

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
PEDAGOGICKÁ FAKULTA
KATEDRA FYZIKY

**MODIFIKACE POVRCHOVÝCH
VLASTNOSTÍ PLASMATEM U SEMEN**

Diplomová práce

vedoucí práce
Ing. Michal Šerý

jméno a příjmení: Iveta Hrušková
obor: AMVT, 2006 - 2009
České Budějovice

Anotace

Předmětem diplomové práce je výzkum vlivu plazmatu na klíčivost semen u vybraných druhů rostlin (pšenice a oves). Tato komplexní práce zahrnuje jednak část fyzikálně technickou, tak část biologickou. Práce diskutuje výběr vhodných semen pro aplikaci plazmatu, popisuje parametry plazmového procesu, diskutuje výsledky testů klíčivosti a počátečního růstu semenáčků. Součástí práce jsou výstupy z elektronové mikroskopie, vyhodnocení naměřených dat a přílohy.

Annotation

Aim of diploma work is research of plasma influence on seed germination in some plant species (wheat and oat). The complex work includes parts both physical-technological and biological. The work discusses a selection of useful seeds for the plasma treatment and describes parameters of plasma processing. It discusses results of germination testing and early growth of seedlings. Parts of the work are electron microscopy output, data processing result, and appendix.

Poděkování

Děkuji paní RNDr. Boženě Šeré, Ph.D. za odbornou pomoc při práci v laboratoři, za čas, který mi věnovala při zpracování a vyhodnocování výsledků a za cenné rady a poznámky z oblasti biologie.

Děkuji vedoucímu této diplomové práce Ing. Michalovi Šerému za vedení a pomoc poskytnutou při zpracování této práce.

Dále děkuji paní Jitce Kadlecové ze společnosti Osiva Boršov spol. s r.o. za poskytnuté vzorky obilí pro účely této práce a za rady z oblasti vyhodnocení klíčení semen.

Poděkování patří také panu Stanislavu Malechovi z Lánů, za poskytnutí pšenice „Standa“.

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu použité literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě Pedagogickou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne

.....

podpis

Obsah

1	ÚVOD	6
2	LITERÁRNÍ REŠERŠE	7
2.1	PLAZMA	7
2.2	OBILOVINY.....	11
2.2.1	<i>Obilné zrnó</i>	12
2.2.2	<i>Pšenice</i>	14
2.2.3	<i>Oves</i>	15
2.3	STIMULACE SEMEN PLAZMATEM	16
3	VYTYČENÍ CÍLE	18
4	METODIKA	19
4.1	POPIS APARATURY.....	19
4.2	POUŽITÉ VZORKY OBIÍ.....	21
4.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	26
4.4	APLIKACE PLAZMATU.....	27
4.5	TESTY KLÍČIVOSTI A POČÁTEČNÍHO RŮSTU SEMENÁČKŮ	29
4.6	ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	34
4.7	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ.....	35
5	VÝSLEDKY	37
5.1	PŠENICE.....	37
5.1.1	<i>Klíčení</i>	37
5.1.2	<i>Přírůstky</i>	38
5.1.3	<i>Povrch</i>	40
5.2	OVES BEZ SLUPEK	44
5.2.1	<i>Klíčení</i>	45
5.2.2	<i>Přírůstky</i>	46
5.3	OVES SE SLUPKOU	48
5.3.1	<i>Klíčení</i>	49
5.3.2	<i>Přírůstky</i>	50
6	ZÁVĚR	53
	SEZNAM OBRÁZKŮ	54
	SEZNAM TABULEK	55
	SEZNAM GRAFŮ	55
	LITERATURA	56
7	PŘÍLOHY	59

1 Úvod

Hlavním cílem této diplomové práce bylo zkoumání vlivu plazmatu na změnu povrchových vlastností semen. Práce se skládala z dílčích úkonů, které v důsledku vytvořily ucelené řešení daného problému.

Praktická část této práce byla prováděna v laboratoři paní RNDr. Boženy Šeré, Ph.D., na Ústavu systémové biologie a ekologie, Na sádkách 7, v Českých Budějovicích. Skládala se z výběru vhodných semen, přípravy semen pro aplikaci plazmatu, volby parametrů plazmatu, aplikace plazmatu, testů klíčivosti semen a počátečního růstu semenáčků. Dále byla prováděna dokumentace změn povrchů semen pomocí elektronové mikroskopie. Pokusy byly prováděny na semenech ovsa setého a pšenice jarní.

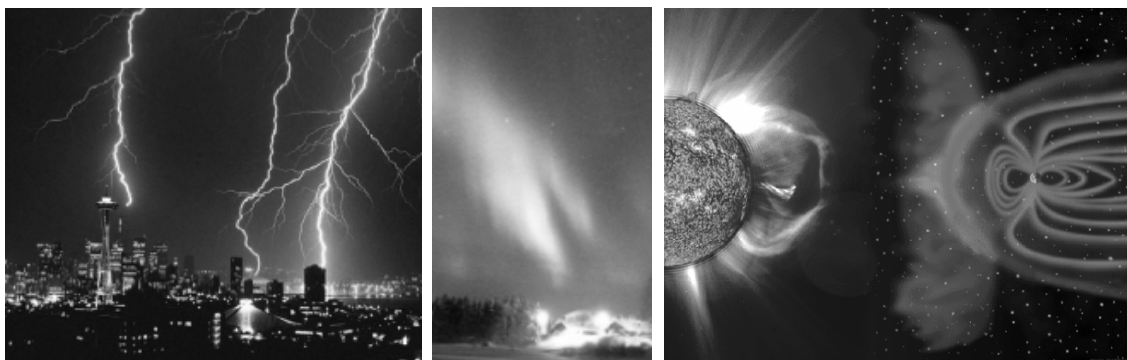
Teoretická část je souhrnným popisem jednotlivých částí i přiblížením práce prováděné v laboratoři. Sběr jednotlivých dat nezbytných pro konečné vyhodnocení a zkompletování této práce představoval mnoho hodin strávených v laboratoři.

2 Literární rešerše

2.1 Plazma

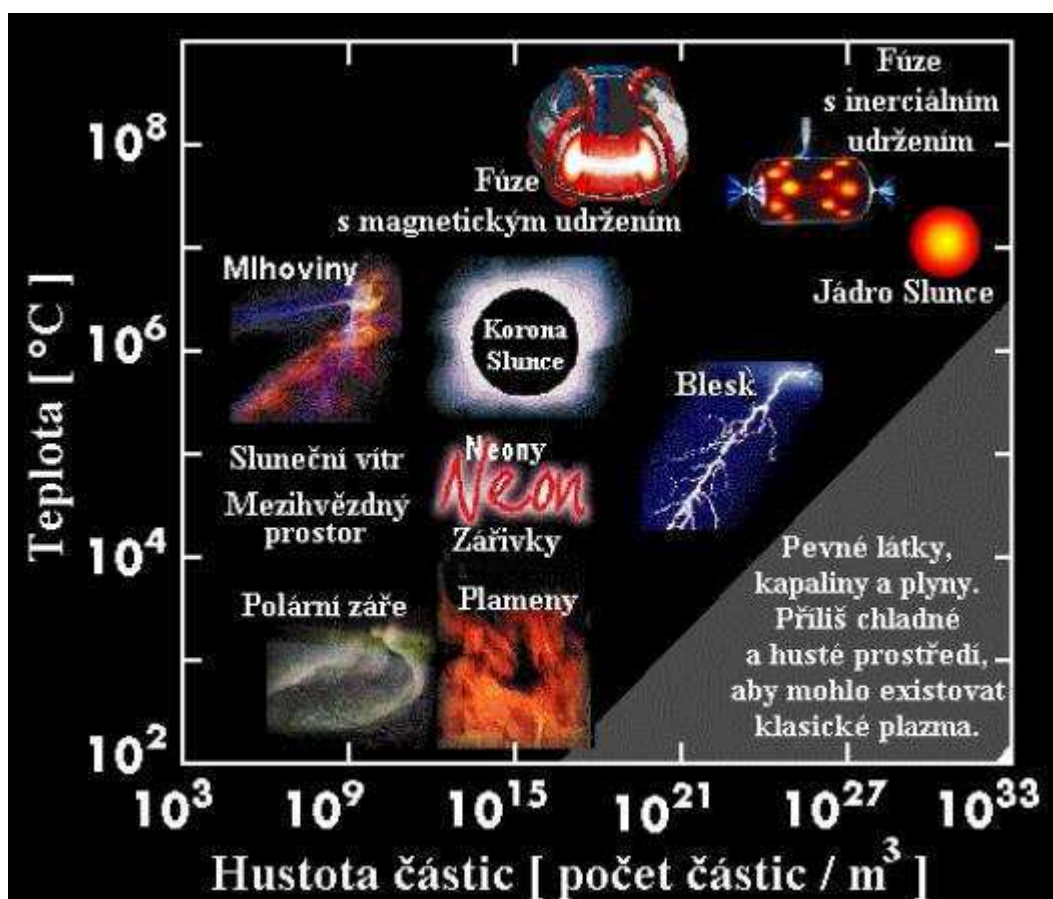
Pojem plazma poprvé zavedl ve třicátých letech devatenáctého století český lékař a fyziolog Jan Evangelista Purkyně. Využil řecké slovo plasma (πλασμα), znamenající tvárná substance, pro průhlednou tekutinu vzniklou z krve po odstranění krvinek a dalších pevných částí. Pojem plazma byl tedy prvotně užíván v lékařství a je mluvnicky ženského rodu. Sir William Crookes se zabýval elektrickými výboji v plynech a v roce 1879 pozoroval neobvyklé chování plynů a tehdy neznámé katodové záření. Tento stav hmoty prohlásil za čtvrté skupenství. Termín plazma ve fyzikálním smyslu zavedli v roce 1928 Američané Irving Langmuir a Levy Tonks, kteří popisovali oscilace oblaku elektronů během výboje, který jim svou podobou připomínal právě krevní plazmu. Domnívali se, že způsob unášení rychlých elektronů a iontů elektrickým polem, je stejný jako způsob, jakým krevní plazma nese červené a bílé krvinky a další pevné částice. Slovo plazma je ve fyzice používáno ve středním mluvnickém rodu. (http://is.muni.cz/th/175437/prif_b/bak1.pdf, 17.4.2009)

Většina literatur uvádí, že 99% hmoty ve vesmíru se nachází v plazmatickém stavu, tedy v podobě elektricky vodivého plynu s atomy disociovanými na kladné a záporné částice. V běžném životě se však člověk setká s plazmatem jen zřídka. Plazma můžeme pozorovat jako blesk, svit polární záře či vodivý plyn v zářivkách a neonových reklamách. Dalo by se tedy říci, že člověk žije svůj život v jednom procentu vesmíru, kde se plazma nevyskytuje přirozeně. (http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009)



Obrázek č. 1 Blesk, polární záře a sluneční svit

zdroj: http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009



Obrázek č. 2 Výskyt plazmatu

zdroj: http://is.muni.cz/th/175437/prif_b/bak1.pdf, 17.4.2009

Plazma je definováno jako ionizovaný plyn složený z iontů, elektronů (a případně neutrálních atomů a molekul), který vzniká odtržením elektronů z elektronového obalu atomů plynu, či roztržením molekul (ionizací). Aby mohl být ionizovaný plyn považován za plazma, musí splňovat následující podmínky, a to vykazovat kolektivního chování a kvazineutralitu. Aby byl ionizovaný plyn plazmou, musí být splněn předpoklad, že všechny jeho tři rozměry jsou podstatně větší než Debyeova délka.

$$\lambda_D \ll L, \quad N_D \gg 1, \quad \omega\tau > 1$$

λ_D – Debyeova délka

N_D – počet částic v Debyeově sféře

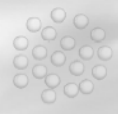
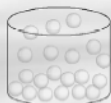


L – charakteristický rozměr plazmatu

ω – frekvence plazmových oscilací

τ – střední doba mezi srážkami s neutrálními atomy

(http://cs.wikipedia.org/wiki/Fyzika_plazmatu,

http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009)

Pevná látka	Kapalina	Plyn	Plazma
Příklad	Příklad	Příklad	Příklad
Led H ₂ O	Voda H ₂ O	Pára H ₂ O	Ionizovaný plyn H ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻
Studený T < 0 °C	Teplá 0 °C < T < 100 °C	Horký T > 100 °C	T > 10 000 °C
			
Molekuly jsou fixovány v mřížce	Molekuly se mohou volně pohybovat	Molekuly se mohou volně pohybovat, větší vzdálenosti	Ionty a elektrony se mohou nezávisle pohybovat, větší vzdálenosti

Obrázek č. 3 Čtyři skupenství hmoty

zdroj: http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009

Důležité pojmy ve fyzice plazmatu:

Kvazineutralita - jedná se o přibližnou rovnost koncentrací kladně nabitých iontů a záporně nabitých elektronů v oblastech plazmatu.

(http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009)

Kolektivní chování jsou pohyby, které nezávisí pouze na podmínkách nejbližšího okolí, ale rovněž na stavu plazmatu ve větších vzdálenostech. Plazma tak ovlivňuje samo sebe. Tyto pohyby lze dobře pozorovat na slunečních erupcích.

(http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=22863, 17.4.2009)

Debyeova délka - λ_D - je definována jako vzdálenost, ve které klesne elektrický potenciál ze své původní hodnoty ϕ_0 na ϕ_0/e .

(http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=22863, 17.4.2009)

Sahova rovnice - lze z ní odhadnout stupeň ionizace plazmatu (poměr ionizovaných částic vůči všem částicím).

$$\frac{n_i}{n_n} \approx 2,4 * 10^{21} \frac{T^{3/2}}{n_i} e^{-U_i/kT}$$

n_i – koncentrace iontů (počet částic v m^3)

n_n – koncentrace neutrálních atomů

T – teplota

U_i – ionizační energie

k – Boltzmannova konstanta

(http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=22863, 17.4.2009)

Rozdělení plazmatu:

podle stupně ionizace:

slabě ionizované plazma – koncentrace nabitých částic je zanedbatelně malá
oproti koncentraci neutrálních molekul

silně ionizované plazma – převládá koncentrace silně nabitých částic

podle teploty:

vysokoteplotní – střední energii nabitých částic je větší než 100 eV, to odpovídá řádově 10^6 K

vyskytuje se ve hvězdách a při experimentech s řízenou termonukleární syntézou

nízkoteplotní – vyskytuje se např. v zářivkách a výbojkách, také v elektrickém oblouku

podle teploty částic:

izotermická plazma – plazma, ve které mají elektrony i ionty stejnou teplotu
představitel: tokamak, v přírodě plazma za vysokého tlaku, plazma el. oblouku

neizotermické plazma – energie je především v elektronech, zatímco molekuly a těžké částice zůstávají v klidu
teplota molekul a iontů zůstává na pokojové teplotě
většina el. výbojů za sníženého tlaku – zářivky

z hlediska rozměru:

bezesrážkové plazma – do 1 Pa, $\lambda_i \gg l$, l = charakteristický rozměr plazmatu

srážkové plazma – od 100 Pa, $\lambda_i \ll l$,

(http://cs.wikipedia.org/wiki/Fyzika_plazmatu,

http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=22863,

http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc, 17.4.2009)

2.2 Obiloviny

Obiloviny jsou významnou plodinou pěstovanou pro výživu lidského společenstva, protože jsou rozhodujícím zdrojem energie a bílkovin. Celosvětový podíl obilovin je odhadován na 60 - 70 % z celkové skladby potravin. Celková světová roční produkce obilovin se pohybuje okolo 2,1 miliard tun.

(<http://cs.wikipedia.org/wiki/Obilniny>, 10.3.2009)

Obiloviny patří do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Podle jejich morfologických a fyziologických vlastností se dělí do pěti podčeledí. Oves i pšenice se řadí společně se žitem, ječmenem a tritikalem (žitovcem) do podčeledi lipnicových (*Pooideae*).

Základní vlastnosti obilovin z této podčeledě jsou:

- obilka s podélnou rýhou na spodní straně
- méně náročné na teplo, více na vodu
- vyskytují se v ozimých i jarních formách
- při klíčení roste více zárodečných kořínků
- stébla jsou dutá, kolénka vyplněná dřevem
- v klásku jsou nejvíce plodné dolní kvítky
- počáteční vývin je rychlejší, vytvářejí odnože již po druhém a třetím listu

(<http://old.mendelu.cz/~upsr/prezentace/obilniny/>, 10.3.2009)

2.2.1 Obilné zrno

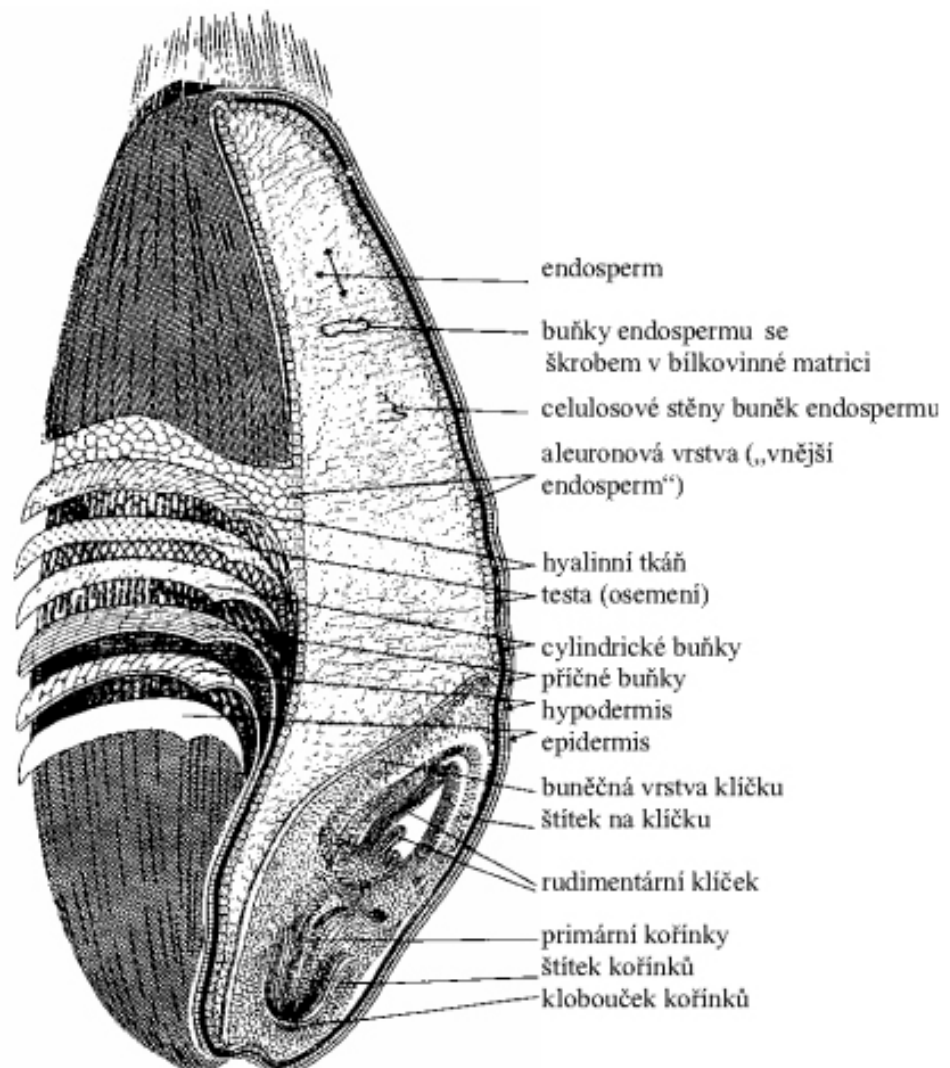
Morfologická skladba zrna všech obilovin je zhruba shodná. Zrna se liší především tvarem a velikostí. Charakteristické pro jednotlivé obiloviny je také to, zda má jejich zrno pluchy nebo zdali je nahé. Tvary zrna jsou různorodé, od zploštělých, protáhlých až po téměř kulatá. Zastoupení a pořadí jednotlivých vrstev ve stavbě obilky je však shodné. Absolutní rozměry zrna se mohou poněkud lišit i pro stejný druh obiloviny v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách každého roku, lokality a kvalitě půdy (Příhoda a kol. 2004).

Obilné zrno je tvořeno:

- oplodí - vnější obal zrna, slouží k ochraně zrna před mechanickým poškozením a krátkodobými účinky vody a škodlivých látek. Je proto tvořeno nerozpustnými a obtížně bobtnajícími materiály, především celulosou.
- osemení - první vlastní vrstva zrna, nese v buňkách barvivo a určuje tak vnější barevný vzhled zrna
- aleuronová vrstva - je na rozhraní mezi osemením a endospermem. Buňky této vrstvy obsahují velký podíl bílkoviny

- endosperm - je tvořen především zásobním škrobem, který slouží mladému klíčku jako výživa při růstu
- klíček - vlastní zárodek (embryo) rostliny, z něhož dělením buněk vznikne nová rostlina

(Příhoda a kol. 2004)



Obrázek č. 4 Podélný řez pšeničným zrnem se znázorněním jeho morfologických vrstev

zdroj: Příhoda a kol. 2004

2.2.2 Pšenice

Tvoří 1/3 světové produkce obilí. Hlavními producenty této plodiny jsou EU, USA, Čína, Indie a Rusko. Rod pšenice (*Triticum*) zahrnuje velké množství druhů. Na pěstitelských plochách však převládá pšenice setá, ke které patří téměř všechny naše odrůdy.



Obrázek č. 5 **Klas pšenice**

zdroj: <http://botanika.wendys.cz/cherbar/heslo.php?557>, 10.3.2009

Při pěstování rozlišujeme směry, na které bude použita:

- pšenice potravinářská s různou pekárenskou jakostí např. k výrobě těstovin, chleba, mouky
- pšenice ke krmným účelům
- pšenice ke speciálním účelům, např. k výrobě škrobu, lihu, biomasy pro spalování

Pšenice setá má ozimou i jarní formu. V ČR se více pěstuje forma ozimá (94 % ploch). Ozimé formy obilnin se dají od jarních rozlišit laboratorně po 14-ti denním předpěstování za vhodných podmínek. Jarní formy předpěstovaných rostlin naznačují generativní vývoj (vzrostný vrchol se diferencuje), kdežto u ozimů se jeví vzrostný vrchol jako přisedlý jednoduchý hrbolek.

Pšenice setá má nelámavý klas, bezosinný i osinatý, různě hustý. Plevy a pluchy vejčité nebo podlouhle vejčité se zřetelným kýlem. Obilky nahé, buclaté na průřezu oblé, s mírně vystouplým klíčkem, na protější straně ochmýřené.

(<http://old.mendelu.cz/~upsr/prezentace/obilniny/>, 10.3.2009)

2.2.3 Oves

Jedná se o nejmladší druh obilovin, je velmi tolerantní a přizpůsobivý k podmínkám, jeho výnosnost je však malá, zato nutriční hodnota je vysoká. Rod oves (*Avena*) zahrnuje okolo 70. druhů. V našich podmínkách se pěstuje převážně jarní forma ovsa setého. Existují varianty pluchaté a nahé.



Obrázek č. 6 Oves

zdroj: <http://botanika.wendys.cz/cherbar/foto.php?q476>, 10.3.2009

Oves má mohutnou kořenovou soustavu s velkou osvojovací schopností, která roste současně s tvorbou odnoží. Listy ovsa jsou v raných fázích růstu tmavě zelené, levotočivé. Na přechodu pochvy v čepel je vysoký jazýček a ouška většinou chybí. Květenstvím ovsa je lata, nesoucí na větvích klásky se třemi až čtyřmi kvítky (nahý 4 až 10 kvítků), z nichž jsou obvykle jen 2 až 3 plodné. U ovsa nahého jsou jen dva plodné. Oves je samosprašný, resp. fakultativně samosprašný, protože za extrémních

podmínek dochází k cizosprášení. Nejdříve kvete lata hlavního stébla a potom lany odnoží. Kvetení probíhá od vrcholu a obvodu směrem dolů k ose lany. V kláscích kvetou nejdříve spodní kvítky. Stejně probíhá i tvorba obilek a jejich dozrávání. Pluchy pevně uzavírají obilku nebo jsou přirostlé k obilce jen na bázi, takže lze snadno získat nahou obilku. Podíl pluch u ovsa činí 20 - 30 % hmotnosti obilky. U nahých, bezpluchých ovsů, je více než 90 % obilek volných. Požadována je však větší výtěžnost nahých obilek (90 - 99 %) a to podle odrůdy.

(<http://old.mendelu.cz/~upsr/prezentace/obilniny/>, 10.3.2009)

2.3 Stimulace semen plazmatem

Stimulace klíčení semen pomocí chemického ošetření je dobře známé a pozorované u mnoha typů semen. Období klidu semen je obvykle ukončeno chemickou modifikací (např. Baskin a Baskin 1998). O fyzikálním nebo chemicko-fyzikálním ošetření semen se stimulačními účinky víme jen velmi málo.

Ošetřování plazmou by mohla být nová a ekologická alternativa úpravy povrchu semen. Plazma je dobře známý nástroj na úpravu povrchů pevných materiálů. V poslední době bylo publikováno mnoho aplikací plazmatu v oblasti biologie a biomedicíny. Většina jich byla zaměřena na ošetření materiálu pro růst buněk (např. Hippler a kol. 2001). Bylo také zaznamenáno nejnovější přímé plazmové ošetření živých buněk nebo tkání (Yildirim a kol. 2008, Kalghatgi a kol. 2007, Fridman a kol. 2007). Několik spisů pojednává o plazmovém ošetřování povrchu semen za účelem vylepšení klíčení. Literatura obsahuje především experimenty popisující efekt vystavení povrchu semen zemědělských (Dubinov a kol. 2000, Volin a kol. 2000, Yin a kol. 2005, Carvalho a kol. 2005), a také několika nekomerčních rostlin (Živkovič a kol. 2004, Dhayal a kol. 2006) působení plazmatu.

Straňák a kol (2006, 2007) a Šerá a kol (2008) provedli experimenty se stimulací nízkotlakým plazmovým ošetřováním na semenech merlíku bílého (*Chenopodium album*). Semena byla vystavena působení plasmy po různě dlouhou dobu (od 6 do 48 minut). Testy klíčení byly prováděny ve specifikovaných laboratorních podmínkách po dobu sedmi dnů v pěti nezávislých, identických experimentech. Neošetřená

(porovnávací) semena měla úspěšnost vyklíčení 15 %. Významný rozdíl mezi porovnávacími a ošetřenými semeny byl očividný. Ošetřená semena vykazovala strukturální změny povrchu. Klíčila rychleji a už první den vyrazily delší výhonky. Semena, která byla vystavena působení plasmy po dobu 12 až 48 minut, měla přibližně třikrát vyšší klíčivost (55 %). 18 minut se ukázalo jako optimální doba plazmové stimulace pro semena merlíku bílého.

Plazma produkuje několik agentů, kteří hrají roli při stimulaci semen (UV záření, radikály a chemické reakce). Při přímé aplikaci plazmy na semeno jsou naleptávání a narušování povrchu pravděpodobně ty nejvýznamnější procesy. Podle dostupných zdrojů však ještě nebyly účinky plazmové modifikace podrobněji zkoumány na mikroskopické úrovni. Tudíž účelem dalších projektů je systematický výzkum vlivu plazmové modifikace na semena, jak plazma mění jejich povrch a jak to ovlivňuje proces klíčení (Ratner 1997).

3 Vytyčení cíle

Na základě vlastních pokusů a měření potvrdit, že plazma modifikuje povrch biologických vzorků a může pozitivně ovlivnit klíčení semen a následný růst semenáčků. Tento hlavní cíl byl rozpracován do dílčích cílů, které na sebe časově a logicky navazovaly.

Dílčí cíle:

- Získat dostatečné množství biologického materiálu vhodného pro pokusy s plazmatem (obiloviny se sníženou klíčivostí).
- Vypracovat metodiku pro testování stimulovaných obilnin plazmatem v laboratorních podmínkách.
- Aplikace plazmatu na vybrané druhy semen.
- Zdokumentovat přítomnost modifikovaného povrchu u semen po použití plazmatu.
- Testy klíčení.
- Sběr a archivace dat.
- Zpracování a vyhodnocení dat.
- Formulace výsledků.

4 Metodika

4.1 Popis aparatury

Modifikace semen plazmatem byla prováděna v plazmochemické aparatuře Plasonic AR-550-M. Jedná se o nízkotlakou, nízkoteplotní, mikrovlnou aparaturu generující plazma pomocí magnetronu a stojaté vlny rezonátoru.

Jako pracovní plyn byla v první fázi pokusů použita směs vzduchu a argonu. V druhé fázi pokusů byl použit jako pracovní plyn vzduch, který je v podstatě směsí kyslíku a dusíku. Použité plyny jsou za normálních podmínek chemicky neaktivní nebo málo aktivní. Vzniklé plazma obsahuje velkou řadu částic, které jsou vysoce reaktivní a mohou proto reagovat s povrchy různých látek.

Aparatura se skládá z těchto základních bloků:

- reaktor
- mikrovlnná část
- vývěva
- plynové hospodářství (míchání plynů, řízení průtoku plynů)
- řídicí jednotka (PC)
- napájecí část (výkonová vysokonapěťová část a nízkonapěťová část)



Obrázek č. 7 Plazmochemická aparatura – pohled na reaktor a magnetron



Obrázek č. 8 Plazmochemická aparatura – pohled na řídicí jednotku

4.2 Použité vzorky obilí

Aby bylo možné pokusy s plazmatem provést, bylo nejdříve nutné nashromáždit dostatečné množství vyhovujících vzorků. Pokud má pokus ukázat vliv zkoumaného fyzikálně-chemického zpracování na změny klíčivosti semen, je vhodné použít semena s nízkou klíčivostí, aby byl případný vliv dostatečně viditelný. Na druhou stranu je vhodné použít semena, na která byl vydán uznávací list, jež dokladuje nejen samotný druh, ale také kategorii obilí, číslo partie, rok sklizně, způsob úpravy i výsledky jednotlivých zkoušek klíčivosti. A může tak případným zájemcům zajistit opakovatelnost pokusů na stejném vzorku. Problémem se v tomto ohledu stává skutečnost, že tento list je vydáván pouze pro obilí s vyšší klíčivostí, která již ale nejsou pro výše uvedené pokusy tak zajímavá. S ohledem na výše uvedené skutečnosti byly pro pokusy vybrány vzorky s velmi nízkou klíčivostí, i když bez uznávacího listu. Z tohoto důvodu nejsou mnohdy o daném použitém vzorku známy všechny potřebné informace.

Vzorky obilí poskytla společnost Osiva Boršov, spol. s r.o. se sídlem v Boršově nad Vltavou. Případný zájemce může získat informace o této společnosti na <http://www.volny.cz/osivaborsov/>.

Seznam použitých vzorků obilí

Tabulka č. 1. :Druhy pšenice jarní

Pšenice jarní						
Vzorek	Odrůda	Množitel	Šlechtitel	Klíčivost [%]	Uznávací list	Moření
A	Corso	Toman	Limagrain Central	98	ano	ne
B	Corso	ZD Mojnë	Limagrain Central	98	ano	ne
C	Granny	ZD Křemže	SELGEN a.s.	99	ano	ne
D	Leguan	Epigon Ledence	SELGEN a.s.	97	ano	ne
E	Zuzana	Planá	SELGEN a.s.	95	ano	ne
F a	Zuzana	ZEAS Agro Rábín	SELGEN a.s.	95	ano	ne
F b	Zuzana	ZEAS Agro Rábín	SELGEN a.s.	95	ano	ano

Tabulka č. 2. Druhy ovsa setého




Oves setý							
Vzorek	Odrůda	Množitel	Šlechtitel	Klíčivost [%]	Klíčivost [%]	Klíčivost [%]	Uznávací list
G	Azur	Agrom Zborov	SELGEN a.s.	34	37		ne
H	Azur	ZD Ločenice	SELGEN a.s.	92	95	94	ano
I	Atego	Kooprodukt Lišov	SELGEN a.s.	93	92		ano
J	Atego	ZOD Sedlec	SELGEN a.s.	43	56	61	ne
K	Atego	ZS Dubné	SELGEN a.s.	85	87	90	ano
L	Atego	Agra Netřetice	SELGEN a.s.	61	66		ne
M	Vok	Toman	SELGEN a.s.	45	52		ne
N	Vok	Agroprod Munice	SELGEN a.s.	84	79		ne
O	Vok	Š. Hoštice	SELGEN a.s.	81	84		ne

Jak je z výše uvedených tabulek patrné, bylo nashromážděno mnoho vzorků, takže nebylo možné provádět pokusy s každým z nich a proto byly pro první etapu pokusů vybrány: pšenice E a F (varianta mořená i nemořená), oves G, J a M.

Prvním krokem bylo určení rámcových parametrů pokusu. Bylo možné pracovat s různými parametry plazmatu, proto byly vyzkoušeny různé kombinace parametrů. Po vyhodnocení těchto úvodních pokusů byl vybrán konkrétní vzorek a jednotlivé parametry pro další pokusy.

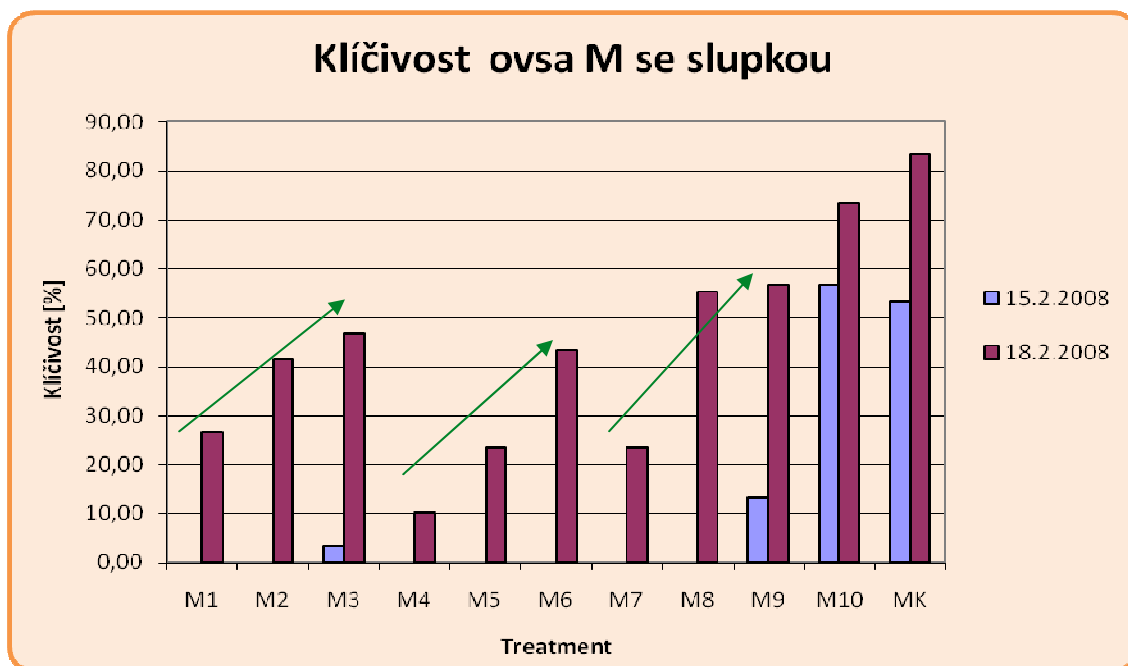
Tabulka č. 3. Parametry působení plazmatu

Číslo pokusu	Čas [s]	Výkon [W]	Vzduch [ml/min]	Argon [ml/min]
1	180	300	50	50
2	300	300	50	50
3	600	300	50	50
4	180	500	50	50
5	180	650	50	50
6	180	800	50	50
7	180	300	100	50
8	180	300	150	50
9	180	300	200	50
10	600	0	0	0
K	0	0	0	0

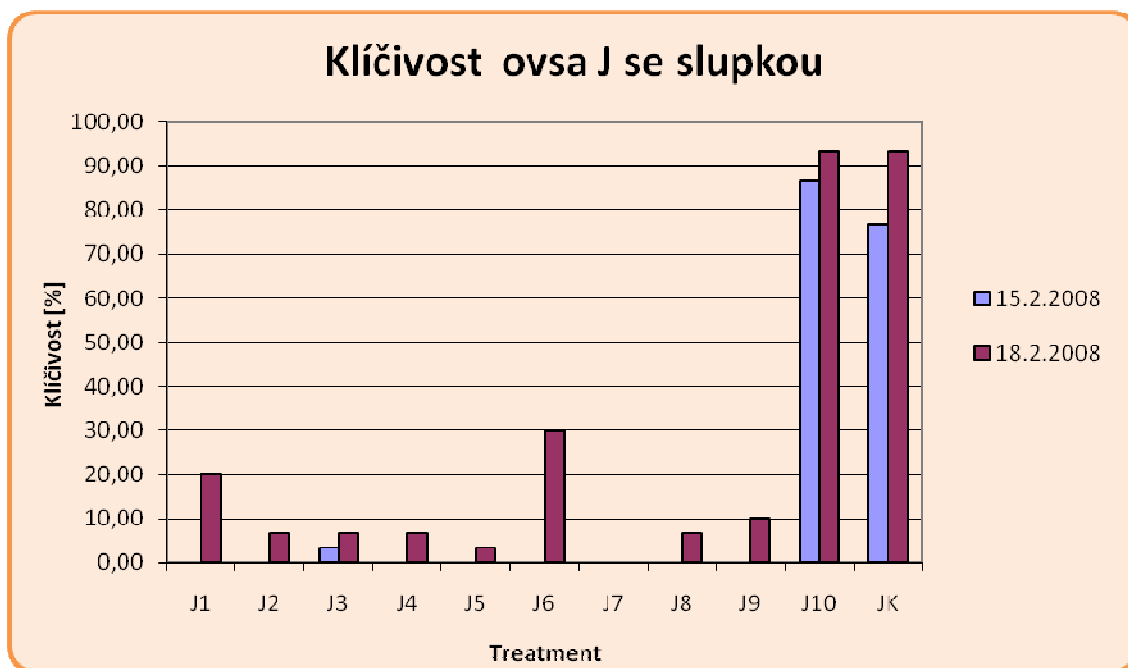
-  proměnný čas
-  proměnný výkon
-  proměnný průtok plynů

Do druhé etapy byl zvolen oves M a to z toho důvodu, že po vyhodnocení pokusů vykazoval nejlepší výsledky. Vyhodnocování se provádělo v různých oblastech klíčení, suma délek kořínků a klíčků, poměr R/S ratio.

V oblasti klíčení jsou důvody výběru viditelné v grafu č. 1. Sloupce *M1*, *M2* a *M3* ukazují vliv délky času působení plazmatu na klíčivost. Čím delší čas tím větší klíčivost. Sloupce *M4*, *M5* a *M6* ukazují vliv výkonu na klíčivost. Opět čím vyšší výkon tím vyšší klíčivost. Sloupce *M7*, *M8* a *M9* ukazují vliv průtoku různých plynů na klíčivost. Sloupec *M10* znázorňuje působení vakua po dobu 600 s a sloupec *MK* znázorňuje vzorek, na který nebylo plazma aplikováno a slouží tedy jako vzorek kontrolní. Je zde tendence zvyšování klíčivosti při zvyšování hodnot jednotlivých faktorů. Ostatní druhy ovsa vykazovaly chování naprosto odlišné. Pro možnost srovnání uvádím grafický výstup pro oves J (graf č. 2). Rozdíly mohou být způsobeny například odlišným šlechtěním dané odrůdy, její odolností vůči různým vlivům apod.

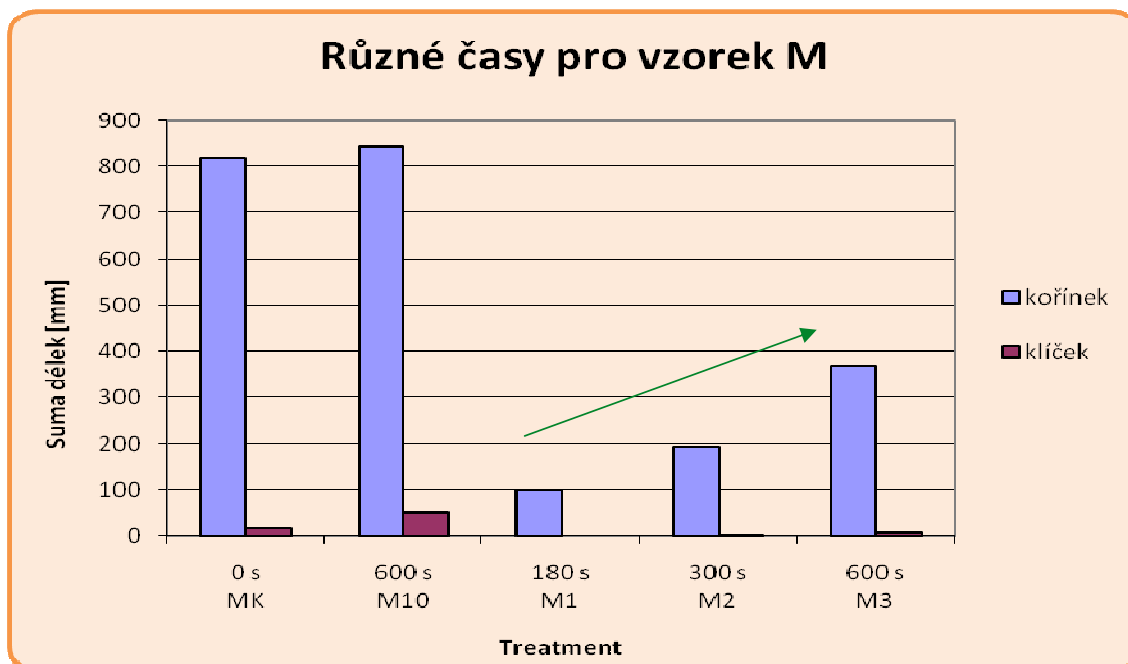


Graf č. 1. Klíčivost ovsa M se slupkou

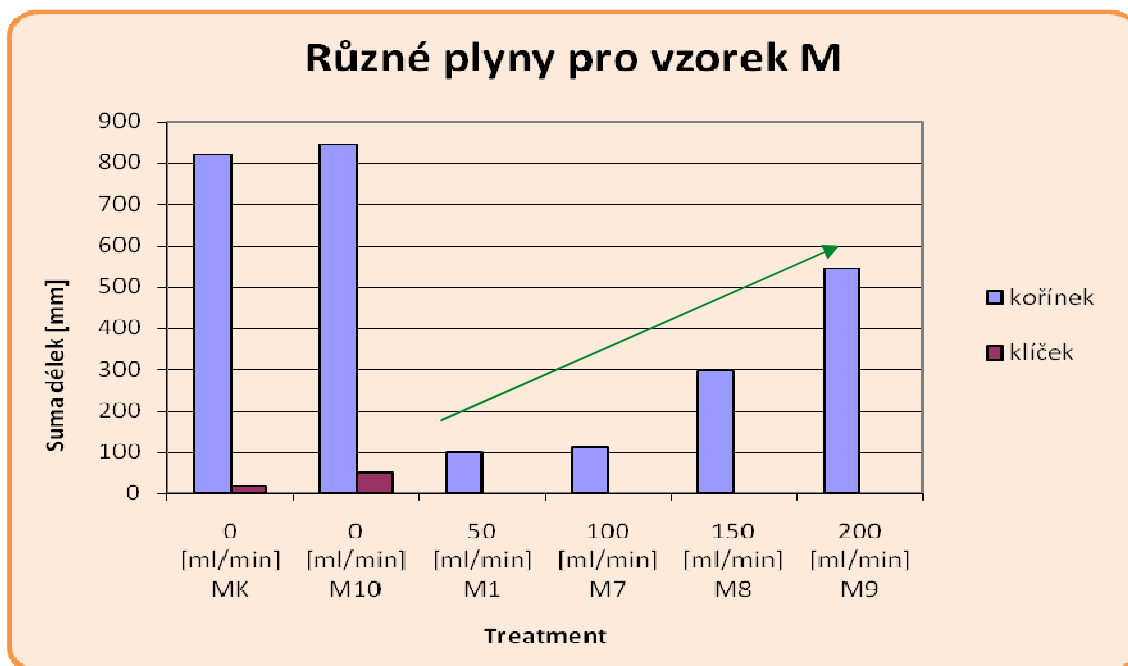


Graf č. 2. Klíčivost ovsa J se slupkou

V oblasti vlivu jednotlivých parametrů na sumu délek kořínek a klíčků se oves M choval velmi podobně, jako u klíčivosti. Jako argumentace výběru jsou opět přiloženy ukázky grafů při různých časech působení plazmatu (graf č. 3) a různých průtocích plynů (graf č. 4).



Graf č. 3. Různé časy pro vzorek M



Graf č. 4. Různé plyny pro vzorek M

Z pšenice se do výběru nedostala žádná z výše uvedených. A to hlavně z důvodu vysoké klíčivosti v nemodifikovaném stavu. Jejich klíčivost se pohybovala v rozmezí 90 až 100 % a pro případný vliv plazmatu byl tedy ponechán velmi malý prostor. Přednost byla dána zcela neznámé odrůdě pšenice, která dostala pracovní název „Standa“. O této odrůdě bylo známo jen přibližné stáří a to 15 let k počátku provádění pokusů (leden 2008). Námi zjištěná klíčivost byla 70 %.



Obrázek č. 9 Pšenice „Standa“

4.3 Příprava vzorků

Příprava vzorků semen byla prováděna ručně. Pro pokus byla vybrána vitální nepoškozená semena (vizuální třídění). Pro každý čas působení plazmatu bylo napočítáno minimálně 150 semen. Semena ovsa byla testována ve dvou variantách: bez slupek a se slupkami.



Obrázek č. 10 Počítání obilek



Obrázek č. 11 Vzorky připravené pro pokus

4.4 Aplikace plazmatu

Plazma bylo aplikováno ve výše popsané aparatuře. Semena byla do aparatury umístěna ve skleněných Petriho miskách. Na miskách ležela v jedné vrstvě tak, aby se vzájemně nepřekrývala a aby plazma působilo na všechna stejně. Dvě etapy aplikace plazmatu byly již nastíněny v kapitole „Použité vzorky obilí“, kde bylo uvedeno, jak se provedl výběr vhodných vzorků a byla zde uvedena tabulka aplikace plazmatu v první fázi pokusů (tabulka č. 3).

Ve druhé fázi pokusů se aplikovalo plazma pouze v různých časových intervalech při konstantním výkonu a průtoku vzduchu.

Tabulka č. 4. Aplikace plazmatu – druhá fáze pokusů

Označení pokusu	Čas [s]	Výkon [W]	Vzduch [ml/min]
a	180	500	200
b	300	500	200
c	600	500	200
d	1200	500	200
e	2400	500	200
V	600	0	0
K	0	0	0

Písmena *a* až *e* označují pokusy, kde dochází k modifikaci povrchu pomocí plazmatu. *V* je kontrolní vzorek pro zjištění vlivu vakua a *K* je kontrolní vzorek, který nebyl nijak modifikován.



Obrázek č. 12 **Vzorky připravené k aplikaci plazmatu**

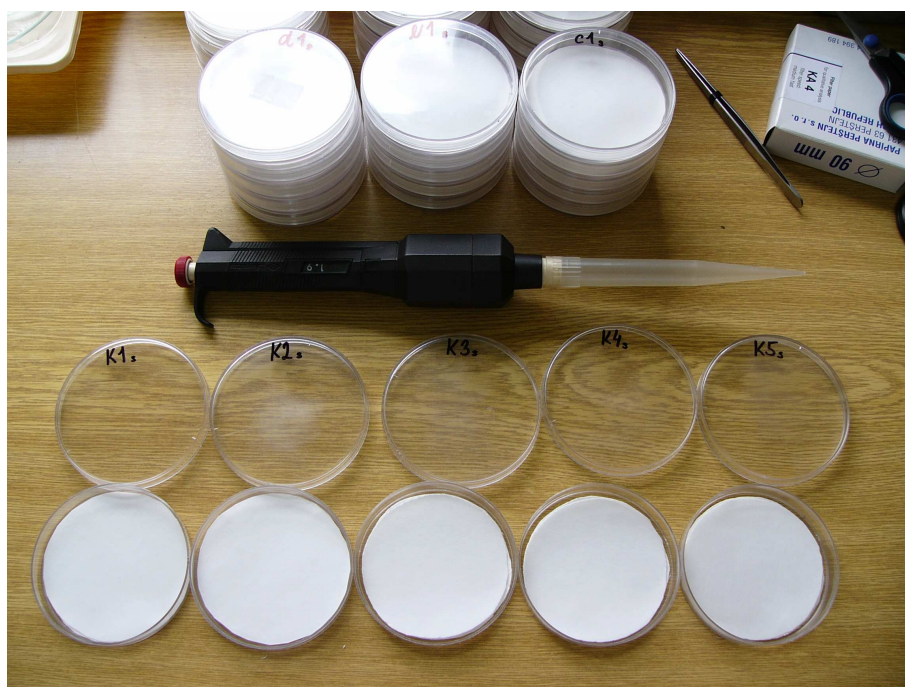


Obrázek č. 13 **Vzorky umístěné v reaktoru aparatury**

4.5 Testy klíčivosti a počátečního růstu semenáčků

Testováno bylo pět treatmentů a dvě kontroly (bez plazmatu, vliv vakua). Byly použity plastové Petriho misky o průměru 9 cm s vloženými třemi filtračními papíry (KA4). Do každé misky bylo nanášeno 5 ml destilované vody a vloženo 30 testovaných semen.

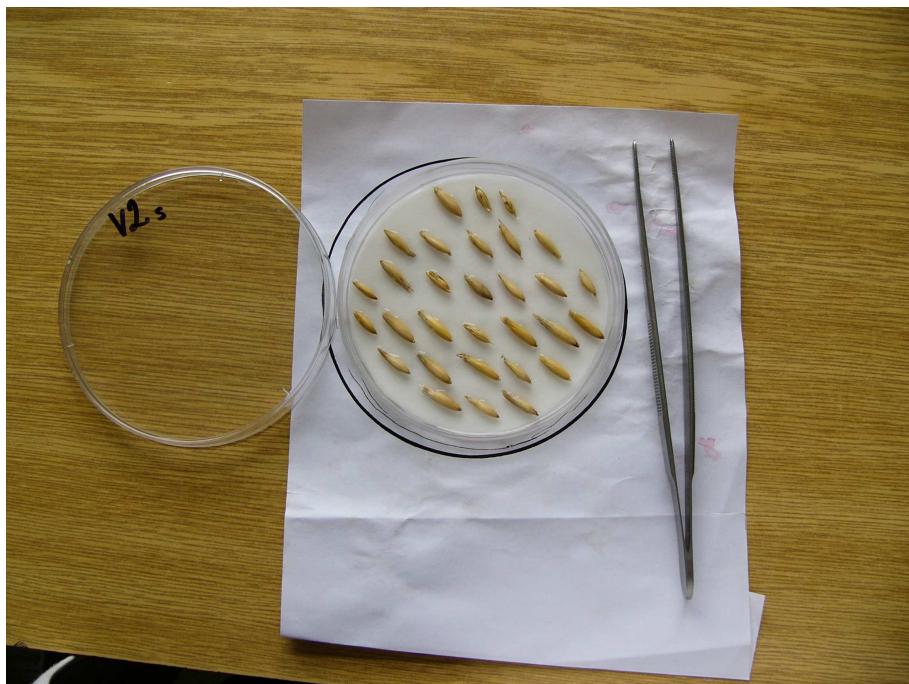
Vlastní testy klíčivosti byly prováděny v laboratorních podmínkách za použití standardizovaných zemědělských harmonogramů teplotních fází a odečtů.



Obrázek č. 14 Petriho misky připravené k umístění semen



Obrázek č. 15 Skládání semen na Petriho misku



Obrázek č. 16 Příprava semen na klíčení



Obrázek č. 17 Vzorky připravené pro pokus

Odečet klíčivosti se prováděl v přesném časovém harmonogramu, který jsme převzali od pracovníků laboratoře společnosti Osiva Boršov spol. s r.o. Harmonogram se pro pšenici a oves liší.

Pšenice	1. - 4. den	chladná fáze	Oves	1. - 3. den	chladná fáze
	8. den	1. vybírání		8. den	1. vybírání
	12. den	2. vybírání		13. den	2. vybírání

Vzorky připravené v Petriho miskách byly umístěny do chladu do lednice a byly ponechány klíčit – takzvaná chladná fáze. Po ukončení této fáze byla spočítána vyklíčená semena. Pro uznání „klíčícího semene“ byla požadována minimální délka klíčku 1 mm. Měření délek klíčků a kořínků nebylo v tomto kroku prováděno. Dle potřeby byla přidána vzorkům voda a vzorky byly následně umístěny do termostatu, kde byly udržovány ve tmě a při teplotě 22 °C.

Při prvním vybírání byl proveden odečet počtu klíčících a neklíčících semen. Dále bylo provedeno pro každou obilku měření délky klíčku a kořínku. Toto měření vyžadovalo velmi opatrné zacházení, aby nedošlo k poškození vzorků, neboť by se tak

mohl narušit další růst semenáčků. Měření se muselo provádět přímo v Petriho misce. Délka klíčku a kořínku byla měřena pomocí rozvřené pinzety. Pinzeta byla přenesena k měřítku a odečtená hodnota byla zapsána.

U druhého vybírání byl již kořenový systém jednotlivých semen velmi rozvinutý, a proto samotnému měření předcházelo velmi opatrné rozplétání jednotlivých kořenových svazků. Následně mohlo dojít ke změření délek klíčku a kořínku. Klíček a kořínky byly po změření odstříženy od obilky. Poté byly zvlášť umístěny do papírových sáčků, ve kterých byly usušeny. Sušení probíhalo při pokojové teplotě. Každý suchý přírůstek byl zvážen na analytických vahách. Tyto hodnoty byly zaznamenány.



Obrázek č. 18 Ukázka stadia klíčení při druhém vybírání



Obrázek č. 19 Rozplétání kořenového systému



Obrázek č. 20 Detail na klíčící obilku

4.6 Elektronová mikroskopie

Součástí práce bylo sledování povrchových změn semen a to s pomocí nástrojů elektronové mikroskopie. Fotografie byly pořízeny na skenovacím elektronovém mikroskopu JEOL JSM-7401F v laboratoři elektronové mikroskopie na Parazitologickém ústavu AV ČR v Českých Budějovicích. Fotografie byly získány za asistence Bc. Marty Tesařové, obsluhy elektronového mikroskopu.

Skenovací elektronový mikroskop nebo také mikroskop SEM z anglického scanning electron microscope slouží ke zkoumání povrchů nejrůznějších objektů pomocí pohyblivého svazku elektronů. Na vzorek dopadá tenký svazek elektronů, který postupuje přes anodu a katodu a dopadá postupně na všechna místa vzorku. Odražený neboli emitovaný paprsek se převádí na viditelný obraz.

V mikroskopu nelze provádět pozorování vzorků bez jakékoliv úpravy. U semen a plodů je nutné odstranění vody z preparátu. Nelze však odstranit vodu přírodní cestou – postupným vysycháním, neboť hrozí zborcení vzorku. K odstranění vody se tedy používá fyzikální nebo chemická cesta. Vysušené biologické objekty jsou téměř elektricky a tepelně nevodivé, proto by v mikroskopu docházelo k velkému nabíjení vzorku a jakákoliv obrazová dokumentace by byla téměř nemožná. Z tohoto důvodu musí dojít k pokovení povrchu vzorku tenkou vrstvou kovu, jejíž síla se pohybuje okolo 10 - 20 nm a má za úkol odvést negativní náboj. Na pokovení se nejčastěji používá zlato, platina nebo slitina platiny a paládia. Vzorky, které se nalepí na duralový terčík pomocí uhlíkové oboustranné pásky, jsou v našem případě pozlaceny ve zlatičce. Poté jsou vzorky připraveny k prohlížení v mikroskopu.

Tento mikroskop umožňuje i prohlížení vzorků v takzvaném kryo režimu. Vzorek nemusí projít úpravami jako je vysušení a pozlacení, ale je prohlížen ve zmrazeném stavu. Rychlost zmrazení však musí být velmi vysoká, aby nedošlo ke tvorbě krystalů na povrchu preparátu. Rychlost přípravy vzorku je zde tedy velikou předností. S použitím této metody dojde k zachování povrchové struktury. V rámci prohlížení existuje i možnost nahlédnout do struktury vnitřních tkání za pomoci mrazového lámání.

V plánu práce bylo získání fotografií povrchu semen i za pomoci tohoto režimu, ale v konečném důsledku k němu bohužel nedošlo. V čase vyhrazeném pro elektronovou mikroskopii bylo focení v tomto režimu mimo provoz.

Základní parametry mikroskopu:

- urychlovací napětí: 0,1 – 30 kV
- katoda: Autoemise
(W - monokrystal)
- rozlišovací schopnost: 1nm
- tvorba obrazu: 1280x1024x8bit
(průměrováním 10 bit)
- vakuum: 10^{-7} Pa



Obrázek č. 21 Skenovací elektronový mikroskop JEOL JSM-7401F

Pozorovali jsme povrchy pšenice. Pro možnost srovnání byla prohlížena semena bez působení plazmatu, semena s vlivem vakua a semena, která byla vystavena působení plazmatu po dobu 600 s, výkonu 500 W, průtoku vzduchu 200 ml/min.

Byly pořízeny fotografie povrchů při zvětšení 10 000x, 20 000x, 30 000x, 50 000x a 90 000x. Vypovídací hodnota fotografií v rozlišení 90 000x už je velmi malá neboť se již nacházíme na krajních možnostech elektronového mikroskopu. Největší vypovídací hodnotu mají fotografie s rozlišením 30 a 50 000x.

4.7 Statistické zpracování

Počty klíčících semen byly přepočteny na procenta a z důvodů „normalizace dat“ byla použita arcsin transformace. Za stejným účelem byla u morfometrických dat (délky a hmotnosti kořínků a hypokotylů) použita logaritmická transformace. Pro výpočty morfometrických charakteristik byla data zprůměrována (průměr na jednu Petriho misku) a pak bylo počítáno jen s těmito průměry.

Získaná data byla analyzována ve statistickém programu STATISTICA (Statistica 1999). Statistické testování bylo provedeno na dvou úrovních. Samostatně se pomocí Studentova rozložení (t-test) hodnotila kontrolní měření (bez modifikace, s aplikací vakua). Cílem bylo zjistit, zda se použité kontroly mezi sebou liší. Pro souhrnné hodnocení výsledků byla použita jednofaktorová ANOVA a pro mnohonásobné porovnání Tukey HSD test. Vysvětlujícími proměnnými byly časové treatmenty a obě kontroly. Vysvětlované proměnné byly poměry klíčících semen, délky a hmotnosti kořínků, délky a hmotnosti klíčků.

5 Výsledky

Vliv plazmatu na růst semen se sledoval u všech použitých vzorků a to v následujících třech charakteristikách:

1. klíčení (počet klíčících semen)
2. délky klíčku a kořínků (měřeno na čerstvém materiálu)
3. hmotnosti klíčku a kořínků (měřeno ze sušiny).

Data byla statisticky vyhodnocena a zpracována do tabulek a grafů.

5.1 Pšenice

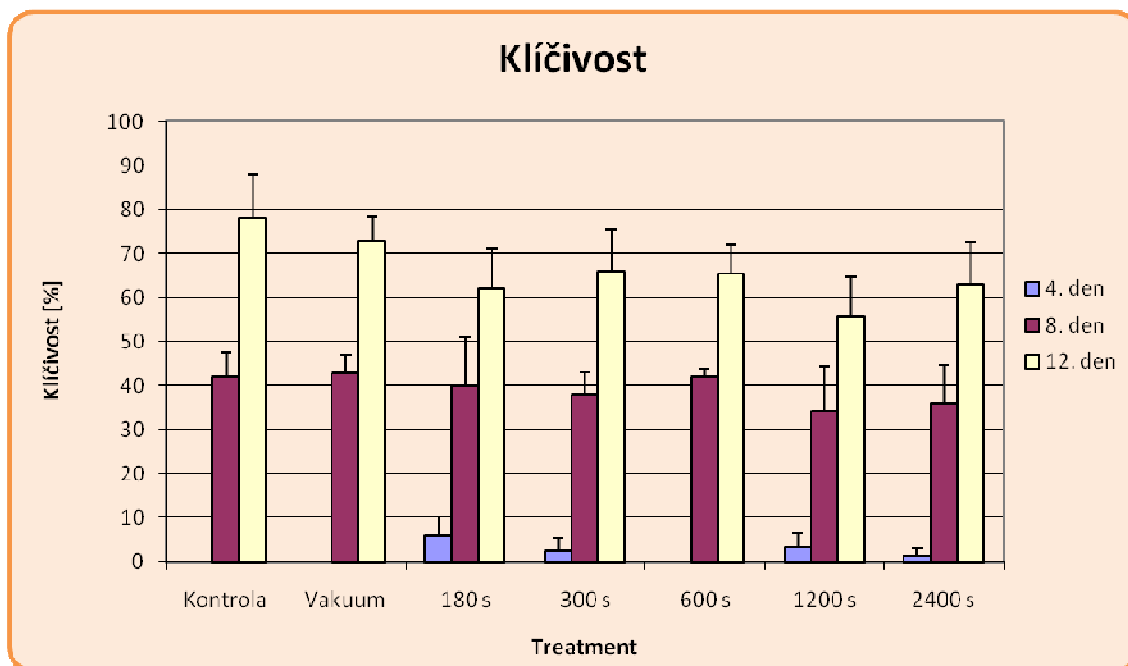
U pšenice „Standa“ byla kromě vyhodnocení klíčení, délek a hmotností přírůstků, provedena také elektronová mikroskopie modifikovaného povrchu a kontrolního vzorku. Grafické výstupy z elektronového mikroskopu i fotografie pořízené při práci v laboratoři jsou tedy nezbytnou součástí prezentace výsledků.

5.1.1 Klíčení

Tabulka č. 5. Klíčivost - pšenice

Treatment	4. den	8. den	12. den
	[%]	[%]	[%]
Kontrola	0.0±0.0b	42.0±5.6a	77.8±10.3a
Vakuum	0.0±0.0b	42.7±4.3a	72.6±5.7ab
180 s	6.0±4.3a	40.0±11.1a	61.8±9.5ab
300 s	2.7±2.8ab	38.0±5.1a	65.8±9.7ab
600 s	0.0±0.0b	42.0±1.8a	65.3±6.6ab
1200 s	3.3±3.3ab	34.0±10.4a	55.6±9.0b
2400 s	1.3±1.8ab	36.0±8.6a	63.1±9.6ab

Statistické vyhodnocení výsledků klíčivosti prokázalo, že čtvrtý den se lišil počet klíčících semen modifikovaných po dobu 180 s od kontroly, vakua a od semen na, která plazma působilo po dobu 600 s. Osmý den nebyly zaznamenány žádné odlišnosti. Dvanáctý den se signifikantně lišila kontrola od semen modifikovaných po dobu 1200 s. Procentuální hodnoty klíčivosti jsou patrné v příložené tabulce a grafu (tabulka č. 5 a graf č. 5).



Graf č. 5. Klíčivost – pšenice

5.1.2 Přírůstky

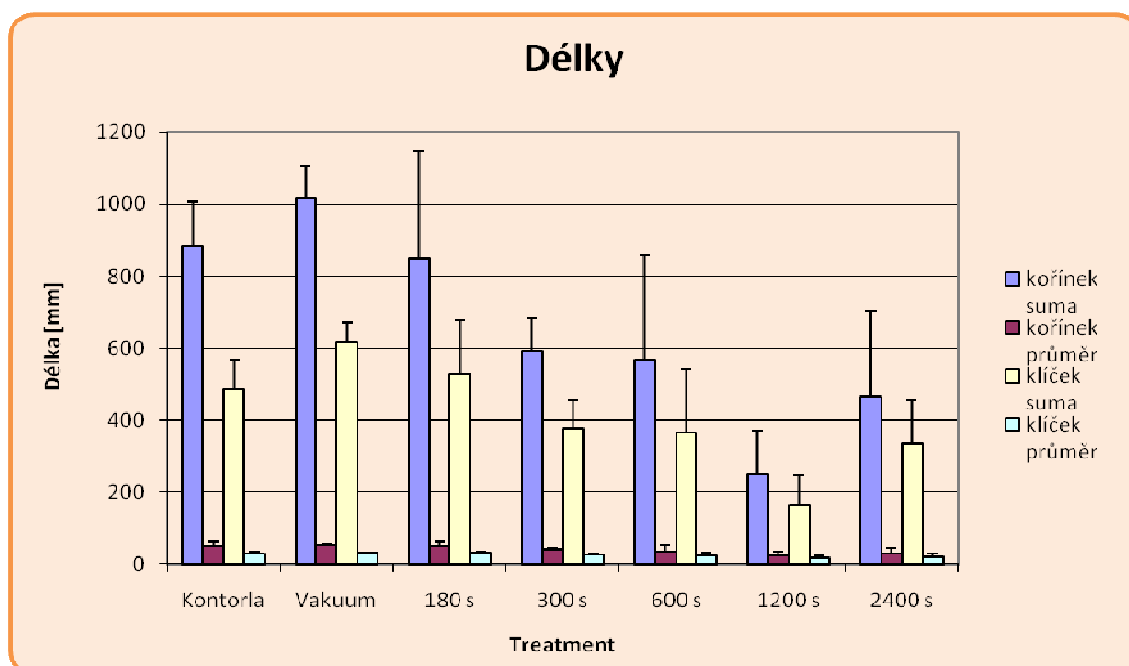
Při vyhodnocování přírůstků mají zcela jistě vyšší vypovídací hodnotu přírůstky váhové a to z důvodu, že při měření délek kořínků byla změřena jen nejdelší část rozvětvené kořenové soustavy. Pravděpodobně lepším postupem mohlo být změření délek všech částí kořínku a za výsledek považovat jejich součet. Tento postup je však v reálné praxi z důvodu časové i manuální náročnosti neproveditelný.

Tabulka č. 6. Délkové přírůstky - pšenice

Treatment	Kořínek		Klíček	
	délky suma	délky průměr	délky suma	délky průměr
	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]
Kontrola	881±125b	52±11a	486±81b	29±7a
Vakuum	1015±93b	53±3a	617±54b	33±1a
180 s	849±297b	52±10a	528±149b	33±3a
300 s	593±89ab	42±3a	378±78ab	27±4a
600 s	568±292ab	37±17a	365±176ab	24±10a
1200 s	252±120a	25±12a	167±81a	17±8a
2400 s	467±238ab	31±15a	336±119ab	22±7a

Délkové přírůstků pro kořínek i klíček jsou uváděny v milimetrech. Suma délek je uváděna pro 30 semen na misce. Průměr délek je matematický průměr připadající na jednu obilku v misce. Vyhodnocení sumy délek pro kořínek ukazuje odlišnost semen

modifikovaných po dobu 1200 s od kontroly, vakua a semen, na které plazma působilo 180 s. U průměrů délek žádné odlišnosti nebyly shledány. Délkové údaje pro klíček nesou naprosto stejné rysy jako u kořínku. Naměřené hodnoty dokladuje přiložená tabulka a graf (tabulka č. 6 a graf č. 6).



Graf č. 6. Délkové přírůstky – pšenice

Výsledky váhových přírůstků jsou výsledkem vážení suchých částí na analytických vahách s přesností na tisíce miligramů.

Tabulka č. 7. Váhové přírůstky – pšenice

Treatment	Koříněk		Klíček		R/S
	hmotnost suma	hmotnost průměr	hmotnost suma	hmotnost průměr	
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	
Kontrola	54.6±4.8a	2.8±0.1a	85.7±2.6a	3.9±0.4ab	0.57±0.07ab
VaKuum	47.9±5.0a	3.5±0.3a	74.3±1.1a	4.3±0.2ab	0.56±0.16ab
180 s	37.5±18.5a	3.8±0.5a	61.0±29.1a	5.4±0.5a	0.56±0.02ab
300 s	45.8±7.3a	3.5±0.6a	63.1±6.0a	4.4±0.6ab	0.72±0.08a
600 s	26.0±3.6a	2.9±0.1a	50.0±3.7a	3.9±0.1b	0.36±0.02b
1200 s	25.8±4.1a	2.5±0.1a	45.7±10.6a	3.6±0.2b	0.53±0.07ab
2400 s	23.3±14.8a	2.6±0.7a	47.0±20.1a	3.7±0.1b	0.34±0.08b

V datech pro kořínek, ať už sumu nebo průměr nebyly na statisticky průkazné hladině shledány žádné odlišnosti. Stejně tak pro sumu hmotností klíčku. Signifikantní rozdíly byly zjištěny u průměrů hmotností klíčků a to konkrétně mezi působením plazmatu po dobu 600 s, 1200 s a 2400 s a semeny modifikovanými 180 s.

R/S (root/shoot ratio) vyjadřuje poměr kořenové biomasy k nadzemní a byl vypočítán dle vzorce:

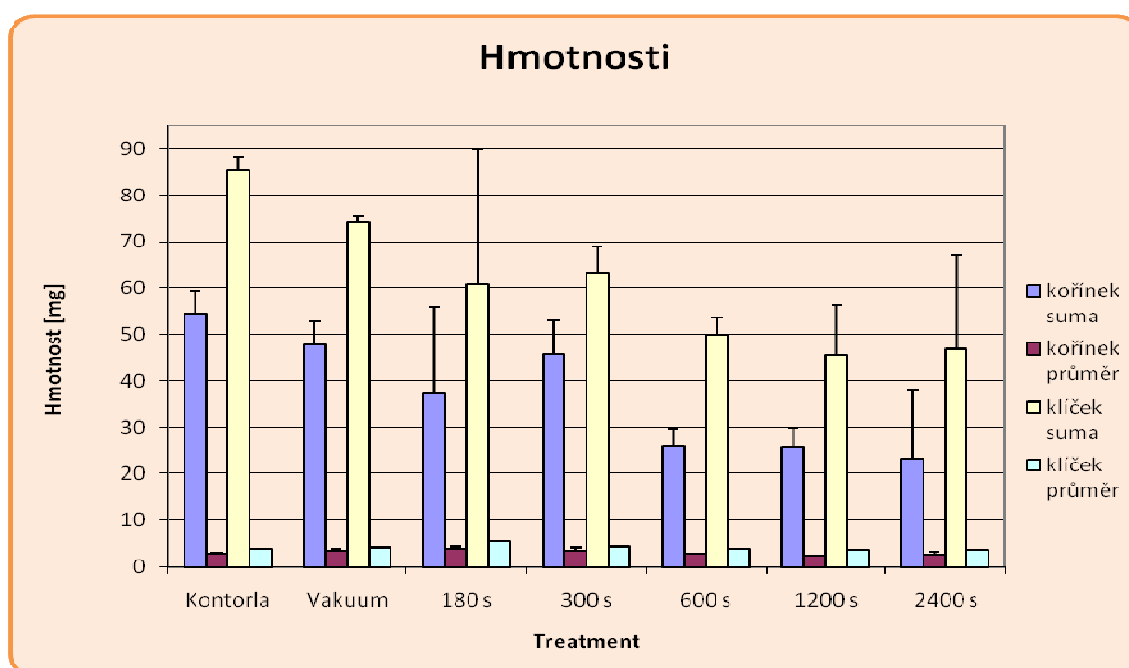
$$R/S = \frac{m_k}{m_n}$$

m_k je hmotnost suché kořenové biomasy (kořínek)

m_n hmotnost suché nadzemní biomasy (klíček)

(<http://botanika.prf.jcu.cz/thesis/pdf/KosnarH2003.pdf>, 20.4.2009)

V této oblasti se vyskytly rozdíly mezi vzorkem modifikovaným 300 s a 600 s.



Graf č. 7. Váhové přírůstky – pšenice

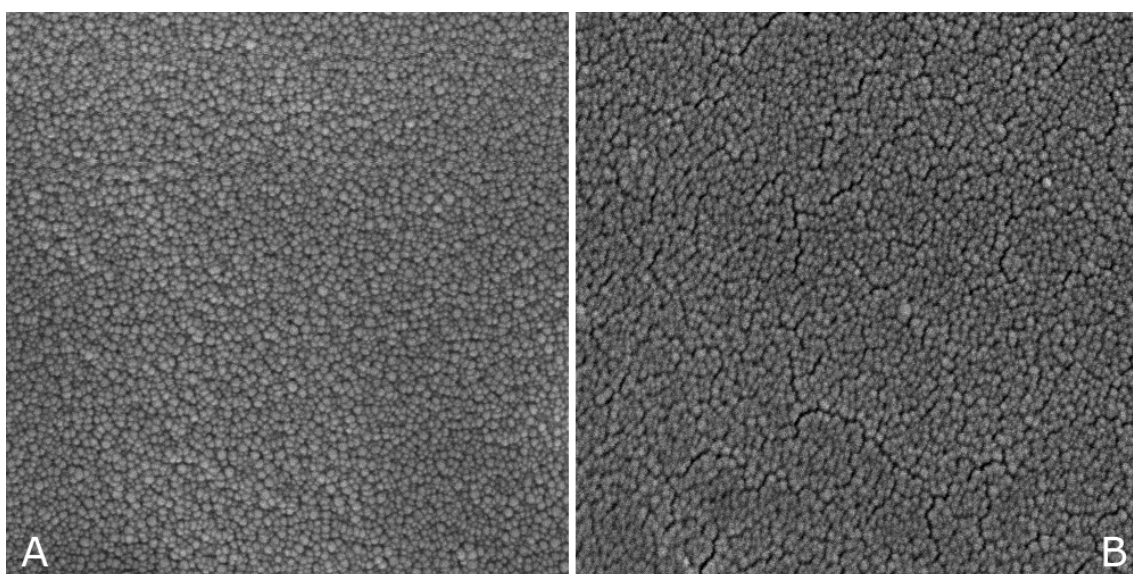
5.1.3 Povrch

Na fotografiích z elektronového mikroskopu jsou na modifikovaných površích semen jasně viditelné praskliny, které se na povrchu nemodifikovaných semen nevyskytují. Je zde tedy potvrzena hypotéza, že plazma narušuje povrch semen.

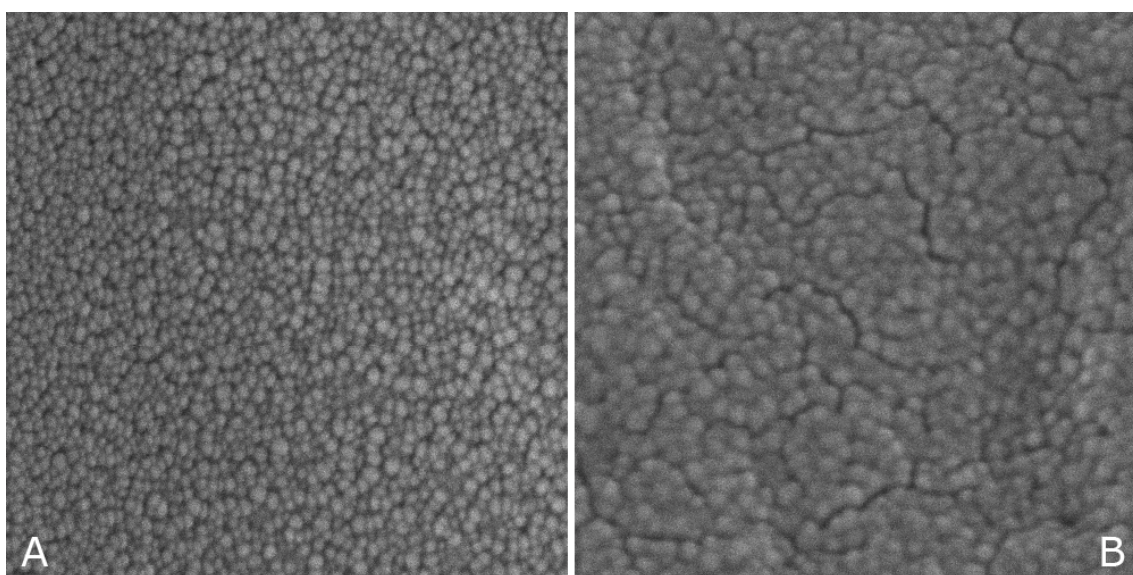
Praskliny pravděpodobně umožňují lepší prostupnost vody a semena pak mohou lépe klíčit.

Legenda k následujícím obrázkům:

- A – povrch bez působení plazmatu (kontrola)
- B – povrch modifikovaný plazmatem
- C1 – povrch vystavený působení vlivu vakua
- C2 – povrch vystavený působení vlivu vakua v jiném místě než C1

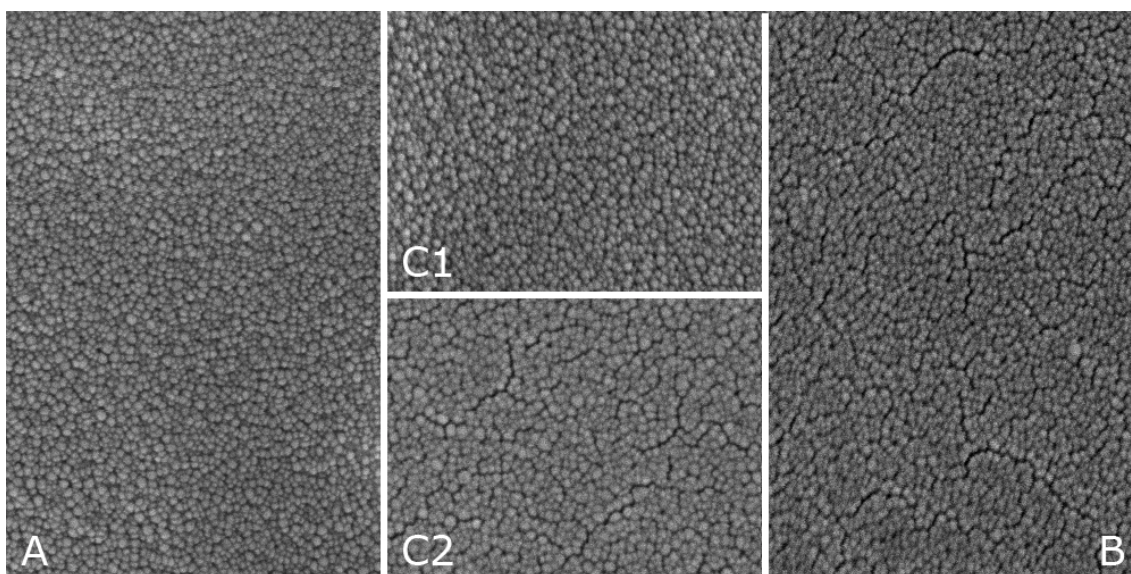


Obrázek č. 22 Porovnání povrchů (kontrola, plazma) při zvětšení 30 000x

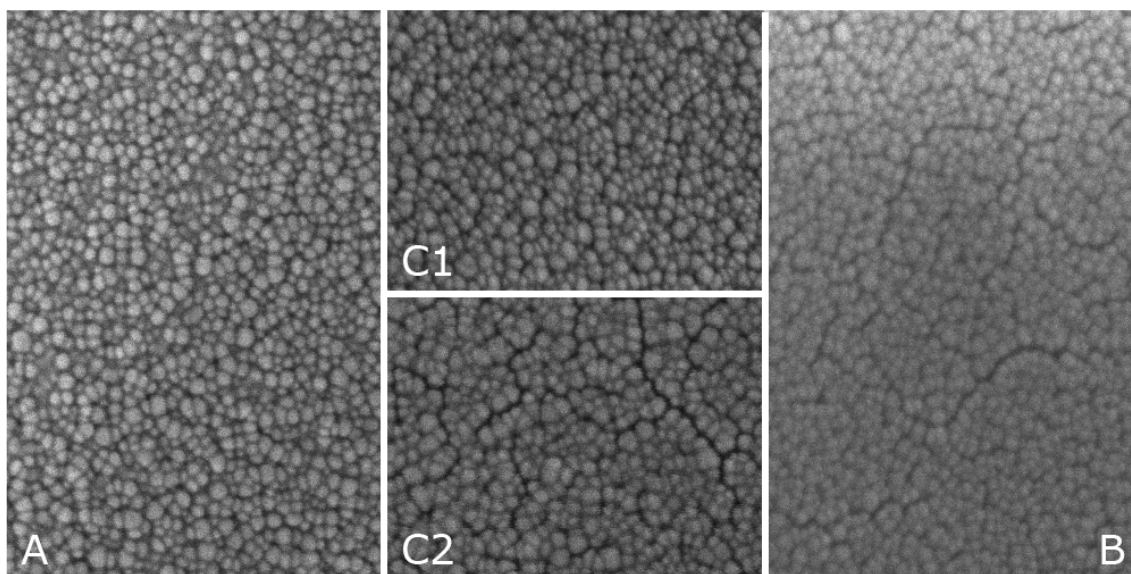


Obrázek č. 23 Porovnání povrchů (kontrola, plazma) při zvětšení 50 000x

Zajímavá je reakce semen vystavených pouze vlivu vakua. Jejich povrch v určitých místech vypadá stejně jako povrch kontrolního vzorku – žádné praskliny nejsou viditelné. Podíváme-li se však na jinou část semena nalezneme zde praskliny podobné jako na modifikovaném povrchu. Záměrně je zde použito slovo podobné, neboť při detailnějším prohlédnutí fotografií je možné zjistit, že praskliny nejsou tak výrazné a nejsou po povrchu tak rozšířené jako praskliny na modifikovaném povrchu. Zdůvodněním tohoto jevu je tvrzení, že vakuum má vliv na porušení povrchu semen.

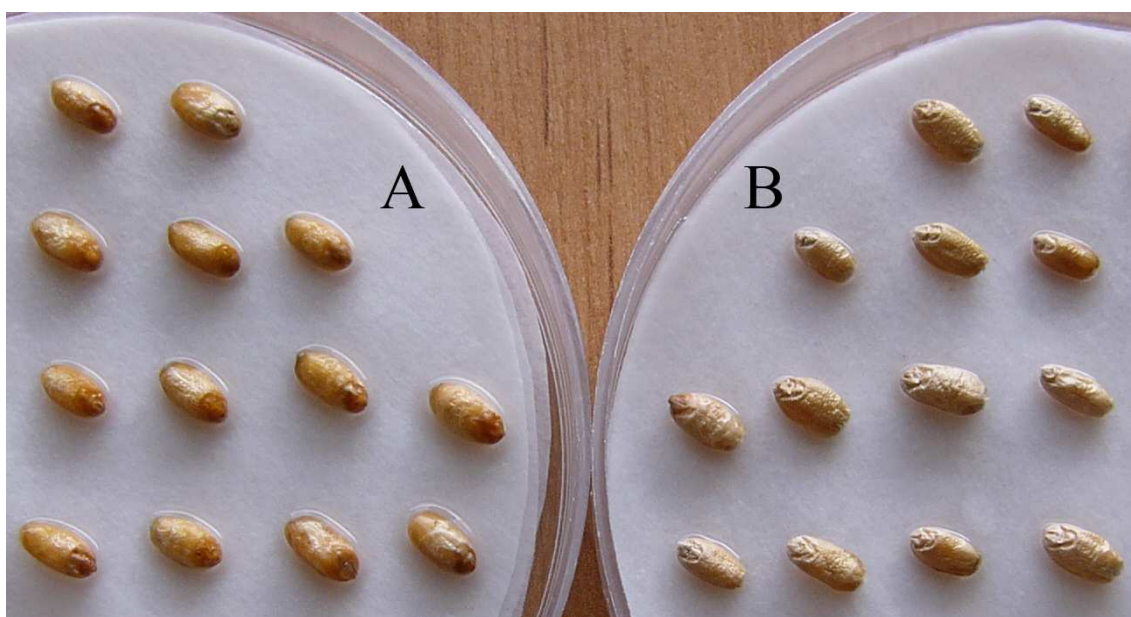


Obrázek č. 24 Porovnání povrchů (kontrola, vakuum, plazma) při zvětšení 30 000x



Obrázek č. 25 Porovnání povrchů (kontrola, vakuum, plazma) při zvětšení 50 000x

Dalším poznatkem v sledování modifikace povrchů, který je možné prezentovat na grafické úrovni, je jev, který nastal přibližně hodinu poté, co byla zrna pšenice uložena do Petriho misek na vlhké filtrační papíry a byla dána k naklíčení. Povrch zrn, která nebyla modifikována, byl světlý a scvrklý, zatímco povrch modifikovaných zrn získal za toto krátké časové období tmavší barvu a viditelně se vyhladil. Modifikovaná semena byla tedy schopna rychleji přijmout vodu, nabobtnat. Toto zjištění opět potvrzuje naši hypotézu, že po aplikaci plazmatu mají semena pozměněnou strukturu povrchu.



Obrázek č. 26 **Porovnání modifikovaného (A) a kontrolního (B) povrchu**



Obrázek č. 27 Porovnání modifikovaného (A) a kontrolního (B) povrchu v detailu

5.2 Oves bez slupky

Jak již bylo zmíněno, pro pokusy s ovsem byl použit jak oves se slupkou tak oves bez slupky. Oves bez slupky vykazoval naprosto odlišné chování od ovsa, který byl testován se slupkou.

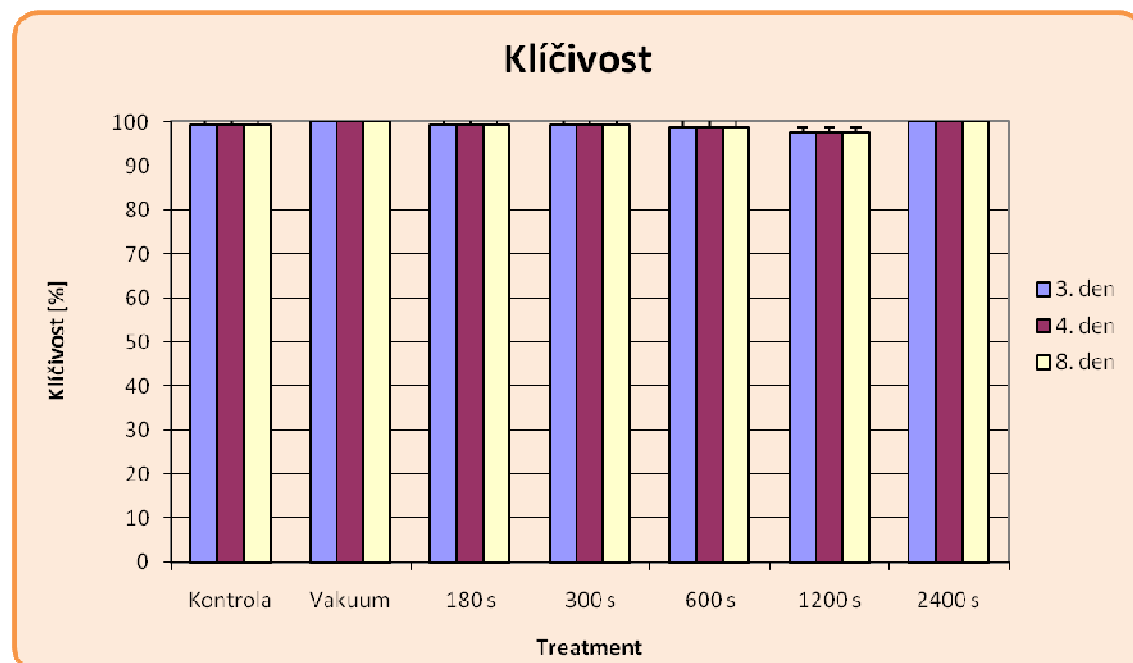
5.2.1 Klíčení

Tabulka č. 8. Klíčivost – oves bez slupky

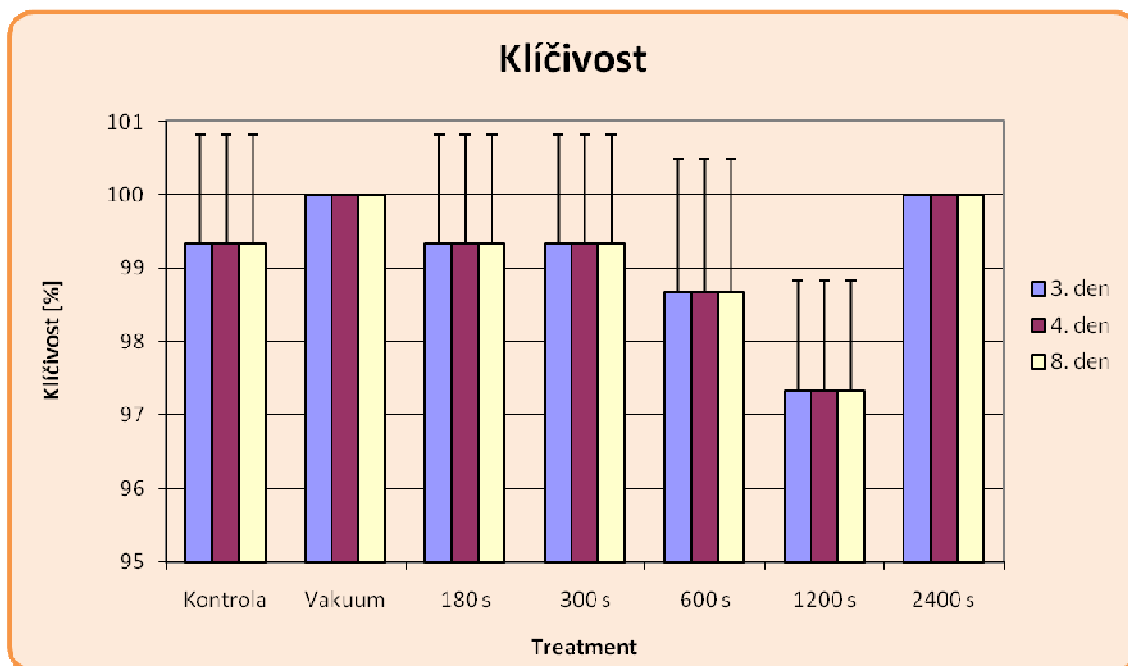
Treatment	3. den	4. den	8. den
	[%]	[%]	[%]
Kontrola	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab
Vakuum	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
180 s	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab
300 s	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab	99.3±1.5ab
600 s	98.7±1.8ab	98.7±1.8ab	98.7±1.8ab
1200 s	97.3±1.5b	97.3±1.5b	97.3±1.5b
2400 s	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a

Zajímavé je, že procentuální klíčivost je pro dané treatmenty v různých dnech vždy stejná. Znamená to, že semena, která byla schopna vyklíčit, vyklíčila již během studené fáze a pak už docházelo pouze k růstu semenáčků. Statistické vyhodnocení klíčivosti prokázalo odlišnost vakua a vzorků modifikovaných po dobu 2400 s, od vzorků, na které plazma působilo po dobu 1200 s.

V grafu číslo 8 vidíme, že procentuální klíčivost je velmi vysoká a pohybuje se okolo 100 %.



Graf č. 8. Klíčivost – oves bez slupky



Graf č. 9. Klíčivost – oves bez slupky detail

Detailnější pohled přináší graf č. 9. Zde byla záměrně upravena škála osy klíčivosti, aby byly lépe pozorovatelné drobné rozdíly. Je vidět, že klíčivost neklesá pod 97 %.

5.2.2 Přírůstky

Tabulka č. 9. Délkové přírůstky – oves bez slupky

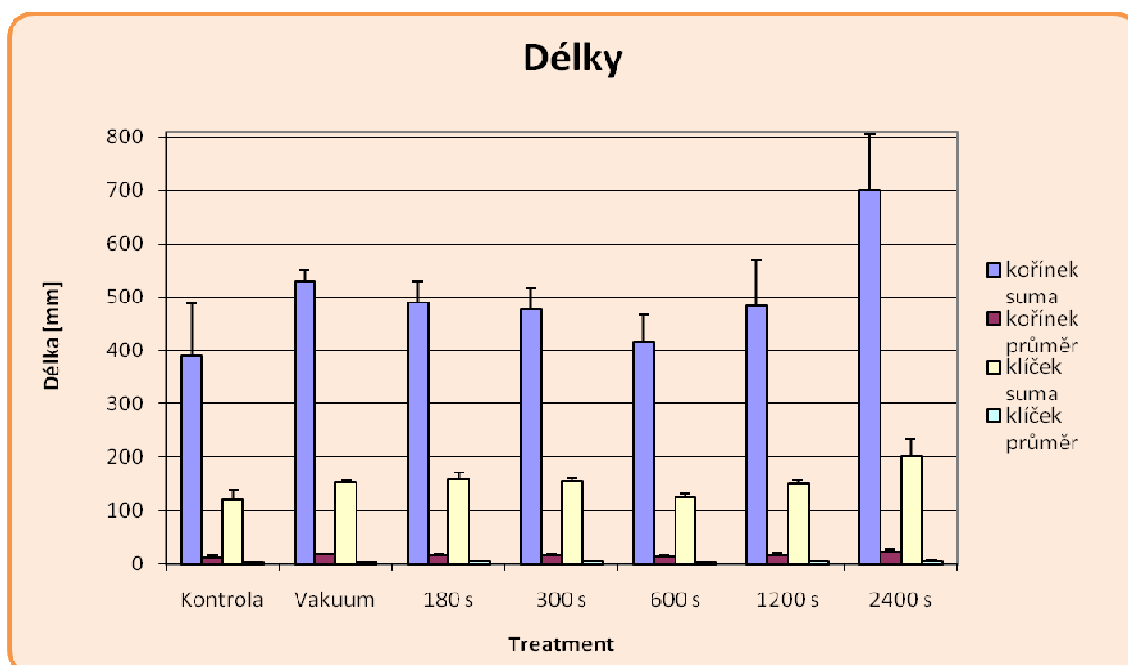
Treatment	Kořínek		Klíček	
	délky suma	délky průměr	délky suma	délky průměr
	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]
Kontrola	390±97b	13±3b	120±18b	4±1b
Vakuum	528±22ab	18±1ab	153±4b	5±0b
180 s	489±39b	16±1b	159±12ab	5±0ab
300 s	477±40b	16±2b	156±5b	5±0ab
600 s	416±52b	14±2b	125±8b	4±0b
1200 s	483±87b	17±3ab	150±6b	5±0b
2400 s	700±104a	23±3a	201±34a	7±1a

Statistické vyhodnocení dat délkových přírůstků pro oves bez slupky pro kořinek ukazuje pro sumu délek rozdíly mezi vzorkem modifikovaným 2400 s a vzorky 180 s, 300 s, 600 s, 1200 s a nemodifikovaným vzorkem a u průměru délky se odlišuje vzorek 2400 s od vzorků 180 s, 300 s, 600 s a kontrolního vzorku.

Data pro klíček se u sumy délek klíčku liší u vzorku 2400 s a vzorků 300 s, 600 s, 1200 s, kontrolního vzorku a vlivu vakua. U průměru délek klíčku se odlišují kontrola, vakuum a vzorky modifikované po dobu 300 s a 600 s od vzorku modifikovaného 2400 s.

Data pro klíček se u sumy délek liší u vzorku 2400 s a vzorků 300 s, 600 s, 1200 s, kontrolního vzorku a vlivu vakua. U průměru délek klíčku se liší kontrola, vakuum a vzorky modifikované po dobu 300 s a 600 s od vzorku modifikovaného 2400 s.

Odlišnost vzorku modifikovaného po dobu 2400 s je jasně viditelná v grafu č. 10.

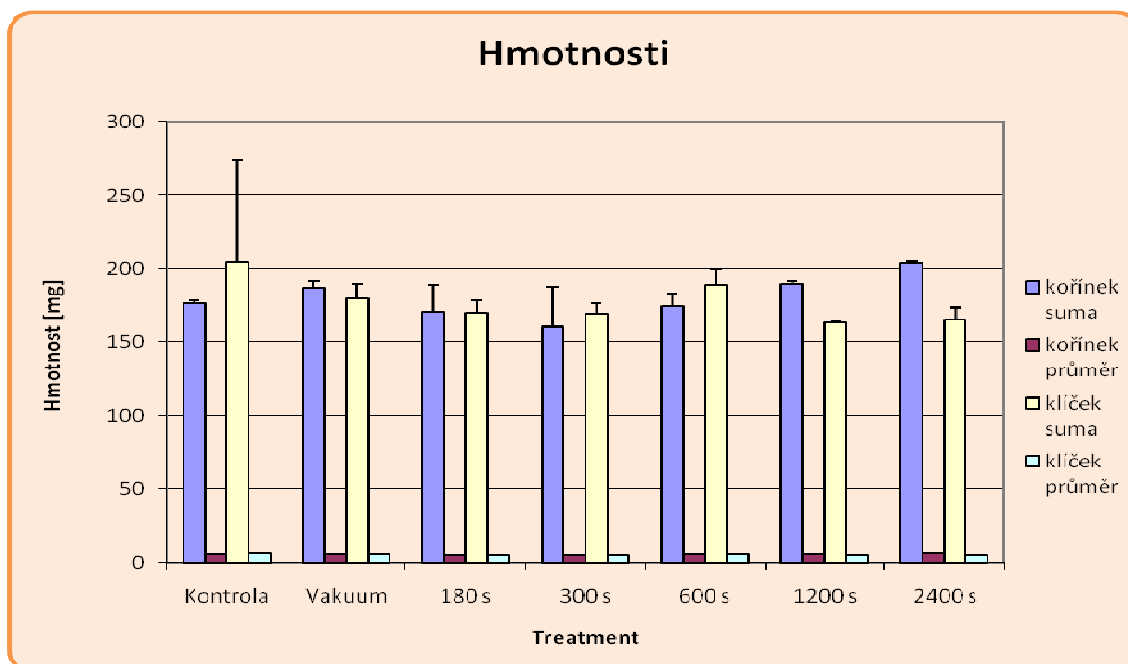


Graf č. 10. Délkové přírůstky – oves bez slupky

Tabulka č. 10. Váhové přírůstky – oves bez slupky

Treatment	Kořínek		Klíček		R/S
	hmotnost suma	hmotnost průměr	hmotnost suma	hmotnost průměr	
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	
Kontrola	176.5±1.8a	5.9±0.1a	204.8±69.3a	6.8±2.3a	1.0±0.3a
VaKuum	186.8±5.1a	6.2±0.2a	180.3±9.3a	6.0±0.3a	1.1±0.0a
180 s	170.9±18.3a	5.7±0.6a	170.6±7.9a	5.7±0.3a	1.1±0.1a
300 s	161.0±26.2a	5.4±0.9a	169.7±6.4a	5.7±0.2a	1.0±0.2a
600 s	174.4±9.2a	5.9±0.5a	189.2±11.0a	6.4±0.5a	0.9±0.0a
1200 s	189.8±1.8a	6.4±0.2a	163.5±0.2a	5.5±0.1a	1.2±0.0a
2400 s	204.0±1.7a	6.8±0.1a	165.5±7.9a	5.5±0.3a	1.2±0.1a

Zhodnocení hmotností neodhalilo žádné signifikantní rozdíly mezi modifikovanými a kontrolními vzorky. Výrazná je zde pouze standardní odchylka u kontrolního vzorku (graf č. 11).



Graf č. 11. Váhové přírůstky – oves bez slupky

5.3 Oves se slupkou

Chování ovsa se slupkou při modifikaci plazmatem bylo naprosto odlišné, než se očekávalo. Namísto lepšího a kvalitnějšího klíčení modifikovaných vzorků byl pozorován naprostý opak. Modifikované vzorky nevykazovaly na rozdíl od kontrolních vzorků, žádné rysy progresivního klíčení či růstu. Zdůvodněním této odlišnosti může

být teorie, že se při modifikaci ze slupky uvolňují inhibiční látky, které zpomalují či dokonce zabraňují klíčení a následnému růstu.

5.3.1 Klíčení

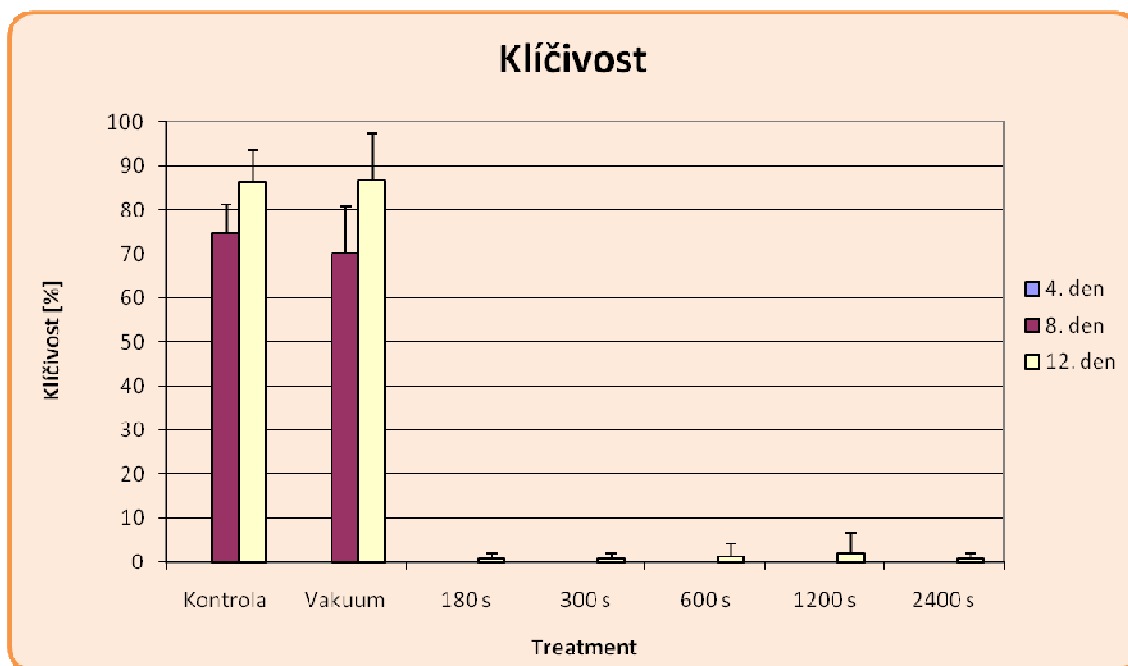
Tabulka č. 11 a graf č. 12 jasně potvrzují naprostou odlišnost kontrolního nemodifikovaného vzorku a vzorku vakua od všech plazmatem modifikovaných vzorků.

Tabulka č. 11. Klíčivost – oves se slupkou

Treatment	4. den	8. den	12. den
	[%]	[%]	[%]
Kontrola	0.0±0.0a	74.7±6.5a	86.0±7.6a
Vakuum	0.0±0.0a	70.0±10.8a	86.6±10.5a
180 s	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.7±1.5b
300 s	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.7±1.5b
600 s	0.0±0.0b	0.0±0.0b	1.3±3.0b
1200 s	0.0±0.0b	0.0±0.0b	2.0±4.5b
2400 s	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.7±1.5b

Klíčení ovsa se slupkou u kontrolních vzorků je naprosto odlišné od klíčení ovsa bez slupky. Zatímco semena ovsa bez slupky vyklíčila již během chladné fáze, semena ovsa se slupkou nevykazovala čtvrtý den po ukončení chladné fáze ještě žádné náznaky klíčení a začala klíčit až mezi čtvrtým a osmým dnem. Je zde tedy patrné pomalejší a postupné klíčení.

Vzorky modifikované plazmatem začaly klíčit až v rozmezí osmého až dvanáctého dne a to jen velmi málo. Klíčení modifikovaných semen by pravděpodobně v dalších dnech pokračovalo, ale v laboratorních podmínkách nebylo možné déle klíčení pozorovat. Vhodné by bylo umístit modifikovaná semena do hlíny a sledovat jejich růst. Což by bylo zcela jistě dalším velmi zajímavým faktorem, ale z důvodu velké časové náročnosti jednotlivých pokusů a času vyhrazenému na diplomovou práci nebylo možné výzkum rozšířit i tímto směrem.



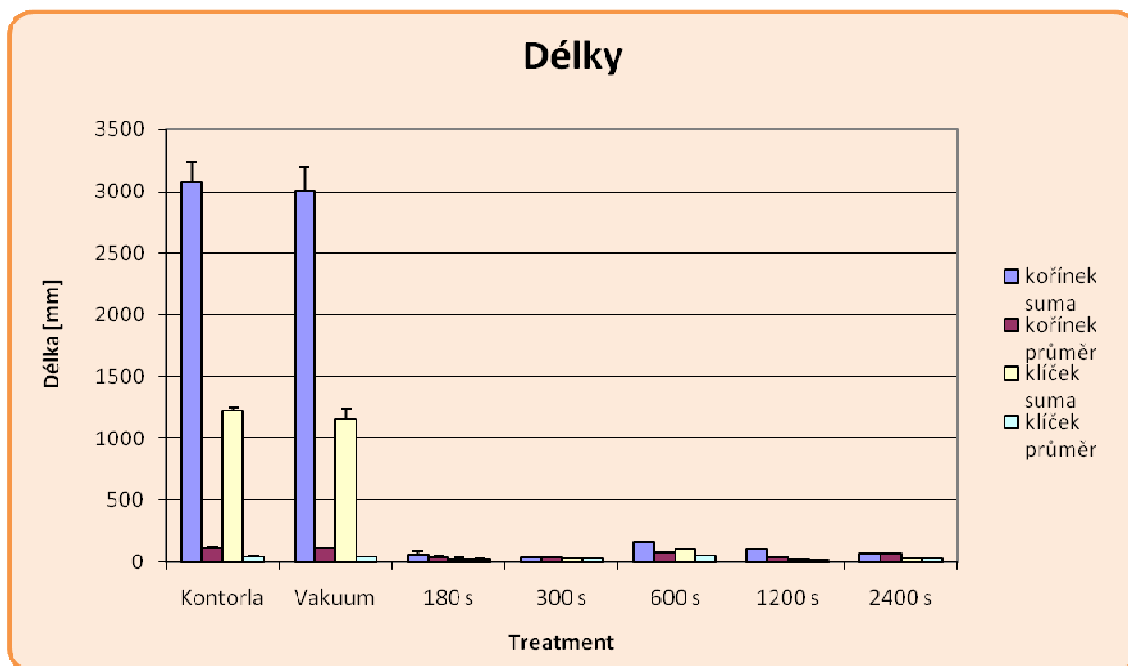
Graf č. 12. Klíčivost – oves se slupkou

5.3.2 Přírůstky

Tabulky a grafy délkových a hmotnostních přírůstků jsou uvedeny pouze jako informační a nevyžadují proto samostatný komentář.

Tabulka č. 12. Délkové přírůstky – oves se slupkou

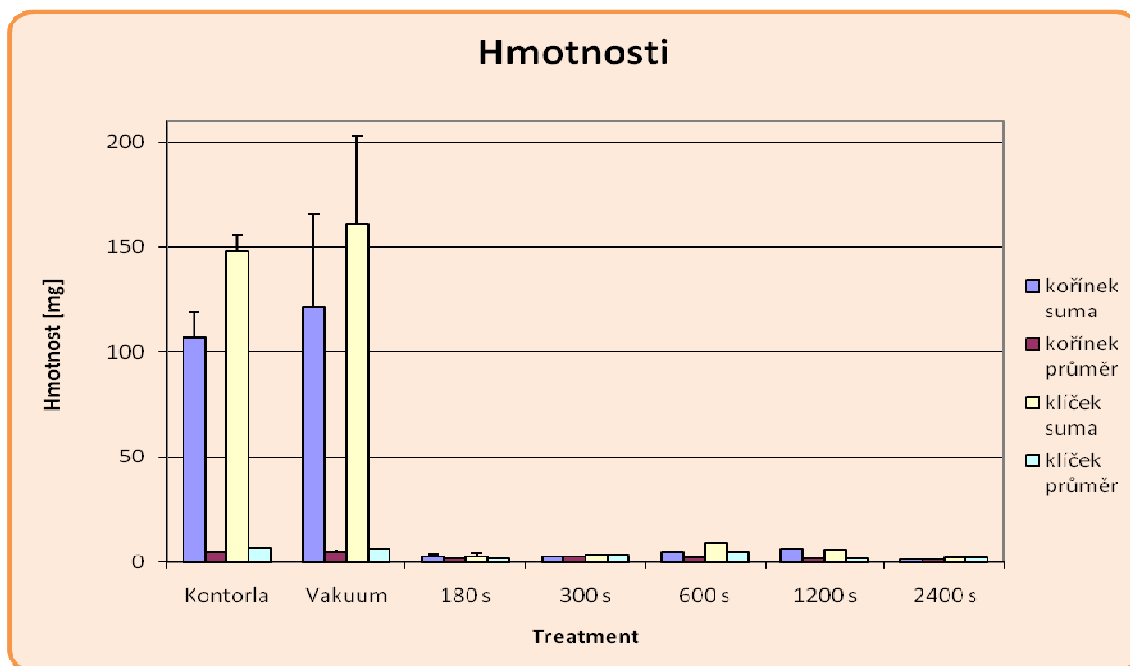
Treatment	Kořínek		Klíček	
	délky suma	délky průměr	délky suma	délky průměr
	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]
Kontrola	3077±158a	113±10a	1227±28a	45±3b
VaKuum	3002±197a	113±2a	1151±91a	43±3b
180 s	58±29b	39±11b	19±14b	14±12a
300 s	39±0b	39±0b	23±0b	23±0ab
600 s	161±0b	80±0ab	105±0b	52±0ab
1200 s	106±0b	35±0b	21±0b	7±0ab
2400 s	70±0b	70±0ab	24±0b	24±0ab



Graf č. 13. Délkové přírůstky – oves se slupkou

Tabulka č. 13. Váhové přírůstky – oves se slupkou

Treatment	Kořinek		Klíček		R/S
	hmotnost suma	hmotnost průměr	hmotnost suma	hmotnost průměr	
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	
Kontrola	107.3±11.7b	4.9±0.2a	148.2±7.9a	6.7±0.1a	0.73±0.37a
VaKuum	121.7±44.6b	4.8±0.7a	160.9±41.9a	6.4±0.2a	0.75±0.08a
180 s	2.7±1.0a	1.9±0.4b	2.7±1.4b	2.1±0.5b	0.98±0.51a
300 s	2.7±0.0ab	2.7±0.0ab	3.4±0.0b	3.4±0.0b	0.79±0.00a
600 s	4.8±0.0ab	2.4±0.0ab	9.4±0.0b	4.7±0.0ab	0.51±0.00a
1200 s	6.3±0.0ab	2.1±0.0ab	5.9±0.0b	2.0±0.0b	1.09±0.00a
2400 s	1.3±0.0ab	1.3±0.0b	2.5±0.0b	2.5±0.0b	0.52±0.00a



Graf č. 14. Váhové přírůstky – oves se slupkou

6 Závěr

Základní cíle práce, které byly vytyčeny, byly splněny.

Bylo získáno dostatečné množství biologického materiálu vhodného pro pokusy s plazmatem. Dokonce bylo získáno více vzorků, než bylo možné z časového důvodu podrobit aplikaci plazmatu a proto bylo nutné vhodnými testy vybrat ze získaných vzorků vhodné kandidáty.

Byla vypracována metodika pro testování semen stimulovaných plazmatem a na vybrané vzorky bylo následně plazma aplikováno. Došlo ke zdokumentování modifikovaného povrchu pomocí elektronové mikroskopie, kde byly odhaleny viditelné změny povrchu.

V laboratorních podmínkách byly modifikované vzorky podrobeny testům klíčivosti s následným vyhodnocením dat a formulací výsledků.

Výsledky práce se staly podkladovým materiálem pro přednášku prof. RNDr. Petra Špatenky, CSc., která byla prezentována na mezinárodní konferenci v USA. Prezentace, se kterou pan profesor na konferenci vystoupil, je uvedena v příloze.

Dále budou výsledky použity v připravovaném článku RNDr. Boženy Šeré, Ph.D., z Ústavu systémové biologie a ekologie AV ČR.

Seznam obrázků

OBRÁZEK Č. 1	BLESK, POLÁRNÍ ZÁŘE A SLUNEČNÍ SVIT	8
OBRÁZEK Č. 2	VÝSKYT PLAZMATU	8
OBRÁZEK Č. 3	ČTYŘI SKUPENSTVÍ HMOTY	9
OBRÁZEK Č. 4	PODÉLNÝ ŘEZ PŠENIČNÝM ZRNEM SE ZNÁZORNĚNÍM JEHO MORFOLOGICKÝCH VRSTEV	13
OBRÁZEK Č. 5	KLAS PŠENICE	14
OBRÁZEK Č. 6	OVES.....	15
OBRÁZEK Č. 7	PLAZMOCHEMICKÁ APARATURA – POHLED NA REAKTOR A MAGNETRON	20
OBRÁZEK Č. 8	PLAZMOCHEMICKÁ APARATURA – POHLED NA ŘÍDÍCÍ JEDNOTKU.....	20
OBRÁZEK Č. 9	PŠENICE „STANDA“	25
OBRÁZEK Č. 10	POČÍTÁNÍ OBILEK	26
OBRÁZEK Č. 11	VZORKY PŘIPRAVENÉ PRO POKUS	26
OBRÁZEK Č. 12	VZORKY PŘIPRAVENÉ K APLIKACI PLAZMATU.....	28
OBRÁZEK Č. 13	VZORKY UMÍSTĚNÉ V REAKTORU APARATURY.....	28
OBRÁZEK Č. 14	PETRIHO MISKY PŘIPRAVENÉ K UMÍSTĚNÍ SEMEN.....	29
OBRÁZEK Č. 15	SKLÁDÁNÍ SEMEN NA PETRIHO MISKU.....	30
OBRÁZEK Č. 16	PŘÍPRAVA SEMEN NA KLÍČENÍ	30
OBRÁZEK Č. 17	VZORKY PŘIPRAVENÉ PRO POKUS	31
OBRÁZEK Č. 18	UKÁZKA STADIA KLÍČENÍ PŘI DRUHÉM VYBÍRÁNÍ	32
OBRÁZEK Č. 19	ROZPLÉTÁNÍ KOŘENOVÉHO SYSTÉMU	33
OBRÁZEK Č. 20	DETAIL NA KLÍČÍCÍ OBILKU	33
OBRÁZEK Č. 21	SKENOVACÍ ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP JEOL JSM-7401F	35
OBRÁZEK Č. 22	POROVNÁNÍ POVRCHŮ (KONTROLA, PLAZMA) PŘI ZVĚTŠENÍ 30 000X	41
OBRÁZEK Č. 23	POROVNÁNÍ POVRCHŮ (KONTROLA, PLAZMA) PŘI ZVĚTŠENÍ 50 000X	41
OBRÁZEK Č. 24	POROVNÁNÍ POVRCHŮ (KONTROLA, VAKUUM, PLAZMA) PŘI ZVĚTŠENÍ 30 000X	42
OBRÁZEK Č. 25	POROVNÁNÍ POVRCHŮ (KONTROLA, VAKUUM, PLAZMA) PŘI ZVĚTŠENÍ 50 000X	42
OBRÁZEK Č. 26	POROVNÁNÍ MODIFIKOVANÉHO (A) A KONTROLNÍHO (B) POVRCHU	43
OBRÁZEK Č. 27	POROVNÁNÍ MODIFIKOVANÉHO (A) A KONTROLNÍHO (B) POVRCHU V DETAILU.....	44

Seznam tabulek

TABULKA Č. 1.	:DRUHY PŠENICE JARNÍ	21
TABULKA Č. 2.	DRUHY OVSA SETÉHO	22
TABULKA Č. 3.	PARAMETRY PŮSOBENÍ PLAZMATU	22
TABULKA Č. 4.	APLIKACE PLAZMATU – DRUHÁ FÁZE POKUSŮ	27
TABULKA Č. 5.	KLÍČIVOST - PŠENICE	37
TABULKA Č. 6.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY - PŠENICE.....	38
TABULKA Č. 7.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – PŠENICE	39
TABULKA Č. 8.	KLÍČIVOST – OVES BEZ SLUPKY	45
TABULKA Č. 9.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES BEZ SLUPKY.....	46
TABULKA Č. 10.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES BEZ SLUPKY.....	48
TABULKA Č. 11.	KLÍČIVOST – OVES SE SLUPKOU.....	49
TABULKA Č. 12.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES SE SLUPKOU	50
TABULKA Č. 13.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES SE SLUPKOU.....	51

Seznam grafů

GRAF Č. 1.	KLÍČIVOST OVSA M SE SLUPKOU	23
GRAF Č. 2.	KLÍČIVOST OVSA J SE SLUPKOU	24
GRAF Č. 3.	RŮZNÉ ČASY PRO VZOREK M	24
GRAF Č. 4.	RŮZNÉ PLYNY PRO VZOREK M.....	25
GRAF Č. 5.	KLÍČIVOST – PŠENICE.....	38
GRAF Č. 6.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY – PŠENICE.....	39
GRAF Č. 7.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – PŠENICE	40
GRAF Č. 8.	KLÍČIVOST – OVES BEZ SLUPKY	45
GRAF Č. 9.	KLÍČIVOST – OVES BEZ SLUPKY DETAIL	46
GRAF Č. 10.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES BEZ SLUPKY.....	47
GRAF Č. 11.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES BEZ SLUPKY	48
GRAF Č. 12.	KLÍČIVOST – OVES SE SLUPKOU	50
GRAF Č. 13.	DÉLKOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES SE SLUPKOU.....	51
GRAF Č. 14.	VÁHOVÉ PŘÍRŮSTKY – OVES SE SLUPKOU	52

Literatura

Baskin C.C. a Baskin J.M. (1998) Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press Limited.

Dhayal M., Lee S.Y. a Park S.U. (2006) Using low-pressure plasma for *Carthamus tinctorium* L. seed surface modification. Vacuum 80, 499-506.

Dubinov A.E., Lazarenko E.M. a Selemir V.D. (2000) Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed. IEEE Transaction on Plasma Science 28, 180-183.

Fridman G., Brooks A.D., Balasubramanian M., Fridman A., Gutsol A., Vasilets V.N., Ayan H. a Friedman G. (2007) Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. Plasma Process and Polymers 4, 370-375.

Grime J.P., Mason G., Curtis A.V., Rodman J., Band S.R., Mowforth M.A.G., Neal A.M. a Shaw S. (1981) A comparative study of germination characteristics in a local flora. Journal of Ecology 69, 1017-1059.

Hippler R. a kol. (2001) Low Temperature Plasma Physics, Wiley-VCH, Berlin.

Chen F. F.(1984) Úvod do fyziky plazmatu. Academia, Praha.

Kalghatgi S.U., Fridman G., Cooper M., Nagaraj G., Peddinghaus M., Balasubramanian M., Vasilets N.V., Gutsol A., Fridman A. a Friedman G. (2007) Mechanism of blood coagulation by nonthermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma. IEEE Transactions on Plasma Science 35, 1559-1566.

Procházka S. a kol. (1998): Fyziologie rostlin. Academia Praha.

Příhoda J., Skřivan P., Hrušková M. (2004) Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.

Ratner B. (1997) Biomaterials Science. In R.d'Agostino *et al.* (eds.), Plasma Processing of Polymers. Kluwer Academic Publishers.

Slavíková, J. (1986) Ekologie rostlin. SPN Praha.

Straňák V., Tichý M., Kříha v., Scholtz V., Houser F., Špatenka P. a Šerá B. (2006) Biotechnological applications of sulfatron plasma discharge. - 139-144 p., In: Šafránková J. a Pavlů J. (eds), WDS 06 Proceedings of Contributed Papers, Part II, Prague, June 6-9, 2006, Matfyzpress, Praha.

Straňák V., Tichý M., Kříha V., Scholtz V., Šerá B. a Špatenka P. (2007) Technological applications of surfatron produced discharge. J. Optoelectron. Adv. Mater., 9 (4), 852-857.

Šerá B., Straňák V., Šerý M., Tichý M. a Špatenka P. (2008) Germination of *Chenopodium album* in response to microwave plasma treatment. Plasma Science and Technology.,10 (4), 506-511.

Šerá B., Šerý M, Straňák V., Tichý M. a Špatenka P. Does cold plasma change the seed dormancy? Study on seeds of Lambs Quarters (*Chenopodium album* agg.). Plant Biosystems. (submitted)

Volin J.C., Denes F.S., Young R.A. a Park S.M.T. (2000) Modification of seed germination performance through cold plasma chemistry technology. Crop Science 40, 1706-1718.

Yildirim E.D., Ayan H, Vasilets V.N., Fridman A., Guceri S.a Sun W. (2008) Effect of dielectric barrier discharge plasma on the attachment and proliferation of osteoblasts cultured over poly(alfa-caprolactone) scaffolds. Plasma Processes and Polymers 5, 58-66.

Yin M.Q., Huang M.J., Ma B.Z. a Ma T.C. (2005) Stimulating effects of seed treatment by magnetized plasma on tomato growth and yield. Plasma Science and Technology 7, 3143-3147.

Živkovič S., Puač N., Giba Z., Grubišič, D. a Petrovič Z.L.J. (2004) The stimulatory effect of non-equilibrium (low temperature) air plasma pretreatment on light-induced germination of *Paulownia tomentosa* seeds. – Seed Sci. and Technol. 32, 693-701.

Internetové zdroje:

<http://www.paru.cas.cz/lem/cs/vybaveni.php>

<http://www.volny.cz/osivaborsov/>.

http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-530-7/pdf/066.pdf

<http://ivana.friva.net/clanky/view.php?cislocclanku=2005042601>

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Obilniny>

http://is.muni.cz/th/175437/prif_b/bak1.pdf

http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc

<http://botanika.prf.jcu.cz/thesis/pdf/KosnarH2003.pdf>

http://cs.wikipedia.org/wiki/Fyzika_plazmatu

<http://botanika.prf.jcu.cz/thesis/pdf/KosnarH2003.pdf>

Zdroje obrázků:

<http://botanika.wendys.cz/cherbar/heslo.php?557>

<http://botanika.wendys.cz/cherbar/foto.php?q476>

<http://www.paru.cas.cz/lem/cs/vybaveni.php>

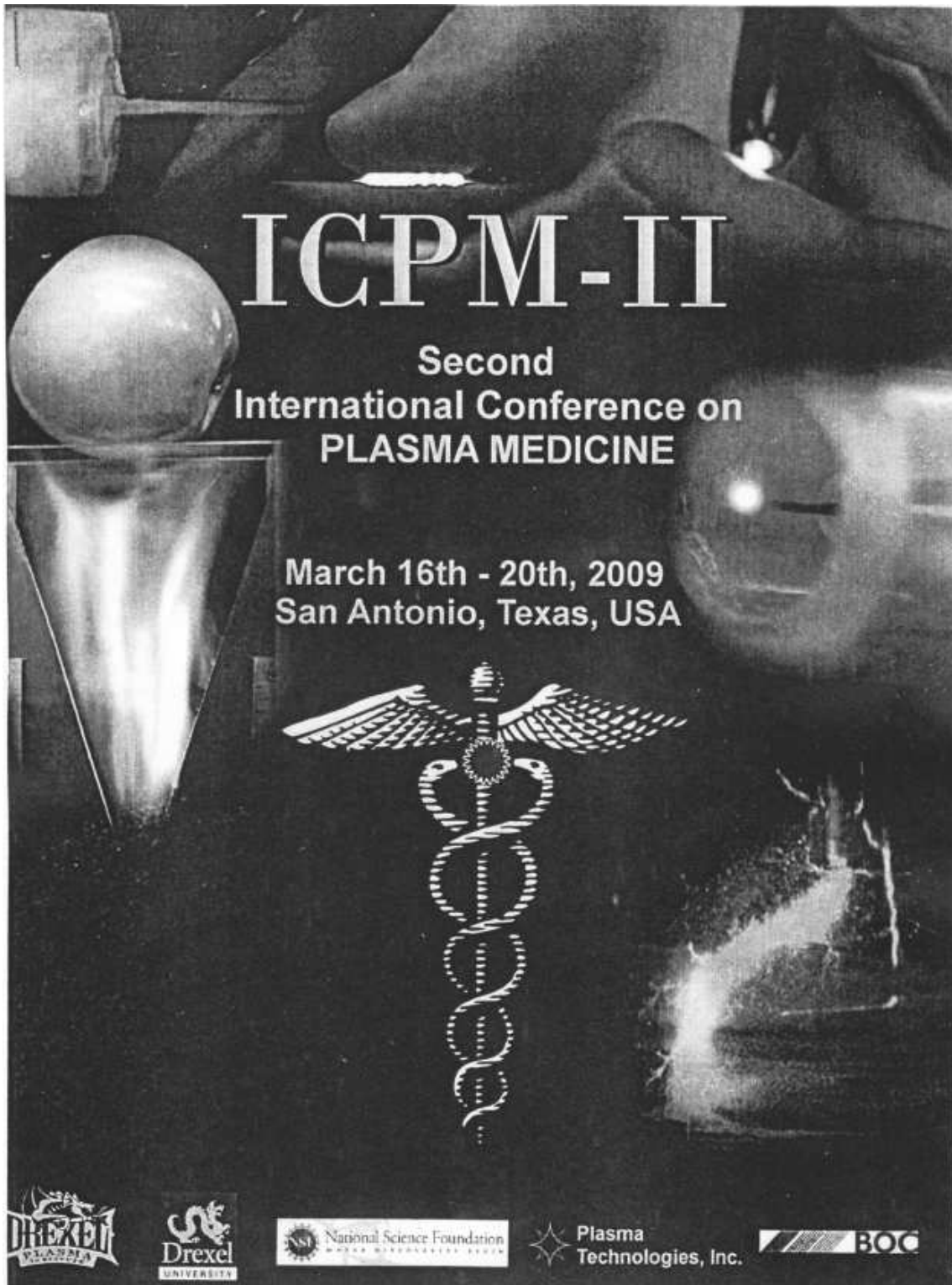
http://is.muni.cz/th/175437/prif_b/bak1.pdf

http://is.muni.cz/th/77987/prif_m/plasmochemie.doc

7 Přílohy

Kopie sborníku z konference v USA

Prezentace prof. RNDr. Petra Špatenky, CSc. z konference v USA




The poster features a dark background with a composite image of a hand holding a glowing sphere, a plasma jet, and a medical scan. The text is centered and reads:

ICPM-II

Second
International Conference on
PLASMA MEDICINE

March 16th - 20th, 2009
San Antonio, Texas, USA



A central graphic of a Rod of Asclepius, a symbol of medicine, consisting of a staff with a single snake coiled around it and wings at the top.

Logos at the bottom:

- Drexel University
- Drexel University
- National Science Foundation
- Plasma Technologies, Inc.
- BOC

Influence of Plasma Treatment on Seed Germination

Božena Šerá¹, Petr Špatenka^{2,3}, Michal Šerý³, Iveta Hrušková³

- 1) Institute of Systems Biology and Ecology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Na Sádkách 7, CZ-370 05 České Budějovice
- 2) Technical University of Liberec, Department of Material Sciences, Studentská 2, CZ-461 17 Liberec, Czech Republic
- 3) University of South Bohemia, Department of Physics, Jeronýmova 10, CZ-371 15 České Budějovice, Czech Republic

Besides cells and tissues plant seeds belong to living organisms with higher and more complex structure. Thus plasma treatment of seeds may give some ideas of how plasma interacts with living organism. In our research we focused on the investigation of the influence of the plasma treatment on seeds germination. Seeds of Lamb's Quarters (*Chenopodium album* agg.), and the two cereals, one of wheat (*Triticum aestivum*) and the other of oat (*Avena sativa*) were used as the model seeds. Low-pressure microwave plasma generated in air was used for the seeds treatment. The germination test was done in situ in Petri dishes under laboratory conditions. Five replicates and 150 seeds per one of plasma treatments were tested. To check the influence of the treatment two control samples were tested, one with seeds without any treatment and the second one with seeds treated only by vacuum for 10 minutes without any plasmas. All the samples were incubated under light-dark and at cold-warmly period (6°C and 20 °C) for eight days. The number of germinated seeds and the length of sprouts (root and shoot) were monitored. Radical protrusions or seed coat disruptions were recorded as the criterion for germination, shoot length was measured without cotyledon.

The results of plasma treatment strongly depended on the seed's type. Whereas plasma treatment resulted in significant enhancement germination probability of Lamb's Quarters by factor higher than 2, plasma treatment of wheat inhibited the germination acceleration in first two days but enhancement of footstalk was observed for plants growth from seeds treated for medium time. On the other hand, plasma treatment didn't affect germination of oat seeds, but accelerated the rootlet generation at plants growth from treated seeds.

The plasma treatment has been assumed to influence mainly the skin coat. Our results indicate the plasma influences not only the seed skin, but the active radicals from plasma probably penetrate through the porous skin inside the seeds where they react directly with seed cells and/or genes. Additional microbiological tests have to be done to clarify the mechanism of plasma-seed interaction.

The work was partially supported by the project MSM 4674788501, GACR 106/08/1665 and by the ISBE research plan AV0Z60870520..

Influence of Plasma Modification on Seed Germination

Božena Šerá¹, Petr Špatenka^{2,3}, Michal Šerý³, Iveta Hrušková^{1,3}

¹⁾ *Institute of Systems Biology and Ecology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Na Sádkách 7, CZ-370 05 České Budějovice, Czech Republic*

²⁾ *Technical University of Liberec, Department of Material Sciences, Studentská 2, CZ-461 17 Liberec, Czech Republic*

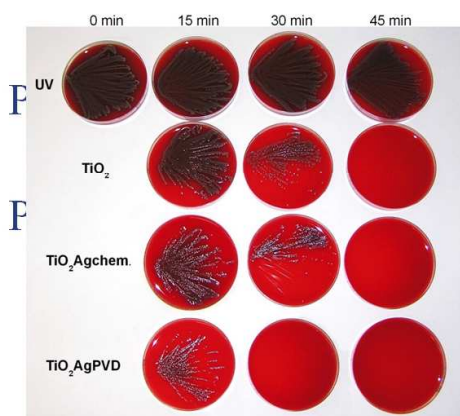
³⁾ *University of South Bohemia, Department of Physics, Jarníkova 10, CZ-371 15 České Budějovice, Czech Republic*

Technical University in Liberec
Surface technology group

Plasma deposition of thin
film

Plasma treatment of
powder

Technical University in Liberec Surface technology group



Technical University in Liberec Surface technology group





**Institute of Systems Biology
and Ecology** ACADEMY OF SCIENCES
OF THE CZECH REPUBLIC, v.v.i.

Biological team

- Population biology of plants
- Seed ecology
- Stimulation/inhibition of seed germination
- Manipulative testing



Motivation

Chemical seed treatment – standard process

- Storage time enhancement
- Seed protection prior fungus

Plasma seed treatment – pilot experiments

- coat modification
- seed germination?
- seedling early growth?

Methods

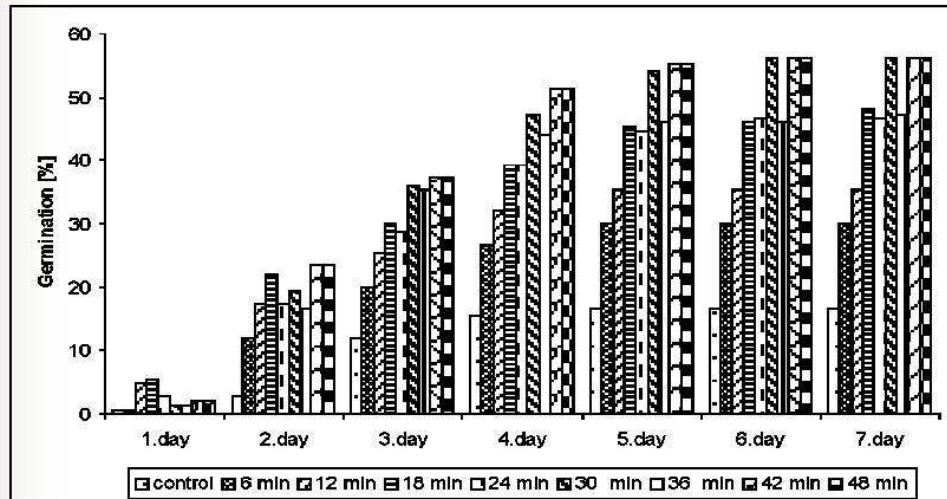
- Microwave plasma treatment, low pressure, 500W, air 200ml/min
- Time: 180s, - 2400s
- Two controls: 0 s, vacuum 300 s
- 30 seeds per one treatment (5 repetitions)
- Germination in laboratory condition
- Data collection: number, length, weight

Two model seeds

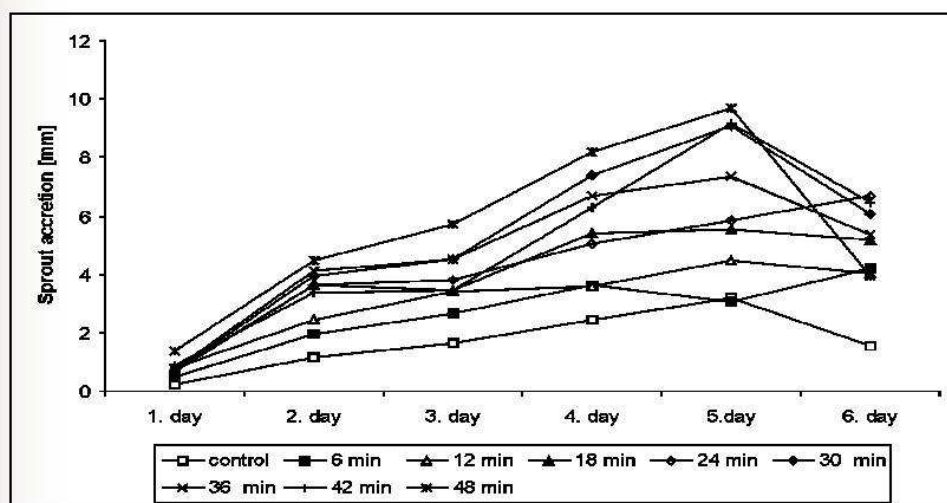


- *Chenopodium album* agg. – common weed
B. Šerá, V. Straňák, M. Šerý, M. Tichý, P. Špatenka: Plasma Sci. and Technology 10 (2008) 506
- *Triticum aestivum* (wheat), *Avena sativa* (oat) – cereals

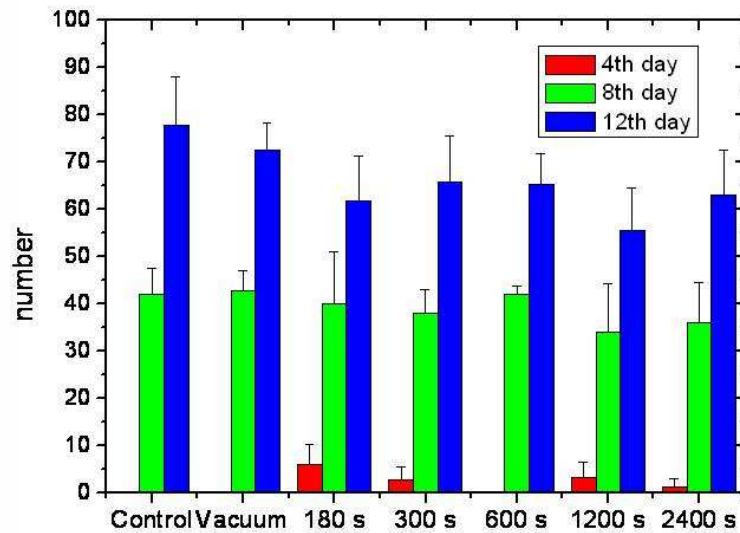
Chenopodium album - germination



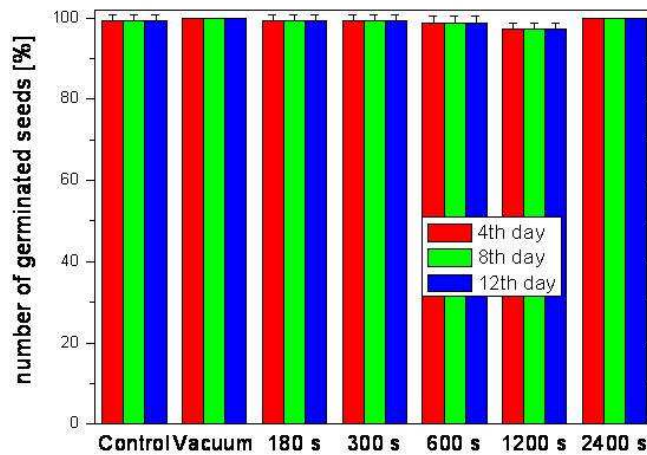
Chenopodium album – early growth



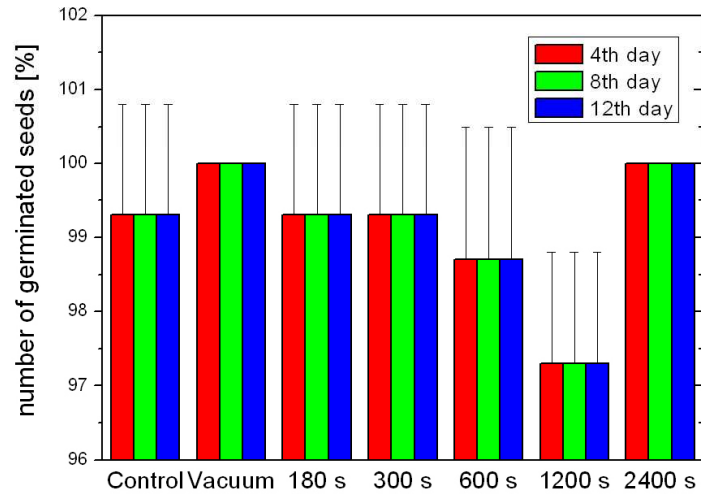
Wheat - germination



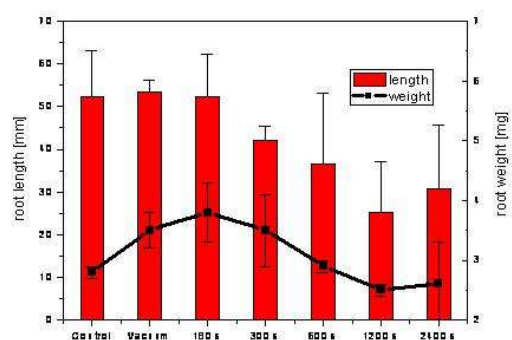
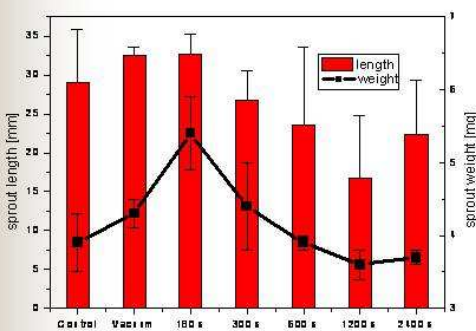
Oat - germination



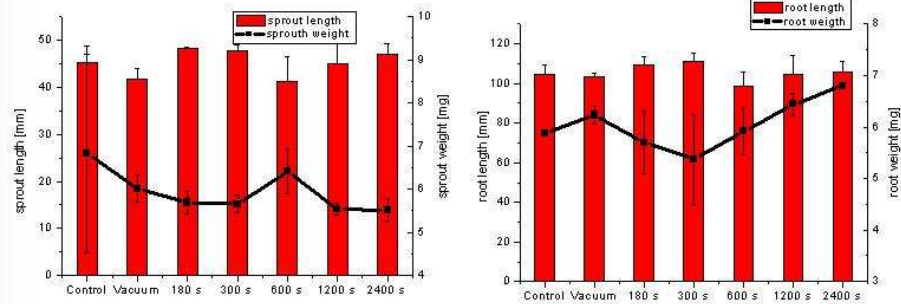
Oat - germination



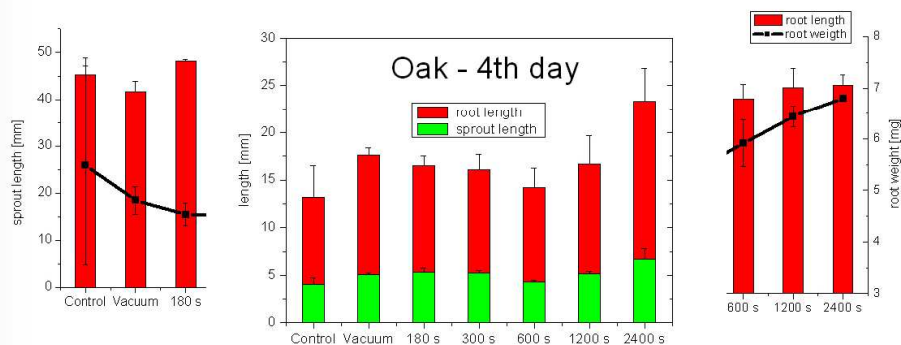
Wheat – early growth (8th day)



Oak – early growth 8th day



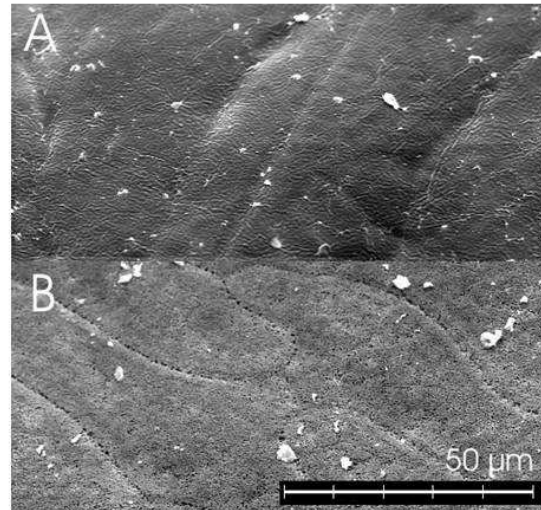
Oak – early growth 8th day



Chenopodium album – seed coat

Electron
microscope

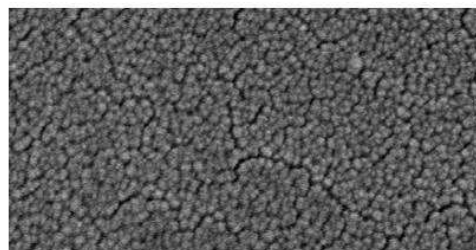
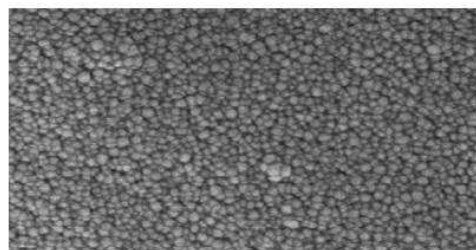
- A: control
- B: plasma treatment



Wheat – seed coat

Electron microscope

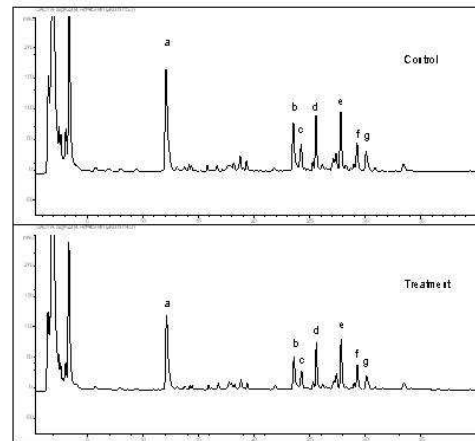
- Above: control
- Below: treated



C. album - chromatogram

Chromatographical profile of methanolic extract from roots

- Peak areas (a-g) differ in control and treatment



Conclusions

1. Effect of plasma treatment strongly depends on type of seed
2. Plasma treatment impacts both the seed coat and seed inside
3. Investigations both on plant and cell physiology has to be done to understand the plasma-seed interaction

Thank you for your attention

