormancy in Wild Flowers. In: McDonald M. B. and Kwong F. Y. (eds.). *Flower Seeds: Biology and Technology*. Cabi Publishing. Wallingford. p. 163 - 185. ISBN: 0851999069.
- Basu, R. N. 1995. Seed Viability. In: Basra, A. S. *Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications*. Haworth Press.
- Bewley, J. D. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell*. Vol. 9. P. 1055-1066.
- Bewley, J. D., Black, M. 1985. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York. 367 p. ISBN: 0306416875.
- Bruggink, G. T. 2005. Seed Priming, Pregermination, Pelleting and Coating. In: McDonald M. B. and Kwong F. Y. (eds.). *Flower Seeds: Biology and Technology*. Cabi Publishing. Wallingford. p. 249 - 262. ISBN: 0851999069.
- Cadman C. S. C., Toorop P. E., Hilhorst H. W. M., Finch-Savage. 2006. Gene expression profiles of *Arabidopsis Cvi* seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. *The Plant Journal* vol.85. p. 805 – 822.
- Chavagnat, A. 1978. Lavender seed dormancy and germination. *Acta Horticulturae*. [online] [cit. 2012- 01-05] Dostupné z: <http://www.actahort.org/books/83/83_19.htm>

- Chloupek, O. 2000. Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Academia. Praha. 311 s. ISBN: 8020007792.
- Copeland, L. O., McDonald, M. B. 1995. Seed Science and Technology. Chapman & Hall. New York. 409 p. ISBN: 0412063018.
- Delgado, F., Goncalves, O., Amaro-Silva, C., Silva, L., Caldeira, R., Castanheira, I., Oliveira, R., Alberto, D., Jacinto, P., Sousa, E., Caixinhas, L. 2006. Seed germination and essential oil of *Lavandula luisieri* from central eastern Portugal. In: Cervelli, C., Ruffoni, B., Guda, C. D., Minuto, G. (eds.). Proceedings of the 1st International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation. Acta Horticulturae. P. 283 – 287. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <<http://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/933/1/Proceedings%20of%20the%20first%20international%20symposium-p-283-287.pdf>>
- Demir, I. 2002. The effect of controlled hydration treatment on germination and seedling emergence of unaged and aged proper seeds during development. *Izrael Journal of Seed Science* vol. 50. P. 251 – 257.
- Demir, I., Okcu, G. 2004. Aerated hydration treatment for improved germination and seedling growth in aubergine (*Solanum melongena*) and pepper (*capsicum annum*). *Annals of Applied Biology*. Vol. 144. P. 121 - 123.
- Ducournau S., Feutry A., Plainchault P., Revollon P., Vigouroux B., Wagner M. H. 2005. Using computer vision to monitor germination time course of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Seed Science and Technology*. vol.33. p. 329-340.
- Ellis R. H., Hong T. D., Roberts E. H. 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks - Volume II. Řím. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <http://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/52/ch26.htm#CHAPTER%2041.%20LABIATAE>
- Farahani, H. A., Moaveni P., Maroufi K. 2011. Effect of Hydropriming on Seedling Growth of Basil (*Ocimum basilicum*). *Advances in Environmental Biology* vol. 5. p. 2258 – 2263.
- Geneve, R. L. 2005. Vigour Testing in Flower Seeds. In: McDonald M. B. and Kwong F. Y. (eds.). *Flower Seeds: Biology and Technology*. Cabi Publishing. Wallingford. p. 317 - 332. ISBN: 0851999069.

- Ghassemi-Golezani K., Aliloo A. A., Valizadeh M., Moghaddam M. 2008. Effects of Osmo- and Hydro-priming on Seed Germination and Field Emergence of Lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Notulae Scientia Biologicae* vol. 1. P. 29 - 33.
- Hampton, J. G., Coolbear P. 1990. Potential versus actual seed performance - can vigour testing provide an answer? *Seed Science Technology*. In: Geneve, R. L. 2005. *Vigour Testing in Flower Seeds*.
- Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P., Sodhi, P. S. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: Development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Experimental Agriculture* vol. 35. P. 15 - 29.
- Hilhorst, H. W. M., Toorop, P. E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. Wageningen.
- Houba, M., Hosnedl V. 2002. *Osivo a sadba*. Ing. Martin Sedláček. 185 s. ISBN: 8090241360.
- Hosnedl, V. 2003. Klíčivost a vzcházivost osiva. [online] [cit. 2012- 02-12] Dostupné z <<http://www.agris.cz/clanek/125695>>
- Kwong F. Y., Sellman R. L., Jalink H., van der Schoor R. 2005. Flower Seed Cleaning and Grading. In: McDonald M. B. and Kwong F. Y. (eds.). *Flower Seeds: Biology and Technology*. Cabi Publishing. Wallingford. p. 225- 247. ISBN: 0851999069.
- Lercari, B., Magnani, G., Agnoli, G. 1998. Effects of growth regulators and of light on germination of seeds of *lavandula* spp. *Colture Protette*. Vol. 86. p. 85 - 91.
- Li Y., Dorna H., Guo S., Zhai M. 2009. Effects of osmopriming and hydropriming on vigour and germination of China aster (*Callistephus chinensis*) seeds. *Forestry Studies in China*. P. 111- 117.
- Li, W., McDonald, M. B., Bennett M. A., Kwong, F. Y. 2005. Hydropriming of differing sized impatiens „Expo Wine“ seeds. *Seed Science and Technology*. Vol. 33. p. 639 – 646.
- Maher, J., Gerasopoulos, D. and Maloupa, E. 2000. Temperature and Light Effects on Germination of *Lavandula stoechas* seeds. *Acta Horticulturae*. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <http://www.actahort.org/books/541/541_38.htm>
- McDonald, M. B. 2005. Flower Seed Physiology and Plug Germination. In: McDonald M. B. and Kwong F. Y. (eds.). *Flower Seeds: Biology and Technology*. Cabi Publishing. Wallingford. p. 163 - 185. ISBN: 0851999069.

- Moradi, A., Younesi, O. 2009. Effects of Osmo- and Hydro-priming on Seed Parameters of Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). Australian Journal of Basic and Applied science vol. 3. P. 1696 - 1700.
- Pazdera, J. 2003. Možnosti zvyšování kvality osiv - Předseťové úpravy osiv. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <<http://www.agris.cz/clanek/126180>>
- Pazdera, J. 2002. Vitalita osiva salátu (*Lactuca sativa*) po hydratační úpravě primingem. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/zamysleni/zam_98/Pazdera_VITALITA_OSIVA_SALATU.pdf>
- Pazderů, K., Hosnedl, V. 2008. Inovace v rostlinné produkci. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 12 s. ISBN: 9788072711932.
- Perez-Garcia, F., Hornero, J., Gonzalez-Benito, M. E. 2003. Interpopulation variation in seed germination of five Mediterranean Labiatae shrubby species. Israel Journal of plant Sciences. Vol. 51. P. 117 - 124.
- Pinfield, N. J., Stobart, A. K. 1972. Planta. In: Psota, V., Šebánek, J. 1999. Role fytohormonů v klíčení a sladování. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 53 s. ISBN: 72710230.
- Psota, V., Šebánek, J. 1999. Role fytohormonů v klíčení a sladování. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 53 s. ISBN: 72710230
- Rouhi H. R., Aboutalebian M. A., Sharif-Zadeh F. 2011. Seed Priming Improves the Germination Traits of Tall Fescue (*Festuca arundinacea*). Notulae Scientia Biologicae vol. 3. P. 57 - 63.
- Rota, C., Carraminana, J. J., Burillo, J., Herrera, A., 2004. In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. Journal of Food Protection. vol. 67, p. 1252 - 1256.
- Rowse, H. R., McKee J. M. T., Finch-Savage W. E. 2001. Membrane-priming: a method for small samples of high value seeds. Seed Science and Technology 29. P. 587 – 597.
- Ruminska, A., Suchorska, K. and Weglarz, Z. 1978. Effect of Gibberellic Acid on Seed Germination of some Vegetable and Medicinal Plants. Acta Horticulturae. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <http://www.pubhort.org/actahort/books/73/73_18.htm>

- Selvarani K., Umarani R. 2011. Evaluation of seed priming methods to improve seed vigour of onion (*Allium cepa* cv. *aggregatum*) and carrot (*Daucus carota*). *Journal of Agricultural Technology* vol. 7. p. 857 – 867.
- Singh, J. M., Srivastava, I. J. 1990. Seed germination in lavender with acid treatment. *Seed Research*, vol. 18. p. 86 – 87.
- Taylor A.G., Allen P.S., Bennett M.A. 1998. Seed enhancements. *Seed Science Research*. Vol. 8. Issue 2. P. 245-256.
- TeKrony, D. M., Egli, D. B. 1991. Relationship of seed vigor to crop yield: A review. *Crop Science* 31. p. 816 – 822.
- Thornton, J. M., Powell A. A. 1995. Prolonged aerated hydration for improvement of seed quality in *Brassica oleracea*. *Annals of Applied Biology*. vol. 127. p. 183 - 189.
- Thurzová, L. 1975. *Malý atlas léčivých rostlín*. Osveta. Martin. 448 s.
- Trnka, Z. 2004. Metodika zkoušení osiva. *Věstník Ministerstva zemědělství*. [online] [cit. 2012- 03-05] Dostupné z: <<http://www.ukzuz.cz/Articles/46-2-Legislativa+.aspx>>
- Tonutti, I., Liddle, P., 2010. Aromatic plants in alcoholic beverages. *Flavour and Fragrance Journal*. vol. 25, p. 341 – 350.
- Venkatasubramaniam A., Umarani R. 2007. Evaluation of seed priming methods to improve seed performance of tomato (*Lycopersicon esculentum*), egg plant (*Solanum melongena*) and chilli (*Capsicum annum*). *Seed Science and Technology*, Vol. 35. p. 487 – 493.
- Vokou, D., Varelzidou, S., Katinakis, P., 1993. Effects of aromatic plants on potato storage: sprout suppression and antimicrobial activity. *Agriculture Ecosystems & Environment*. vol. 47, p. 223 – 235.
- Warren, J. E., Bennett M. A. 1999. Bio-osmopriming tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds for improved stand establishment. *Seed Science and Technology* Vol. 27. p. 489 – 499.