



Zemědělská  
fakulta  
Faculty  
of Agriculture

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

## **JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

### **Autoreferát dizertační práce**

Vývoj duální technologie pro ošetření osiva řepky ozimé  
a ječmene jarního

Mgr. Pavel Olšan

2019

**Školitel:** doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D.

**Školitel specialista:** RNDr. Pavel Kříž, Ph.D.

Ing. Andrea Bohatá, Ph.D.

# Abstract

The dissertation thesis deals with the use of low-temperature plasma and biological treatment of winter rape seed and spring barley as an alternative to chemical dressing in relation to the Decree on Integrated Pest Management 205/2012 Coll.

The seed treatment technology is conceived as a two-phase process, where a low-temperature plasma discharge of the Gliding Arc type ignited in the air at atmospheric pressure is used in the first step and a biological preparation containing spores of *Trichoderma virens* is applied to the treated seed as the second step.

The plasma discharge treatment allows to increase the wettability of the seed surface, which improves the adhesion of the biological preparation in the second treatment step. Plasma also enables to activate selected processes taking place in seeds, which support their germination and subsequent growth.

The content of the dissertation is divided into four sub-units which are mutually related:

1. determination of plasma discharge parameters for subsequent applications in the proposed technology,
2. carrying out laboratory experiments to assess the effect of plasma on seed,
3. carrying out field experiments to compare crop yields for different seed treatment options,
4. proposal for a regulation for seed treatment in a continuous mode by plasma discharge followed by application of the preparation and production of a functional sample.

The work is markedly interdisciplinary and intervenes in the field of plasma physics, chemistry, plant production and construction of technical equipment. From the results achieved we can give a short summary:

1. Plasma discharge treatment of winter rape and barley seeds results in increased surface wettability.
2. No difference in the absorption of plasma treated and untreated seeds was observed during the experiments.
3. Developed dual seed treatment technology has the potential to increase yield.

The dissertation thesis was realized within the project TA04021252 – „Development of equipment for physical treatment of seeds and malt using low-temperature plasma.“

# Obsah

<b>Úvod</b>	<b>4</b>
<b>1 Rešerše literatury</b>	<b>6</b>
1.1 Nízkoteplotní plazma . . . . .	6
1.2 Vliv plazmového výboje na klíčivost semen . . . . .	8
1.3 Vliv plazmového výboje na smáčivost a nasákavost semen . . . . .	10
1.4 Ochrana semen biologickými preparáty . . . . .	11
1.4.1 Bio-ochrana ve formě hub . . . . .	11
1.4.2 Mykoparazitické houby . . . . .	11
1.4.3 Entomopatogenní houby . . . . .	12
<b>2 Cíl a hypotézy práce</b>	<b>13</b>
<b>3 Materiál a metodika měření</b>	<b>15</b>
3.1 Aparatura pro generování výboje typu Gliding Arc . . . . .	15
3.2 Použitý biologický materiál . . . . .	19
3.3 Charakterizace výboje . . . . .	20
3.3.1 Distribuce teplotního pole v okolí plazmového výboje typu Gliding Arc . . . . .	20
3.3.2 Měření optických spekter . . . . .	21
3.4 Laboratorní experiment . . . . .	22
3.4.1 Stanovení smáčivosti povrchu semen . . . . .	22
3.5 Metodika polních experimentů . . . . .	22
3.5.1 Polní experimenty – ječmen jarní . . . . .	24
<b>4 Vybrané výsledky</b>	<b>25</b>
4.1 Charakterizace výboje . . . . .	25
4.1.1 Teplota pracovního plynu ve výbojovém kanále Gliding Arc . . . . .	25
4.1.2 Stanovení optických spekter plazmového výboje . . . . .	27
4.2 Výsledky laboratorních experimentů a měření . . . . .	28
4.2.1 Vliv plazmového výboje na smáčivost povrchu semen . . . . .	28
4.3 Polní experimenty . . . . .	30
4.3.1 Polní experimenty se semeny ječmene jarního . . . . .	30
<b>Závěr</b>	<b>32</b>
<b>Seznam literatury</b>	<b>33</b>

---

# Úvod

Kvalitní osivo představuje důležitý prvek při zakládání porostů hospodářských plodin a významně ovlivňuje výnos a potažmo tak určuje tržní hodnotu osiva. Osivo musí být před vysetím chráněno vhodným způsobem proti patogenním organismům, které mohou snížit klíčivost semen a ohrozit zdravotní stav rostlin. Proto je nutné v rámci pěstitelské technologie aplikovat adekvátně vhodnou ochranu (Callan et al., 1990). Současný trend v ochraně zemědělských komodit využívá převážně chemických přípravků – pesticidů, fungicidů a herbicidů. Pesticidy byly po mnoho desetiletí využívány farmáři k potlačení hospodářsky významných škůdců a rostlinných patogenů, ale jejich negativní účinky na necílové organismy a jejich obecně negativní dopad na životní prostředí donutily vědce zaměřit se na vývoj alternativních metod k regulaci chorob a škůdců (Rebek et al., 2012).

V současnosti se uplatňuje směrnice Integrované ochrany rostlin, která cílí na poskytnutí účinné ochrany v podobě alternativního ošetření semen proti škodlivým mikroorganismům (Vyhláška č. 205/2012 Sb., 2012). Tato směrnice preferuje biologické, fyzikální a jiné nechemické metody ošetření před chemickými metodami ošetření semen.

Aktuální studie v oblasti ochrany rostlin stále častěji uvádějí aplikaci plazmového výboje jako ekologicky příznivější fyzikální alternativu k chemickému ošetření. V počátku vzniku této práce bylo v odborné literatuře publikováno pouze několik prací zaměřujících se na problematiku ošetření zemědělských plodin, resp. semen, pomocí nízkoteplotního plazmatu. V některých z nich bylo prokázáno, že vysoce reaktivní částice generované výbojem eliminují bakterie a nežádoucí houby přítomné na povrchu semen (Selcuk et al., 2008; Vleugels et al., 2005). Zároveň byly publikovány výsledky, které poukazyvaly na pozitivní vliv plazmatu na biologickou aktivitu ošetřených semen (Basaran et al., 2008; Carvalho et al., 2005).

Plazma modifikuje také povrchové vlastnosti semene (Bormashenko et al., 2012), což může vést k lepší adhezi biologické ochrany na povrchu semene nebo ke zlepšení příjmu vody semenem (Zahoranová et al., 2016). Souhrnný přehled účinků plazmatu na semena podává ve svém článku Randeniya a De Groot (2015). S ohledem na některé odborné studie je možné očekávat, že při vhodné volbě procesních parametrů bude mít ošetření plazmatem i přidanou hodnotu, která se projeví například vyšším výnosem (Zhou et al., 2011).

Biologické moření osiva využívající entomopatogenních a mykoparazitických hub může nejen ochránit semena proti půdním škůdcům a patogenům a zejména mykoparazitické houby rodu *Trichoderma* mají i pozitivní vliv na vývoj rostlin (Junges et al., 2016; Tančič et al., 2013).

Cílem této dizertační práce je posoudit možnost propojení těchto dvou přístupů do jednoho technologického postupu, který by mohl být ekologickou alternativou k chemickému moření osiv. Ošetření povrchu semen pomocí plazmového výboje totiž může změnit jeho

povrchové vlastnosti tak, že zvýší přilnavost biologické suspenze na povrchu semen. Aktivace semen pomocí plazmového výboje zároveň může vést k zvýšení jeho biologické hodnoty, což se může v konečném důsledku ekonomicky projevit zvýšením výnosu.

Práce navazuje na prvotní výzkum realizovaný na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích, ve kterém byl studován vliv plazmového ošetření merlíku (*Chenopodium album L.*) na klíčivost a životaschopnost jeho semen (Šerá et al., 2009; Šerá et al., 2008).

Realizace těchto výzkumných aktivit byla umožněna mimo jiné díky podpoře Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, projekt 094/2016/Z – „Optimalizace produkčních funkcí a environmentálních dopadů zemědělství.“

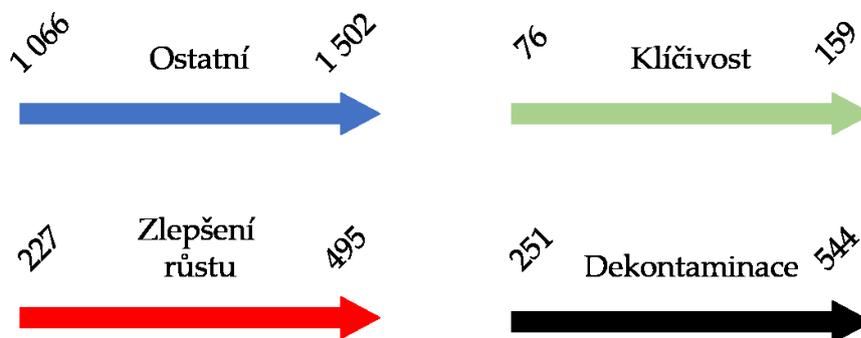
Většina výsledků pak byla dosažena v rámci projektu TAČR TA04021252 – „Vývoj zařízení pro fyzikálního ošetření semen a sladu pomocí nízkoteplotního plazmatu,“ který byl financován Technologickou agenturou České republiky a který byl řešen na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích v letech 2014 až 2017. Řešitelský tým v jeho rámci vyvinul technologii pro duální fyzikálně-biologické ošetření osiv vybraných hospodářských plodin, která byla následně uplatněna v praxi.

---

# Kapitola 1

## Rešerše literatury

Realizovaný výzkum lze charakterizovat jako výrazně mezioborový s přesahem do oblasti fyziky plazmatu, fyziologie rostlin, mikrobiologie a návrhu a konstrukce technických zařízení. Rešerše literatury je rozdělena do pěti separátních oblastí pokrývajících předmětnou problematiku tak, aby se v ní čtenář snáze orientoval. Vzhledem k dnes již značnému počtu publikací v uvedených oborech jsou v rešerši zmíněny jen ty nejvýznamnější práce úzce související s tématem dizertace. Rostoucí počet publikací vztažených k problematice využití plazmatu v zemědělství v letech 2010–2016 je zřejmý z obrázku 1.1. V uvedeném období se počet publikací téměř zdvojnásobil.

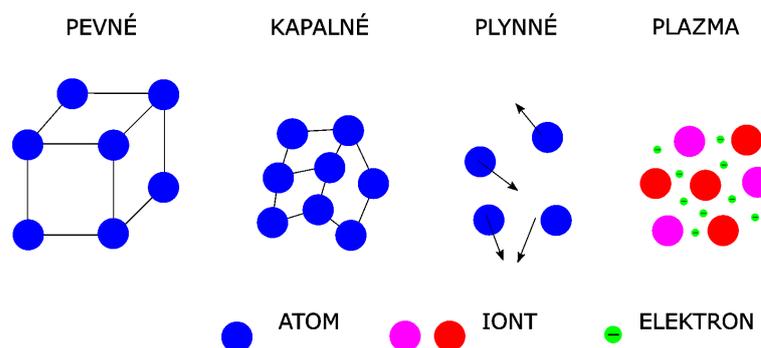


Obrázek 1.1: Vývoj počtu publikací v letech 2010–2016

### 1.1 Nízkoteplotní plazma

Hmota se na Zemi vyskytuje ve čtyřech základních skupenstvích a to ve skupenství pevném, kapalném, plynném a ve formě plazmatu (obrázek 1.2). Plazma je zpravidla označováno jako čtvrté skupenství hmoty, se kterým je možné se potkat v podobě plamene, obloukového výboje, blesku nebo např. v zářivkách či televizorech. Ačkoliv se s plazmatem v pozemských podmínkách setkáváme spíše výjimečně, z pohledu celého vesmíru představuje plazma více než 99 % veškeré hmoty. Plazma tvoří nitra hvězd, jako je naše Slunce nebo sluneční vítr (Schmiedt, 2006).

Plazmatem je označován plyn o různém stupni ionizace tvořený především elektricky nabitými částicemi (elektrony a ionty), neutrálními částicemi, částicemi v excitovaných



Obrázek 1.2: Různá skupenství hmoty

stavech a volnými radikály. V makroskopickém objemu plazmatu se musí nacházet přibližně stejné množství záporných a kladných nábojů tak, aby jako celek bylo elektricky neutrální, tzv. kvazineutrální (Chen, 1984; Smolka, 2011). Zároveň však plazma musí vykazovat kolektivní chování a mít dostatečný počet volných nosičů elektrického náboje (Kulhánek, 2011). Ne každý ionizovaný plyn je tak možno nazývat plazmatem. Mezi základní veličiny, které používáme k popisu plazmatu, patří stupeň ionizace plazmatu, teplota, koncentrace elektricky nabitých částic, hustota plynu, distribuční funkce energie jednotlivých částic nebo plazmová frekvence (Smolka, 2011).

V této dizertační práci byly použity dva typy plazmového výboje, které využívají jako pracovní plyn vzduch. Při srážkách velmi rychlých elektronů s jinými částicemi ve vzduchu mohou vznikat ionty, které mohou následně vstupovat do chemických reakcí s povrchem ošetřovaného materiálu. Tyto ionty, označované jako reaktivní částice, mohou být tvořeny jako – volné radikály, disociované molekuly, reaktivní kyslík, atomární kyslík ( $O$ ), ozón ( $O_3$ ), různé sloučeniny dusíku ( $N$ ,  $N_2$ ,  $NO_2$ ) hydroxylové radikály ( $OH\bullet$ ), ionty kyslíku, dusíku, elektrony a jiné částice (Buřler et al., 2015).

Koncentrace a charakter těchto reaktivních částic je ovlivněna složením pracovního plynu i zařízením, které je ke generování plazmatu použito. Změna složení pracovního plynu umožňuje upravit parametry plazmového výboje, který lze využít v různých technických aplikacích, jako je například modifikace povrchových struktur (Penkov et al., 2015) nebo chemické úpravy práškových materiálů (Špatenka et al., 1999). Dále je možné využít výboj pro syntézu biologicky významných nanomateriálů nebo s použitím nanomateriálů pro různé druhy biomedicínských aplikací pro zlepšení lidského zdraví (Kaushik et al., 2019; Kim et al., 2013).

Kromě reaktivních částic se pro účely technických a biomedicínských aplikací uplatňuje mechanismus působení UV záření. UV záření je elektromagnetické záření v rozmezí vlnových délek od 10 do 400 nm. Podle vlnové délky lze záření dále dělit na:

- UVA 315–400 nm – obvykle neškodné,
- UVB 280–315 nm – způsobuje akutní a chronické poškození kůže,
- UVC 280–100 nm – je součástí slunečního záření, bývá pohlceno ozónovou vrstvou a na zemský povrch nedopadá.

Plazmový výboj je doprovázen vyzařováním fotonů v UVA a UVB části spektra (Laroussi a Leipold, 2004; Scholtz et al., 2015). Výhodou přítomnosti UV záření jsou jeho sterilizační účinky (Fridman et al., 2008; Moisan et al., 2002; Stapelmann et al., 2008).

Plazmový výboj je zdrojem tepla a také toku elektricky nabitých částic (Bermudez-Aguirre et al., 2013). Intenzita těchto činitelů je podstatně závislá na řadě proměnných. Důležitou roli hraje zařízení použité ke generování plazmatu, druh generovaného výboje, složení pracovního plynu, pracovní tlak atp. Chemické reakce, které probíhají v nerovnovážném stavu plazmového výboje, mají ve většině případů rozdílný odlišný průběhu oproti reakcím v kapalinách nebo plynech. Synergie iontů a reaktivních částic společně s následnými mechanismy, které doprovázejí plazmový výboj, hraje důležitou roli v efektivitě a účinnosti procesů zaměřených například na dekontaminaci bakterií a chorob (von Keudell a Corbella, 2017).

Parametry plazmatu jsou značně variabilní a je možné je upravit změnou následujících parametrů (Bogaerts et al., 2002):

- složení pracovního plynu a jeho příměsí,
- tlak, při kterém je plazma generováno – v rozmezí 0,1 Pa až násobky atmosférického tlaku,
- charakter elektromagnetického pole – možnost urychlení částic vlivem externího elektromagnetického pole,
- parametry systému a výboje – počet, tvar a materiál použitých elektrod, průtok pracovního plynu, výkon a šířka pulsu v případě mikrovlnného výboje.

## **1.2 Vliv plazmového výboje na klíčivost semen**

První důležité studie, které uvádějí, že ošetření plazmatem způsobilo přerušování dormance u semen divokého merlíku, publikovala Šerá et al. (2009); Šerá et al. (2008). Šerá et al. (2010) uvádí, že vystavení semen účinku mikrovlnného plazmatu vedlo ke změnám metabolických procesů u ovsu a pšenice. Ošetřené a neošetřené semeno se lišilo v rozdílném obsahu fenolových sloučenin, které patří do skupiny inhibitorů klíčení. Tento poznatek indikuje průnik reaktivních částic z plazmatu skrz pórovitý povrch semen a interakci s buněčnými organismy. Sudhakar et al. (2011) pozoroval vliv ozonu, který byl generován atmosférickým koronovým výbojem, na pokles obsahu fytohormonu kyseliny abscisové, která způsobuje útlum klíčení.

Ošetření osiv různými typy plazmového výboje pozitivně ovlivňuje klíčení semen u mnoha druhů zemědělských plodin. Autoři obecně popisovali pozitivní vliv ošetření plazmatem při klíčení semen. Délka působení je jedním z nejdůležitějších dosud známých parametrů ošetření plazmatu a v závislosti na návrhu systému a napětových úrovních použitých pro generování plazmatu se může široce měnit (5 s až 30 min). Ve většině případů může kratší doba ošetření významně zlepšit parametry růstu semen, zatímco prodloužená expozice může mít inhibiční účinky na semena (Filatova et al., 2013; Henselová et al., 2012; Šerá et al., 2017). U klíčivosti semen byla ovlivněna jak doba, tak i ráznost a biochemická aktivita.

Filatova et al. (2013), Bormashenko et al. (2012) a Jiang et al. (2014) využili radiofrekvenční výboj ke zlepšení klíčivosti pšenice. Filatova zjistila, že plazmově ošetřená semena měla o 2,1 cm delší sazenice, než v případě neošetřených semen. Bormashenko pozoroval o 22 % větší klíčivost u plazmově ošetřených semen. Jiang pomocí plazmatu



zvýšil klíčivost semen o 6,7 %. Stejný typ výboje použili Filatova et al. (2011) a Carvalho et al. (2005) pro stanovení vlivu plazmatu na klíčivost různých druhů luštěnin v laboratorních, ale i polních podmínkách. Pozorované nárůsty klíčivosti byly 20 % u Filátové, respektive 30 % ve výzkumu Carvalha. Rychlejší růst sazenic a větší klíčivost byla pozorována u semen sóji vlivem radiofrekvenčního výboje (Ling et al., 2014). Klíčivost byla zvýšena o 14,66 % a růst sazenic o 63,33 %. U světlice barvířské byla urychlena klíčivost o jeden den v případě ošetření radiofrekvenčním plazmatem po dobu 130 minut (Dhayal et al., 2006).

Dubinov et al. (2000) zlepšil klíčivost a délku klíčku ovsa a ječmene pomocí doutnavého výboje. Klíčivost byla navýšena cca o 27 % u ošetřených semen. Shao et al. (2013) využil obloukový nízkotlaký výboj k ošetření semen špenátu setého. Pomocí výboje zlepšil klíčivost o 37 % v porovnání s neošetřenými semeny. Stejný výboj použil ve své práci Yin et al. (2006), který pozoroval urychlení klíčivosti o 24 hodin a zároveň o 28 % rychlejší vývoj klíčku u ošetřených semen rajského jablka oproti kontrolní variantě.

Schnabel et al. (2012) ukázal, že klíčivost ošetřených semen řepky byla v řádech procent vyšší oproti neošetřené variantě v případě použití jak nízkotlakého mikrovláknového výboje, tak i atmosférického DBD výboje. Tong et al. (2014) poukázal na urychlení klíčivosti u sazenic právenky latnaté při ošetření atmosférickým DBD výbojem po dobu 10 s. Stejného výboje využil Koga et al. (2015) k ošetření semen huseníčku rolního a pozoroval u něj urychlení klíčivosti a růstu. Tříminutové vystavení účinku plazmatu vedlo ke zrychlení růstu ve všech vývojových stádiích.

Kitazaki et al. (2014) zkoumal dlouhodobé účinky výboje typu DBD na semena ředkve seté a jejich následný růst klíčků pomocí kombinační analýzy. Výsledky ukázaly 250% nárůst délky klíčku ošetřených semen oproti kontrolním vzorkům po 3 minutovém ošetření plazmatem. Obdobně Sarinont et al. (2016) využil stejného výboje a doby ošetření ke zlepšení růstu ředkve. Nárůst délky kořínku byl neuvěřitelných 230 % délky neošetřeného semene. Park et al. (2016) ošetřil semena ječmene (*Hordeum vulgare*) povrchovým DBD výbojem za účelem zjištění vlivu biologických účinků na klíčivost osiva. Semena ječmene byla ošetřena v různých časech (0 až 80 s). Růst těchto ošetřených semen byl urychlen o 15 až 110 %. Puligundla et al. (2017) pozoroval zvýšení klíčivosti řepky cca o 7,7 % po druhém dni po ošetření koronovým výbojem. Výboj typu plasma torch významně ovlivnil klíčivost i počáteční růst ředkve seté (Hayashi et al., 2015). Tato pracovní skupina pozorovala 1,6× delší stonek a kořenový systém v případě semen ošetřených plazmatem. Zároveň došlo ke zvýšení klíčivosti z 60 % na 91 %. Větší růst připisovali vlivu kyslíkových radikálů generovaných ve výboji. Dobrin et al. (2015) prokázala, že atmosférický povrchový výboj má mírný vliv na vyšší klíčivost, ale značný vliv na růstové faktory. Plazmově ošetřená semena měla delší a těžší kořínky v porovnání s neošetřenými. Ji et al. (2016) pozoroval 15% nárůst klíčivosti semen špenátu po ošetření vysokonapětovým pulzním výbojem. V práci autora Yamashita et al. (2016) byl použit výboj typu plasma jet k ošetření výhonků ředkve. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo při aplikaci plazmového výboje po dobu 5 minut. U takto ošetřených výhonků bylo pozorováno zlepšení růstu o 40 %.

### 1.3 Vliv plazmového výboje na smáčivost a nasákavost semen

Plazma může měnit povrchové vlastnosti semene ve smyslu změny povrchového napětí a propustnosti živin a vody skrz jeho vrstvy do vnitřku semene. Nasákavost semen je klíčová pro iniciaci bobtnání a klíčení. Zároveň příjem vody hraje důležitou roli při vzházení osiva (Houba a Hosnedl, 2002). Větší příjem vody je klíčový ve stresových podmínkách, jako je sucho nebo vysoká teplota (Bormashenko et al., 2012).

Chen et al. (2012) využil nízkotlakého doutnavého výboje k ošetření zrn hnědé rýže a pozoroval nárůst příjmu vody o 5 % ve prospěch ošetřených semen. Hosseini et al. (2018) využil radiofrekvenční plazmový výboj pro ošetření artyčoku zeleninového. Expozice plazmatem zapříčinila nárůst příjmu vody o 36,9 %. Stejného výboje využila Shapira et al. (2017), která uvádí, že ošetřená semena pepře rychleji nasákávají vodu a dochází k jejich rychlejšímu ponořování ve vodě. Zároveň bylo prokázáno, že tento efekt je v čase trvalý a neměnný. Polovina plazmově ošetřených semen byla již po dvou hodinách nasákávání zcela ponořena.

Z atmosférických plazmových výbojů byl ke změnám nasákavosti a příjmu vody použit jen difúzní koplanární bariérový výboj. Stolárik et al. (2015) prokázal vyšší příjem vody u semene hrachu setého. Během prvních dvou hodin nasákávání měla plazmově ošetřená semena o 23,3 % vyšší přírůstek vody v porovnání s neošetřenými semeny. Obdobně byla prokázána vyšší nasákavost u semen pšenice ošetřených tímto typem výboje (Zahoranová et al., 2016). Po dvou hodinách nasákávání bylo zjištěno, že plazmově ošetřená semena přijímají vodu o 22 % rychleji než v případě neošetřených semen.

Nasákavost vody souvisí se změnami povrchu semene a jeho struktury. Tyto změny lze také indikovat určením smáčivosti povrchu prostřednictvím měření kontaktního úhlu (Yuan a Lee, 2013). Smáčivější povrch ve smyslu zmenšení kontaktního úhlu a vyššího povrchového napětí působí příznivě nejen pro příjem vody, ale i pro účinnější ulpění biologického preparátu. Sadhu et al. (2017) ošetřil RF plazmatem semena mungo fazolí a pozoroval o 57 % nižší kontaktní úhel mezi kapkou vody a povrchem semene vystaveného účinkům plazmatu. Stejného výboje využila ve svém výzkumu Velichko et al. (2019) a u pšenice pozorovala snížení kontaktního úhlu z hodnoty 113° na 74°. Tento jev byl výsledkem vystavení semen účinkům plazmového výboje po dobu 300 s.

Atmosférický plazmový výboj typu DBD ke změně smáčivosti využili ve svých pracích Guimarães et al. (2015), Junior et al. (2016) nebo da Silva et al. (2017). Výboje se lišily pouze v budící frekvenci. Guimarães dokázal tímto typem výboje zlepšit smáčivost semen divoké mimózy. Junior ošetřil semena *Erythrina velutina* a pozoroval nárůst absorpce vody a zároveň nižší kontaktní úhel o 48 % při aplikaci kapky destilované vody na povrch semene. Silva také pozoroval pozitivní účinky plazmatu na smáčivost při ošetření semen *Mimosa Caesalpiniaefolia*. Ošetřená semena vykazovala o 43 % menší kontaktní úhel v porovnání s neošetřenými. Medvecká et al. (2019) pomocí difúzního koplanárního výboje změnila smáčivost povrchu kukuřice, ječmene a pšenice. Kontaktní úhly mezi aplikovanou kapkou vody a povrchem semen byly zmenšeny ze 100° na 20°. Podle autorů jsou změny kontaktních úhlů způsobeny zřejmě oxidací povrchu semen reaktivními částicemi z plazmatu.

## 1.4 Ochrana semen biologickými preparáty

Hledání alternativ k chemickým pesticidům a rostoucí zájem o „ekologické“ metody produkce podnítily zvýšený vědecký vývoj biologické ochrany v průběhu posledních 30 let. V tomto období bylo dosaženo pokroku zejména díky hlubšímu pochopení mechanismů těchto činidel. Biologická ochrana je považována jako ekologická, hygienická a ekonomická forma ochrany rostlin a organismů (Hluchý a Zacharda, 1994; Tichá, 2001). Biologické ošetření je chápáno jako metoda, která navozuje cílenou ochranu rostlin a semen a spočívá v použití mikroorganismů nebo parazitoidů k potlačení škodlivých organismů, plevelů a různých chorob (Dirlbecková, 1991; Van Driesche, 1996). Ochrana využívá přirozených vztahů, které spojují organismy a jejich prostředí. Jedním ze smyslů použití je v zamezení rozsáhlého šíření škodlivých organismů a vzniku ekonomických ztrát (Prokinová, 1996).

Oproti chemické metodě ošetření rostlin nepředstavuje biologická ochrana zátěž pro životní prostředí, člověka a zvířata. Mechanismus ochrany spočívá v aplikaci dravého hmyzu k potlačení populace hmyzích škůdců. Mikrobiální patogeny slouží k redukci onemocnění u rostlin. Mezi možné metody aplikace těchto organismů patří: introdukce dravého hmyzu do prostředí, inokulace patogenů do půdy při setí nebo oslabení škůdců či patogenů (Věchet, 1991). Tyto mechanismy se provádí rovnoměrnou kolonizací půdy nebo v místě přemnožení škůdce či vyššího výskytu onemocnění.

### 1.4.1 Bio-ochrana ve formě hub

Ošetření osiva pomocí užitečných druhů hub spadá do biologické ochrany rostlin, kterou lze definovat jako „záměrné využívání přirozených nepřátel s cílem regulovat populace škůdců, patogenů a plevelných rostlin“ (Landa, 2002). Houby představují fylogeneticky diverzní skupinu mikroorganismu. Jedná se o heterotrofní eukaryota, která jsou buď jednobuněčné (kvasinky) nebo hyfální (vláknité houby). Houbové organismy se rozmnožují pohlavně (telemorfa) nebo nepohlavně (anamorfa). U takových organismů došlo během evolučního procesu k vytvoření velké škály adaptačních mechanismů, které umožňují přizpůsobení velmi diverznímu prostředí. Z evolučního hlediska představují polyfyletickou skupinu organismů, jejíž členové ale plní podobné role v ekosystému, vytvářejí důležité symbiotické vztahy s živočichy a s cévnatými rostlinami a představují převážnou většinu patogenů hospodářsky využívaných rostlin.

### 1.4.2 Mykoparazitické houby

Mykoparazitické houby jsou určeny jako ochrana před fytopatogenními houbami, které jsou původci onemocnění rostlin. Termín mykoparazitismus nebo hyperparazitismus se používá k označení vzájemných vztahů houbového parazita a hostitele houby. Pojem mykoparazit označuje houby, které mají schopnost parazitovat na jiných houbách (Barnett, 1963; Hirst, 1997). Houby mají daleko větší schopnost šíření a růstu v půdě oproti bakteriím. Jejich předností je šíření v rhizosféře pomocí aktivity hyf (Prokinová, 1996). Rozsah působení je pouze v těsné blízkosti hostitele a mykoparazita, nikoliv na větší vzdálenost (Okrouhlá, 1993).

Mykoparazitické houby parazitují na zástupcích fytopatogenních hub vyskytujících se v půdním prostředí, mezi takové patří houby rodu *Fusarium*, *Rhizoctonia* nebo *Scler-*

*rotinia*. Zároveň parazitují na patogenech, které vyvolávají onemocnění v nadzemních částech rostlin, např. na zástupcích padlí a na rzích. Např. Sejketov (1982) prokázal, že na původcích onemocnění padlí dobře parazituje houba druhu *Ampelomyces quisqualis*.

*Trichoderma virens* je polyfágní druh houby, který disponuje mykoparazitickými vlastnostmi. Vyskytuje se nejčastěji v lesních půdách a v půdách s dostatečným humusem. Prostředí, ve kterém se vyskytuje, dobře osídluje a zlepšuje supresivní vlastnosti půdy. Významnou vlastností je schopnost kolonizovat kořeny rostlin a utvářet s nimi symbiotický vztah (Howell et al., 1993). Tento druh houby je schopen aktivně potlačovat původce významných houbových onemocnění, včetně fytopatogenních druhů z rodů *Alternaria*, *Fusarium*, *Pythium*, *Sclerotinia* a *Rhizoctonia* (Okrouhlá, 1993). Zároveň přítomnost *Trichodermy virens* pozitivně ovlivňuje i zakořeňování a vývoj rostlin, ty poté reagují na přítomnost této houby i navozením stavu tzv. indukované resistance, což je stav zvýšené odolnosti proti širšímu spektru škodlivých organismů (Howell, 2006).

### 1.4.3 Entomopatogenní houby

Entomopatogenní houby jsou nejdéle známé a nejčastěji determinované mikroorganismy, které lze asociovat s hmyzem. Běžně se vyskytují v přírodě. Jsou původcem epizootie v populacích hmyzu a patří mezi významné mikroorganismy, které regulují hmyzí populaci. Mezi entomopatogenními houbami můžeme nalézt vysoce specifické druhy, které se vyskytují pouze na jednom hostiteli nebo jen v určitém stádiu u jednoho hostitele, a zároveň druhy, které napadají celou řadu druhů, rodů, čeledí nebo i vyšších systematických skupin. Mezi nejběžnější druhy hub patří rod *Aschersonia*, *Beauveria*, *Hirsutella*, *Isaria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Nomurea*, *Paecilomyces* a další (Ingliš et al., 2001).

Entomopatogenní houby parazitují na zástupcích všech řádů hmyzu. Nejčastěji jsou parazitické mykózy zjišťovány na družících patřících do řádu *Coleoptera*, *Diptera*, *Hemiptera*, *Homoptera*, *Hymenoptera*, *Lepidoptera*, *Orthoptera* a *Thysanoptera* (Butt et al., 2001; Goettel et al., 2000; Lacey et al., 2001). Významná vlastnost těchto druhů hub je jejich schopnost provést celkový vývojový cyklus na vnímavém hostiteli nebo na odumírající a degradující organické hmotě. Šíření infekčních propagulí hub je nejčastěji ovlivněno abiotickými faktory – voda, vzduch, vítr, déšť, pohyb vody v půdě.

*Metarhizium anisopliae* je široce polyfágní houba a je možné ji nalézt v půdách po celém světě. Druh *Metarhizium anisopliae* představuje účinnou prevenci před poškozením klíčících a vzcházejících rostlin hmyzími škůdci. Tato houba představuje ochranu sazenic různorodých druhů zelenin a rostlin před škůdci, kteří jsou schopni napadat kořenový systém rostlin. Mezi tyto škůdce patří např. larvy kovaříků (tzv. drátovců), lalokonosců, chroustů a chroustků, krtonožek, osenic a řada dalších (Zimmermann, 2007). Houba má široký okruh hostitelů, proti kterým je účinná – rovnokřídlí, brouci, dvoukřídlí (Bridge et al., 1993; Dromph a Vestergaard, 2002). *M. anisopliae* je hojně rozšířená v zemědělských i nezemědělských půdách a optimální teplota, ve které přežívá, leží v intervalu 25–32 °C (Ouedraogo et al., 1997).

---

## Kapitola 2

### Cíl a hypotézy práce

Hlavním cílem dizertační práce bylo komplexní posouzení možnosti využití nízkoteplotního plazmatu a biologického ošetření osiva řepky ozimé a ječmene jarního jako alternativního postupu k chemickému moření, a to v návaznosti na vyhlášku o integrované ochraně rostlin 205/2012 Sb.

Za účelem dosažení tohoto cíle byly pracovní aktivity rozděleny do čtyř dílčích tematických celků, které na sebe vzájemně navazovaly:

1. Stanovení fyzikálních parametrů plazmového výboje.
2. Využití výboje ke zvýšení hydrofility povrchu semene.
3. Vliv ošetření za pomoci plazmového výboje na klíčivost semen a růst rostliny.
4. Vývoj funkčního vzorku zařízení pro ošetření semen s následnou možností nanesení biologického preparátu.

Každá z výše uvedených oblastí umožnila nalézt odpověď na otázky, které jsou klíčové pro úspěšné dosažení cíle dizertační práce.

Dílčím cílem prvního tematického celku bylo podrobně charakterizovat stávající plazmové zařízení a stanovit rozsah použitelných fyzikálních nastavení procesu plazmování semen plodin jakožto teplotně citlivých substrátů. Jednalo se tedy především o proměření rozložení teplotního pole v plazmovém kanále v závislosti na dalších parametrech procesu.

Ve druhé části byly provedeny testy ošetření semen s ohledem na změny jejich povrchu a struktury. Byl studován především vliv na smáčivost semen a příjem vody. Zároveň byl zkoumán vliv na mikroorganismy přítomné na povrchu a sledován zdravotní stav ošetřených semen.

Ve třetí etapě byly optimalizovány podmínky ošetření semen s ohledem na jejich klíčivost. Pro experimenty bylo vybráno několik druhů semen kulturních plodin (zástupci obilovin a olejnin) a následně sledován vliv plazmového ošetření na jejich klíčivost v laboratorních podmínkách. U vybraných plodin byl poté proveden i maloparcelkový pokus (ječmen jarní) a poloprovozní polní experiment (řepka ozimá). V těchto experimentech byl sledován nejen vliv plazmového ošetření osiva, ale už i kombinace plazmového ošetření s následným nanesením biologického preparátu na výsledný výnos.

Závěrečný tematický celek byl věnován návrhu, vývoji a konstrukci funkčního vzorku poloautomatického zařízení pro ošetření semen s následnou možností nanesení biologického preparátu.

### **Výzkumné hypotézy**

Na základě cílů a metodiky práce byly stanoveny následující výzkumné hypotézy:

**Hypotéza H1:** Ošetření semen plazmovým výbojem zvyšuje smáčivost jeho povrchu.

**Hypotéza H2:** Ošetření plazmovým výbojem nesnižuje klíčivost semen.

**Hypotéza H3:** Ošetření plazmovým výbojem zvyšuje nasákávnost semen.

**Hypotéza H4:** Duální technologie ošetření semen vede ke zvýšení výnosu.

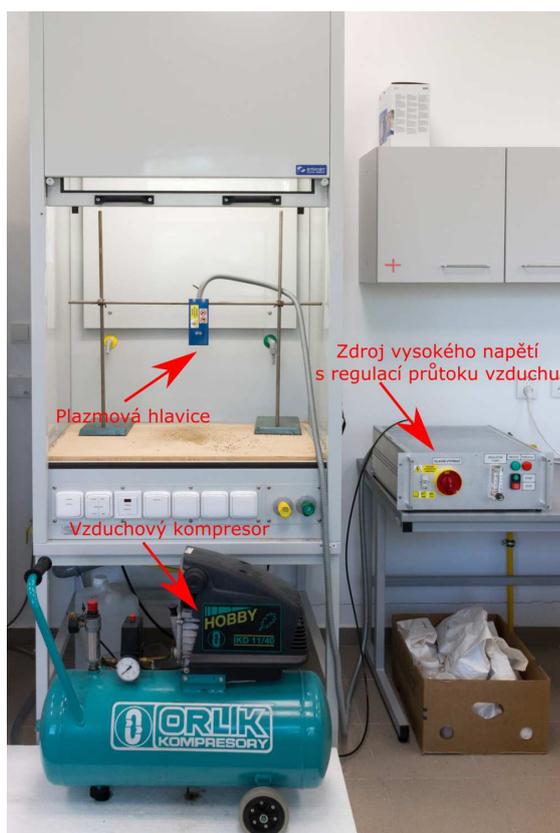
---

## Kapitola 3

### Materiál a metodika měření

#### 3.1 Aparatura pro generování výboje typu Gliding Arc

Systém pro generování výboje typu Gliding Arc je tvořen zdrojem vysokého elektrického napětí s regulací průtoku vzduchu, vzduchovým kompresorem a plazmovou hlavicí. Pohled na celý systém je zobrazen na obrázku 3.1.



Obrázek 3.1: Pohled na systém pro generování výboje typu Gliding Arc

### Zdroj vysokého napětí

Zdrojem vysokého napětí pro generování výboje je zařízení GVN1k-2011 od firmy Radan, s.r.o. Hlavní součástí zdroje je vysokonapěťový transformátor Resinblock 2000, který generuje elektrické napětí, které je následně přiváděno na elektrody v plazmové hlavici. Do zdroje je zároveň integrován rotametr FL-2008 firmy Omega, který umožňuje nastavit průtok pracovního plynu v rozmezí 0–100 SCFH<sup>1</sup>. Součástí zdroje je řídicí jednotka, která zodpovídá za stabilitu výboje. Součástí zdroje jsou také ochranné obvody, které zabraňují zapálení výboje bez dostatečného tlaku pracovního plynu s následným poškozením zařízení. Pro naše experimenty jsme využili jako pracovní plyn stlačený vzduch. Vybrané parametry plazmového zdroje jsou uvedeny v tabulce 3.1.

**Tabulka 3.1:** Parametry zdroje plazmatu typu *Gliding Arc*

Parametr	Hodnota	
Vstupní napětí/proud	230 V	4,8 A
Výstupní napětí/proud	10 kV	100 mA
Frekvence	50 Hz	
Maximální příkon	1,3 kW	
Bezpečnostní krytí	IP20	

### Plazmová hlavice

Druhou významnou komponentou celého systému je plazmová hlavice. V plazmové hlavici je generován klouzavý plazmový výboj. Hlavice má tvar kvádrů a je vyrobena z nerezové oceli. Vnitřní prostor je vybaven izolační vrstvou z polytetrafluorethylenu (PTFE), aby byl dostatečně elektricky izolován od okolního prostředí.

Elektrický výboj vzniká mezi dvojicí divergentních elektrod, přičemž výboj je iniciován v místě s minimální vzdáleností 2 mm mezi elektrodami. Následně je výbojový kanál unášen proudícím vzduchem v prostoru mezi elektrodami, čímž dojde k jeho vyfouknutí z prostoru plazmové trysky.

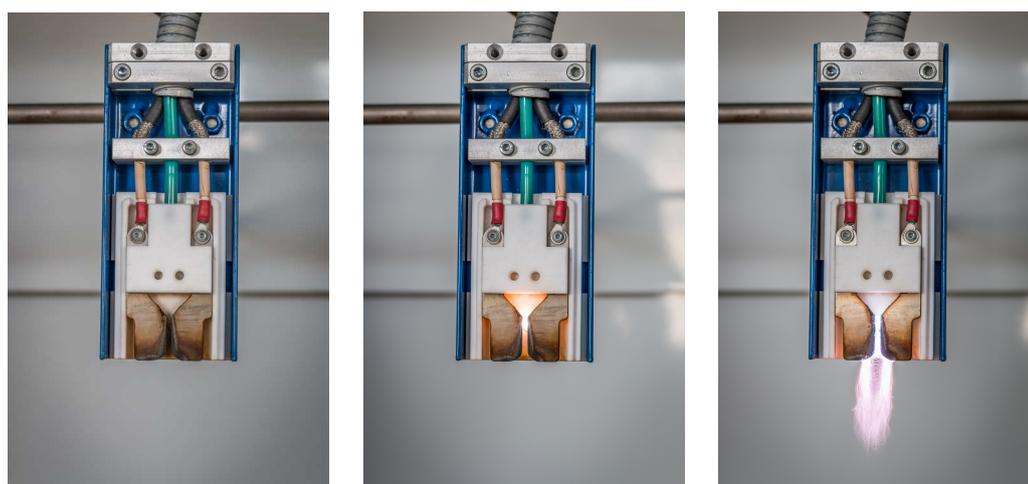
Generování výboje v plazmové hlavici probíhá v několika fázích (obrázek 3.2). Po zapnutí zdroje dochází nejprve k ionizaci vzduchu slabým napětím pro usnadnění zapálení výboje. Následná fáze představuje zapálený výboj, který je proudem vzduchu unášen mezi elektrodami až do zániku vodivého kanálu. Tento cyklus zapálení a zhasnutí výboje se velice rychle opakuje. Vybrané parametry plazmové hlavice jsou uvedeny v tabulce 3.2.

<sup>1</sup> 1 SCFH (standardní kubická stopa za hodinu) odpovídá v jednotkách SI  $0,02 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  nebo  $0,46 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$



**Tabulka 3.2:** Vybrané parametry plazmové hlavice

Parametr	Hodnota
Šířka	63 mm
Výška	150 mm
Hloubka	30 mm
Izolační materiál	PTFE
Šířka vzduchové mezery	2 mm
Materiál elektrod	nerezová ocel
Průtok pracovního plynu	10–100 $\mu\text{s}$



(a) Plazmová hlavice

(b) Předionizace vzduchu

(c) Zapálený plazmový výboj

**Obrázek 3.2:** Fotografie plazmové hlavice v různých fázích generování výboje

### Vzduchový kompresor

Třetí komponentou systému je vzduchový kompresor Orlík, který je zdrojem stlačeného vzduchu. Minimální pracovní přetlak, vyžadovaný systémem, je 600 kPa. Parametry kompresoru jsou uvedeny v tabulce 3.3.

**Tabulka 3.3:** Parametry vzduchového kompresoru

Parametr	Hodnota
Objem tlakové nádoby	45 l
Příkon	1,5 kW
Nominální tlak	600 kPa
Typové označení	IKD 11/40

### Míchací zařízení

Toto zařízení slouží k promíchávání ošetřovaných semen. Míchací zařízení zajišťuje rovnoměrné ošetření všech semen. Míchací zařízení se skládá z válcové nádoby z PVC materiálu, podstavy a motoru s převodovkou. Nádoba je upevněna k masivní železné podstavě z důvodu větší stability při otáčení motoru. Ve spodní části nádoby je míchací vrtule, která je přes hřídel a převodovku spojena se stejnosměrným motorem o elektrickém napětí 24 V a příkonu 60 W. Otáčky vrtule jsou regulovány napětím ze školního rozvaděče, přičemž nastavená hodnota elektrického napětí 20 V odpovídala frekvenci 50-ti otáček za minutu. Přehled parametrů míchacího zařízení je uveden v tabulce 3.4. Pohled na míchací zařízení je znázorněn na obrázku 3.3.

**Tabulka 3.4:** Parametry míchacího zařízení

Parametr	Hodnota
Průměr	10 cm
Výška	20 cm
Tloušťka stěny	5 mm
Elektrické napětí motoru	24 V
Příkon	60 W



**Obrázek 3.3:** Míchací zařízení

## 3.2 Použitý biologický materiál

### Ječmen jarní

Z dostupných odrůd plodiny ječmene jarního byla vybrána poloraná odrůda Francin, která má velmi dobrou odnožovací schopnost. Tato odrůda vznikla jako kříženec odrůdy Sebastián a ST3578104. Rostliny jsou středně vysokého vzrůstu, tvoří dlouhý klas středně hustý a v plné zralosti háčkující. Vyznačuje se výběrovou sladovnickou kvalitou. Je vhodná zejména k výrobě českého piva. Disponuje vysokou hodnotou HTZ 43–49 g a výnos dosahuje až 11,85 t · ha<sup>-1</sup>.

### Řepka ozimá

Z řady odrůd řepky ozimé dostupných na našem i zahraničním trhu jsme zvolili odrůdu Cortes, která je řazena mezi nízké dobře větvicí odrůdy s vysokým stupněm odolnosti vůči poléhání. Rostliny jsou nízké až středně vysoké, a vyznačují se vysokým výnosem semen. Cortes je středně raná liniová odrůda, má rychlý podzimní vývoj a výbornou pokryvnost růžice. Příznivá je vyšší hmotnost tisíce semen, která se pohybuje se od 5,8 g do 6,3 g. Obsah glukosinolátů je nízký, semena obsahují pouze stopové množství kyseliny erukové. Vyšší HTS, rychlejší podzimní vývoj a výborná pokryvnost růžice je zárukou dobře zapojeného a dobře připraveného porostu na zimní období.

### Mykoparazitické a entomopatogenní houby

Moření osiva pomocí užitečných druhů hub představuje preventivní prvek v ochraně rostlin při potlačení různých rostlinných patogenů a škůdců, kteří mohou napadnout osivo. Užitečné druhy hub zároveň chrání semeno po vysetí do půdy. Vhodnými druhy hub, které lze v rámci biologické ochrany úspěšně využít, je mykoparazitická houba *Trichoderma virens* nebo entomopatogenní houba *Metarhizium anisopliae*. Oba druhy hub jsou řadu let záměrně využívány v biologické ochraně rostlin po celém světě, přičemž zejména mykoparazitická houba *Trichoderma virens* může eliminovat patogeny z povrchu semen, resp. obilek.

Biologické ošetření (moření) semen řepky a ječmene spočívá v nanesení spor entomopatogenní houby *Metarhizium anisopliae*<sup>2</sup> a mykoparazitické houby *Trichoderma virens*<sup>3</sup> na jejich povrch.

---

<sup>2</sup> v práci byl použit kmen Man 002, ve sbírce je tento kmen označen jako Man 01

<sup>3</sup> v práci byl použit kmen Tvi 001, ve sbírce je tento kmen označen jako CCM 8732

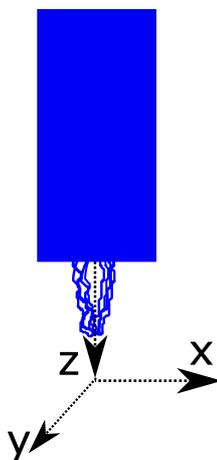
### 3.3 Charakterizace výboje

#### 3.3.1 Distribuce teplotního pole v okolí plazmového výboje typu Gliding Arc

Semena ze své podstaty představují biologický materiál, který je velice citlivý na vyšší teploty. Překročení mezní teploty může vést k nesprávnému klíčení, vzcházivosti nebo následnému vývoji rostlin. Z tohoto důvodu byla provedena detailní analýza teploty plazmového výboje v závislosti na vzdálenosti vzorku semen od plazmové hlavice a na vybraných procesních parametrech. Teplota generovaného výboje je ovlivněna také tvarem samotných elektrod a materiálem. V našich experimentech jsme použili elektrody různých tvarů a materiálu:

- nerezová elektroda obdélníkového tvaru s jedním zaobleným rohem o poloměru 3 mm a tloušťce 3 mm,
- měděná elektroda obdélníkového tvaru s jedním zaobleným rohem o poloměru 3 mm a tloušťce 3 mm,
- nerezová elektroda ve tvaru čtvrtelipsy o tloušťce 3 mm,
- nerezová elektroda ve tvaru čtvrtelipsy o tloušťce 1,5 mm.

Distribuce teplotního pole byla měřena termočlánkem s teplotní sondou Greisinger GTF 300. Teplota plynu byla měřena v ose Z (obrázek 3.4) výbojového kanálu v různých vzdálenostech od okraje plazmové hlavice při předem definovaném průtoku pracovního plynu tryskou 30 SCFH. Uvažované vzdálenosti byly v rozsahu 20 až 60 mm s krokem 10 mm. Celková doba měření pro každou variantu byla 5 minut, teplota byla zaznamenána každou sekundu s přesností 0,5 °C. Data z termočlánku byla ukládána dataloggerem OM-EL-USB-TC-LCD s USB připojením k PC. Následně byla z naměřených hodnot vypočtena průměrná teplota plynu v daném místě.



Obrázek 3.4: Pozice teplotní sondy

### 3.3.2 Měření optických spekter

Spektrometrie představuje nejjednodušší metodu, jak stanovit složení plynu a potvrdit přítomnost reaktivních částic. Přítomnost dané částice se ve spektru projeví charakteristickým zvýšením intenzity emitovaného světelného záření. Optická spektra byla získána a vyhodnocena pro atmosférický výboj typu Gliding Arc. V případě mikrovlnného plazmatu za sníženého tlaku je měření optických spekter komplikovaným procesem a v našich laboratorních podmínkách nebylo provedeno.

Optické spektrum plazmového výboje bylo získáno s využitím spektroskopu AvaSpec-ULS2048-USB2 (Avantes, Nizozemsko) – viz obrázek 3.5 (Avantes.com, 2017). Získána data byla následně analyzována softwarem AvaSoft 8. Spektroskopická sonda byla umístěna v ose plazmové hlavice ve vzdálenosti 100 mm od jejího ústí.



**Obrázek 3.5:** Přístroj na měření optických spekter AvaSpec-ULS2048-USB2

## 3.4 Laboratorní experiment

### 3.4.1 Stanovení smáčivosti povrchu semen

Jednou hypotézou této dizertační práce je, že ošetření plazmovým výbojem má za následek změny ve smáčivosti povrchu semene. V návaznosti na literární rešerši byl navržen a proveden experiment cílený na potvrzení vlivu ošetření plazmovým výbojem na povrchové napětí povrchu semene.

Smáčivost povrchu je charakterizována velikostí kontaktního úhlu mezi semínkem a kapkou vody. Velikost kontaktního úhlu je možno stanovit analýzou makrofotografie. Fotografie byly pořízeny digitálním fotoaparátem Canon EOS 70D (Canon Inc., Japonsko) s makro objektivem Canon MP-E 65 mm f/2.8 1–5× Macro Photo (Canon Inc., Japonsko). Fotoaparát byl nastaven na manuální režim s parametry: rychlost závěrky 1/20 s; clona f/16; ISO-1600; bez blesku; se zdrojem světla pro přisvětlení snímku.

Na semínko se před fotografováním nanese pipetou kapka o objemu 2,3  $\mu\text{l}$ . Pro tuto aplikaci byla použita pipeta Eppendorf Research (Eppendorf, Německo).

Stanovení smáčivosti bylo provedeno pro semena řepky a ječmene. Hodnocení kontaktních úhlů bylo provedeno vždy pro kontrolní neošetřené semeno oproti ošetřeným semenům s různými parametry procesu ošetření (doba ošetření a průtok pracovního plynu). Doba ošetření byla pro tento experiment volena 10, 30 a 60 s, průtok pracovního plynu byl 30 SCFH a 50 SCFH. Ve všech realizovaných variantách byla semena umístěna ve vzdálenosti 8 cm od ústí trysky.

Ošetření semen mikrovlnným výbojem bylo prováděno při parametrech výkonu 500 W a 800 W a doba ošetření byla 10, 30 a 60 s.

Výpočet kontaktního úhlu byl proveden průměrováním pěti naměřených hodnot. Vyhodnocení snímků proběhlo v softwaru Autodesk Inventor 2018, přičemž metodika byla převzata z publikace (Marmur et al., 2017). Metodika popisuje měření tzv. zdánlivého kontaktního úhlu, který lze jako jediný rutinně měřit. Tento kontaktní úhel popisuje „průměrný“ kontaktní úhel pro rozhraní mezi kapkou vody a povrchem semene. Na obrázku se vytvoří dva body podél povrchu semene, které tvoří tečnou přímkou protínající bod dotyku kapky vody na semeni. V tomto bodě se dále zkonstruuje tečná přímka k obvodu nanesené kapky. Měření kontaktního úhlu bylo provedeno v pěti opakováních pro eliminaci nepřesností při stanovení do sedu kapky. Na základě těchto měření byl vypočten aritmetický průměr kontaktního úhlu.

## 3.5 Metodika polních experimentů

Paralelně s laboratorními experimenty probíhaly také polní experimenty, jejichž cílem bylo posoudit vliv ošetření semen na výnosotvorné ukazatele. Tyto experimenty byly realizovány se semeny řepky ozimé a ječmene jarního ve třech po sobě následujících letech a pro různé varianty ošetření osiva. Přehled experimentů a jejich základních parametrů je uveden v tabulce 3.5.

Tabulka 3.5: Přehled experimentů

Plodina	Odrůda	Varianta	Plazma		Typ biopreparátu	Termíny		Lokalita
			Typ	Parametry		Setí	Skližeň	
Řepka	Cortes	Plazma + Biopreparát	Mikrovlnný výboj	4 min; 500 W	<i>Trichoderma virens</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i>	15.8.2014	17.7.2015	Pištín
		Plazma + Biopreparát				25.8.2015	23.7.2016	Češňovice
	Plazma + Biopreparát	17.8.2016	22.7.2017	Češňovice				
	Plazma + Biopreparát	24.3.2015	12.8.2015					
Ječmen	Francin	Plazma + Biopreparát	Atmosférický výboj	4 min; 10 cm; 30 SCFH	31.3.2016	8.8.2016	Kluky u Písku	
		Plazma + Biopreparát			29.3.2017	3.8.2017		
		Plazma + Biopreparát						

### 3.5.1 Polní experimenty – ječmen jarní

Připravené varianty byly v každém roce vysety na Zkušební stanici v Klukách u Písku. Tato zkušební stanice se nachází v bramborářské výrobní oblasti s nadmořskou výškou 460 m metrů nad mořem. GPS souřadnice pozemku 49°18,90 N, 14°15,09 E. Půda je v této lokalitě písčitohlinitá. Sedm variant ošetření bylo vyseto v náhodně rozmístěných experimentálních políčkách ve čtyřech opakováních. Plazmově ošetřená semena byla vystavena účinku plazmatu po dobu 4 minut. Výměra políček byla cca 11,3 m<sup>2</sup> (1,3 × 10 m) a jejich rovržení je znázorněno na obrázku 3.6. Agrotechnické parametry pozemku jsou uvedeny v tabulce 3.6.

**Tabulka 3.6:** Informace o polních experimentech – ječmen jarní

Rok	2015	2016	2017
Setí	24. března 2015	31. března 2016	29. března 2017
Sklizeň	12. srpna 2015	8. srpna 2016	3. srpna 2017
<b>Agrotechnické parametry</b>			
Ošetření	LAV 27 200 kg · ha <sup>-1</sup>	LAV 27 100 kg · ha <sup>-1</sup>	LAV 27 200 kg · ha <sup>-1</sup>
	Dusík 54 kg · ha <sup>-1</sup>	Močovina 200 kg · ha <sup>-1</sup>	Močovina 100 kg · ha <sup>-1</sup>
	Biplay SX 35 g · ha <sup>-1</sup>	Biplay SX 35 g · ha <sup>-1</sup>	Biplay SX 35 g · ha <sup>-1</sup>
	Starane 250EC 0,41 · ha <sup>-1</sup>	Starane 330EC 0,41 · ha <sup>-1</sup>	
	Hutton 0,81 · ha <sup>-1</sup>	Bontima 21 · ha <sup>-1</sup>	Adexar plus 21 · ha <sup>-1</sup> Decis Mega 0,151 · ha <sup>-1</sup>

CTR	Pesticid	Plazma	PI+Tvi	PI+Man	Tvi	Man
Plazma	Man	PI+Man	CTR	Tvi	Pesticid	PI+Tvi
Man	CTR	Pesticid	Tvi	PI+Tvi	Plazma	PI+Man
Pesticid	PI+Tvi	Tvi	PI+Man	Man	CTR	Plazma

**Obrázek 3.6:** Rozvržení variant na poli v letech 2015–2017



---

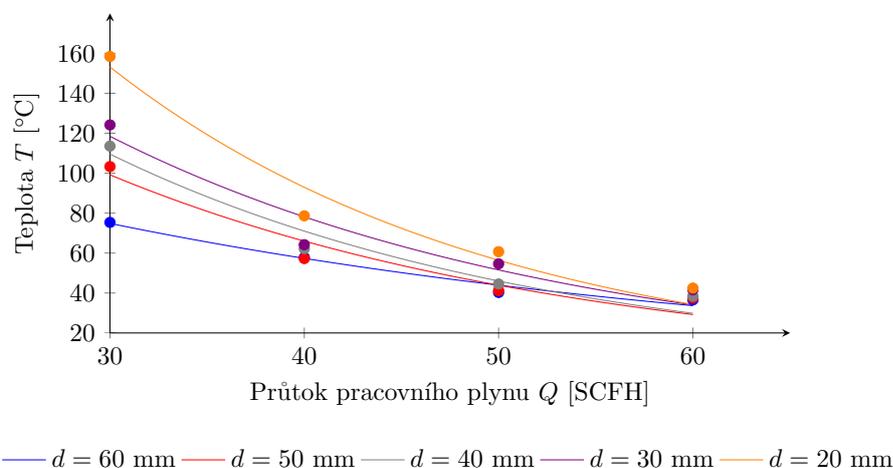
# Kapitola 4

## Vybrané výsledky

### 4.1 Charakterizace výboje

#### 4.1.1 Teplota pracovního plynu ve výbojovém kanále Gliding Arc

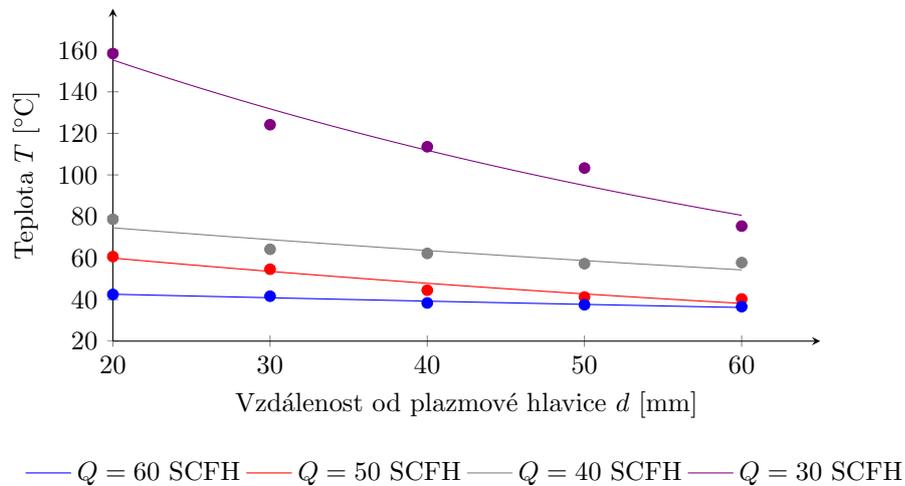
Teplota pracovního plynu byla stanovena v souladu s postupem uvedeným v metodice dizertační práce. Závislost teploty pracovního plynu na jeho průtoku a na vzdálenosti od plazmové hlavice je zobrazena na obrázcích 4.1 a 4.2.



**Obrázek 4.1:** Závislost teploty pracovního plynu na jeho průtoku pro různé vzdálenosti od plazmové trysky

Teplota pracovního plynu se snižuje s rostoucí hodnotou jeho průtoku, přičemž tento pokles je výrazný především pro nižší hodnoty průtoku. Pro vyšší hodnoty průtoku pracovního plynu je pokles výrazně menší.

Teplota pracovního plynu klesá dle očekávání také s rostoucí vzdáleností od plazmové hlavice. Výraznější snižování teploty je patrné především pro situace s malým průtokem pracovního plynu, zatímco při vyšších průtocích je pokles zanedbatelný. Maximální teplota kolem 160 °C byla měřena ve vzdálenosti 2 cm od krytu trysky a průtoku plynu 30 SCFH a se zvyšující se vzdáleností a průtokem vzduchu se teplota velmi rychle snižuje. Nao-



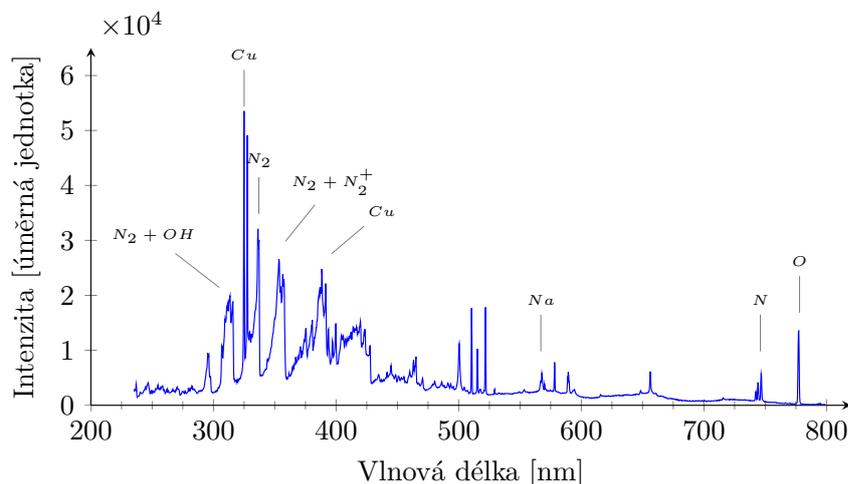
**Obrázek 4.2:** Závislost teploty pracovního plynu na vzdálenosti od plazmové hlavice pro různé průtoky

pak teplota je téměř nezávislá na vzdálenosti pro hodnoty průtoku pracovního plynu nad 60 SCFH nebo se snižuje s rostoucím průtokem plynu velmi pomalu v případě vzdálenosti 6 cm.

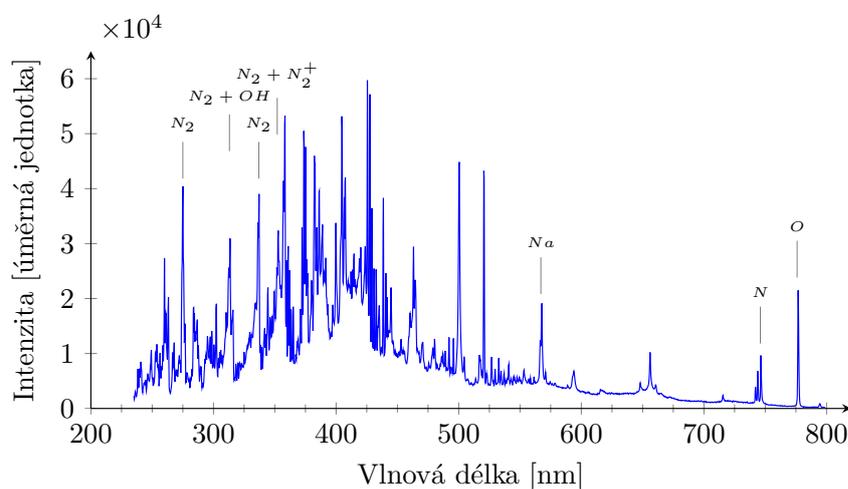
Při ošetření biologického materiálu je velmi důležitá teplota. V případě teploty vyšší než cca 63 °C může docházet k denaturaci bílkovin (Matouš, 2010). Z biologického hlediska jsou výsledky naměřených teplot pracovního plynu pozitivním zjištěním. Ve vzdálenosti 60 mm od plazmové trysky je teplota pracovního plynu dostatečně nízká, aby neovlivnila nutriční parametry (Havelka, 2019).

### 4.1.2 Stanovení optických spekter plazmového výboje

Na obrázcích 4.3 a 4.4 jsou zobrazena optická spektra výboje typu Gliding Arc při průtoku pracovního plynu 30 SCFH. Experimentálně bylo prokázáno, že hodnoty průtoku pracovního plynu významněji neovlivňují chemické složení plynu.



**Obrázek 4.3:** Optické spektrum získané pro měděné elektrody při průtoku pracovního plynu 30 SCFH



**Obrázek 4.4:** Optické spektrum získané pro nerezové elektrody při průtoku pracovního plynu 30 SCFH

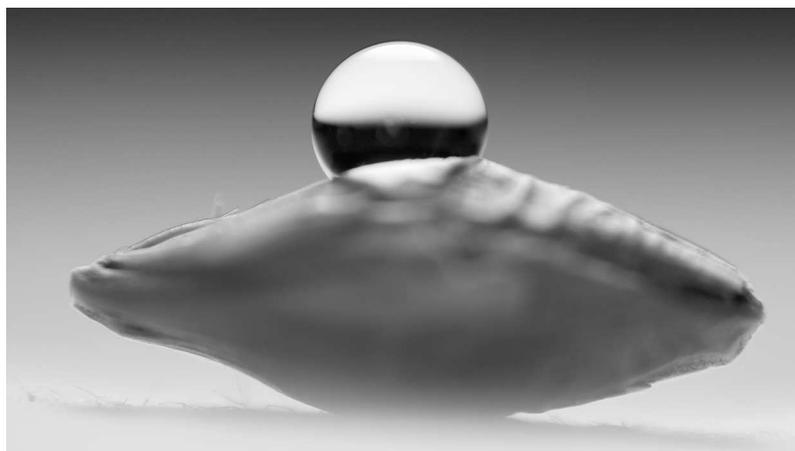
Na uvedených spektrech jsou viditelné spektrální čáry potvrzující přítomnost reaktivní částic, které jsou rozhodující pro zvyšování hydrofility povrchu semen. Výrazně jsou viditelné spektrální čáry dvouatomového dusíku  $N_2$  v oblasti UV spektra a spektrální čára atomárního kyslíku v oblasti viditelného spektra. V naměřených spektrech je také patrný vliv materiálu, ze kterého jsou elektrody vyrobeny. Spektrální čáry prokazující přítomnost reaktivních částic jsou patrné s větší intenzitou v případě nerezových elektrod, které jsou tak pro využití v praxi výhodnější.

## 4.2 Výsledky laboratorních experimentů a měření

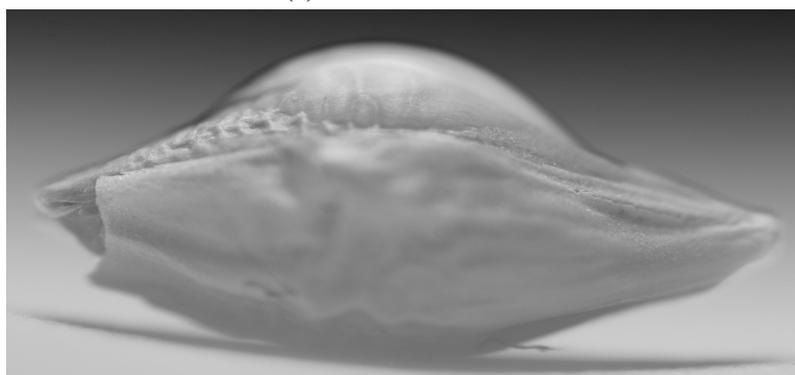
### 4.2.1 Vliv plazmového výboje na smáčivost povrchu semen

Smáčivost povrchu semen je ovlivněna nejen strukturou povrchu, ale také jeho chemickým složením. Ošetření pomocí plazmového výboje umožňuje navázat na povrch semen hydrofilní chemické skupiny, které vedou ke zvýšení jeho smáčivosti. Smáčivost povrchu je možno charakterizovat velikostí tzv. kontaktního úhlu, tj. úhlu, který je svírán mezi povrchem kapky vody a povrchem semene.

V případě neošetřeného semene je kontaktní úhel  $119^\circ$ , v případě ošetřeného je úhel pouze  $52^\circ$ . Kapka smáčí povrch ošetřeného semene daleko větší plochou (obrázek 4.5). Tento výsledek je velice důležitý pro naplnění cílů této dizertační práce, tj. zlepšení přilnavosti biologického preparátu. Menší kontaktní úhel a vyšší povrchové napětí znamenají vhodnější podmínky pro uchycení spor prospěšných hub a přispívají k rovnoměrnějšímu pokrytí celého povrchu semene sporama.



(a) Neošetřené semeno



(b) Ošetřené semeno

**Obrázek 4.5:** Makrofotografie povrchu semene ječmene s nanesenou kapkou

Provedené experimenty cílené na zjištění vlivu ošetření plazmovým výbojem na povrchové napětí povrchu semene prokázaly, že dochází ke zvýšení tohoto napětí. Tento výsledek byl potvrzen snížením naměřeného kontaktního úhlu mezi nanesenou kapkou a povrchem semene. Zjištění je v souladu s předešlými vědeckými publikacemi, které zmiňují snížení kontaktního úhlu při ošetření semen plazmovým výbojem (da Silva et al., 2017; Guimarães

et al., 2015; Junior et al., 2016). Dále bylo prokázáno, že hodnoty kontaktních úhlů nejsou významněji ovlivněny použitými procesními parametry plazmového výboje. Podobné výsledky poukazují i publikace autorů Sadhu et al. (2017) a Medvecká et al. (2019), kteří analogicky využili plazmových výbojů ke snížení kontaktních úhlů u různých plodin. Na základě výsledků je pak možno konstatovat, že plazmový výboj lze použít ke snížení smáčivého úhlu u vybraných druhů semen.

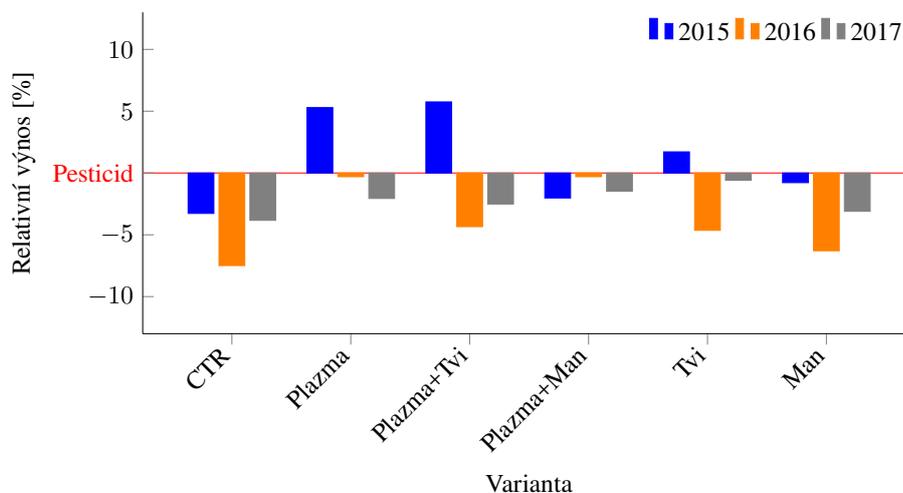
## 4.3 Polní experimenty

### 4.3.1 Polní experimenty se semeny ječmene jarního

Výnosy semen ječmene jarního v jednotlivých variantách stanovených během pokusů realizovaných v letech 2014 až 2017 jsou uvedeny v tabulce 4.1. V tabulce 4.6 jsou vypočteny relativní výnosy v jednotlivých letech v porovnání s variantou „Pesticid“. V porovnání s hodnotami, které byly získány pro semena řepky ozimé, jsou výsledky získané pro různé varianty ošetření semen ječmene jarního výrazně méně rozkolísané. Již na první pohled je možno konstatovat, že vliv ošetření semen na výnos plodiny není možné v žádném z uvedených let jednoznačně prokázat. Pohled na klasy ječmene rostlin z různých variant je na obrázku 4.7.

**Tabulka 4.1:** Porovnání výnosu ječmene jarního v letech 2015–2017

Varianta	Výnos rostlin [ $t \cdot ha^{-1}$ ]		
	2015	2016	2017
Kontrola	6,22	6,18	6,52
Pesticid	6,43	6,68	6,78
Plazma	6,77	6,66	6,64
Plazma+Tvi	6,80	6,39	6,61
Plazma+Man	6,30	6,66	6,68
Tvi	6,54	6,37	6,74
Man	6,38	6,26	6,57



**Obrázek 4.6:** Relativní výnos jednotlivých variant ošetření ječmene jarního vzhledem k chemické ochraně



**Obrázek 4.7:** *Porovnání klasů ječmene jarního u různých variant ošetření*

---

## Závěr

V předložené dizertační práci jsou prezentovány vybrané výsledky experimentů, jejichž cílem bylo posoudit možnost využití nízkoteplotního plazmatu a biologického ošetření k ošetření osiva řepky ozimé a ječmene jarního jako alternativního postupu k chemickému moření. Z rešerše literatury, která byla provedena před zahájením studia, bylo zřejmé, že plazmové technologie mohou být pro tento účel velmi vhodným nástrojem, který by mohl konkurovat metodám využívaným v současnosti.

Během doktorského studia se podařilo dosáhnout všech vytyčených cílů. V rámci práce se podařilo charakterizovat plazmové aparatury, které byly pro experimenty využívány. Zároveň bylo experimentálně prokázáno, že plazmový výboj zvyšuje smáčivost povrchu vybraných zemědělských plodin. Získané údaje mohou pro svou práci využít pracovní skupiny, které budou na tuto dizertační práci navazovat.

Na základě výsledků prezentovaných v dizertační práci je možno konstatovat:

- platnost hypotézy 1 byla provedenými experimenty **potvrzena**,
- platnost hypotéz 2–4 byla provedenými experimenty **zamítnuta**.

Samostatnou kapitolu tvoří získané poznatky při experimentálním vývoji systému pro kontinuální ošetření semen. Výsledkem těchto aktivit je funkční vzorek zařízení, které se skládá ze systému šesti plazmových trysek se zdroji umístěnými v centrálním racku, pásového dopravníku, dávkovače krmiva a navazující linkou pro biologické ošetření tvořenou šroubovým dopravníkem a zásobníkem na ošetřené osivo. Funkční zařízení je možno úspěšně využít k ošetření vybraných plodin.

Na závěr je možné konstatovat, že plazmové technologie mají potenciál pro nahrazení současných postupů při ošetření zemědělských plodin, nicméně k dosažení očekávaných výsledků je ještě potřeba realizovat další rozsáhlý výzkum.



## Seznam literatury

- Avantes.com (2017). [online]. [cit. 2019-02-03], Dostupné z: <https://www.avantes.com/products/spectrometers/starline/item/304-avaspec-uls20481-starline-versatile-fiber-optic-spectrometer>.
- Barnett, H. L. (1963). The Nature of Mycoparasitism by Fungi. *Annual Review of Microbiology*, 17(1):1–14.
- Basaran, P., Basaran-Akgul, N., a Oksuz, L. (2008). Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment. *Food Microbiology*, 25(4):626 – 632.
- Bermudez-Aguirre, D., Wemlinger, E., Pedrow, P., Barbosa-Cánovas, G., a Garcia-Perez, M. (2013). Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. *Food Control*, 34:149–157.
- Bogaerts, A., Neyts, E., Gijbels, R., a Mullen, van der, J. (2002). Gas discharge plasmas and their applications. *Spectrochimica Acta. Part B : Atomic Spectroscopy*, 57(4):609–658.
- Bormashenko, E., Grynyov, R., Bormashenko, Y., a Drori, E. (2012). Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Scientific reports*, 2:741–74.
- Bridge, P. D., Williams, M. A. J., Prior, C., a Paterson, R. R. M. (1993). Morphological, biochemical and molecular characteristics of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Microbiology*, 139(6):1163–1169.
- Bußler, S., Herppich, W. B., Neugart, S., Schreiner, M., Ehlbeck, J., Rohn, S., a Schlüter, O. (2015). Impact of cold atmospheric pressure plasma on physiology and flavonol glycoside profile of peas (*Pisum sativum* ‘Salamanca’). *Food Research International*, 76:132–141. Grain legumes - Science, Technology and Impacts on Human Health.
- Butt, T. M., Jackson, C., a Magan, N., editors (2001). *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing. ISBN: 9780851993560.
- Callan, N. W., Mathre, D. E., a Miller, J. B. (1990). Bio-priming seed treatment for biological control of *Pythium ultimum* preemergence damping-off in sh2 sweet corn. *Plant Disease*, 74(5):368–372.
- Carvalho, R. A. M., Carvalho, A. T., Silva, M. L. A. P. d., Demarquette, N. R., a Assis, O. A.-I. B. G. (2005). Use of thin films obtained by plasma polymerization for grain protection and germination enhancement. *Química Nova*, 28:1006–1009.

- Chen, F. F. (1984). *Introduction to Plasma Physics and Controlled Fusion*, volume I. Springer, Boston, MA. ISBN: 978-1-4419-3201-3.
- Chen, H. H., Chen, Y. K., a Chang, H. C. (2012). Evaluation of physicochemical properties of plasma treated brown rice. *Food Chemistry*, 135(1):74–79.
- da Silva, A., Farias, M., da Silva, D., Vitoriano, J., de Sousa, R., a Alves-Junior, C. (2017). Using atmospheric plasma to increase wettability, imbibition and germination of physically dormant seeds of *Mimosa Caesalpiniaefolia*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 157:280 – 285.
- Dhayal, M., Lee, S.-Y., a Park, S.-U. (2006). Using low-pressure plasma for *Carthamus tinctorium* L. seed surface modification. *Vacuum*, 80(5):499 – 506.
- Dirlbecková, O. (1991). *Biologické zdroje pro mechanickou ochranu rostlin I. Deuteromycetes, Beauveria bassiana*. ÚVTIZ.
- Dobrin, D., Magureanu, M., Mandache, N. B., a Ionita, M.-D. (2015). The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29:255–260.
- Dromph, K. M. a Vestergaard, S. (2002). Pathogenicity and attractiveness of entomopathogenic hyphomycete fungi to collembolans. *Applied Soil Ecology*, 21(3):197 – 210.
- Dubinov, A. E., Lazarenko, E. R., a Selemir, V. D. (2000). Effect of glow discharge air plasma on grain crops seed. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 28(1):180–183.
- Filatova, I., Azharonok, V., Kadyrov, M., Beljavsky, V., Gvozdov, A., Shik, A., a Antonuk, A. (2011). The effect of plasma treatment of seeds of some grain and legumes on their sowing quality and productivity. *Romanian Reports of Physics*, 56(SUPPL.):139–143.
- Filatova, I., Azharonok, V., Lushkevich, V., Zhukovsky, A., Gadzhieva, G., a Spasi, K. (2013). Plasma seeds treatment as a promising technique for seed germination improvement. *31st ICPIG*, pages 4–7.
- Fridman, G., Friedman, G., Gutsol, A., Shekhter, A. B., Vasilets, V. N., a Fridman, A. (2008). Applied Plasma Medicine. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6):503–533.
- Goettel, M. S., Inglis, G. D., a Wraighr, S. P. (2000). Fungi. In Lacey, L. A. a Kaya, H. K., editors, *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*, pages 255–282. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. ISBN: 978-94-017-1547-8.
- Guimarães, I., Alves Jr., C., Torres, S., Vitoriano, J., Dantas, N., a Diogenes, F. (2015). Double barrier dielectric plasma treatment of leucaena seeds to improve wettability and overcome dormancy. *Seed Science and Technology*, 43(3):526–530.
- Havelka, Z. (2019). *Využití plazmových technologií ke zlepšení kvality krmiv*. PhD thesis, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.

- Hayashi, N., Ono, R., Shiratani, M., a Yonesu, A. (2015). Antioxidative activity and growth regulation of Brassicaceae induced by oxygen radical irradiation Antioxidative activity and growth regulation of Brassicaceae induced by oxygen radical irradiation. *Japanese Journal of Applied Physics*, 6S2(54):06GD01.
- Henselová, M., Slováková, L., Martinka, M., a Zahoranová, A. (2012). Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma. *Biologia*, 67(3):490–497.
- Hirst, J. M. (1997). Ainsworth and Bisby's: Dictionary of the Fungi. Eighth Edition By D. L. Hawksworth, P. M. Kirk, B. C. Sutton and D. N. Pegler. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL (1995), pp. 616, (Americas only). *Experimental Agriculture*, 33(2):247–252. ISBN: 0-85198-885-7.
- Hluchý, M. a Zacharda, M. (1994). *Prostředky a systémy biologické ochrany rostlin*. Brno: Biocont Laboratory. ISBN: 80-901874-0-4.
- Hosseini, S. I., Mohsenimehr, S., Hadian, J., Ghorbanpour, M., a Shokri, B. (2018). Physico-chemical induced modification of seed germination and early development in artichoke (*Cynara scolymus L.*) using low energy plasma technology. *Physics of Plasmas*, 25(1).
- Houba, M. a Hosnedl, V. (2002). *Osivo a sadba*. Ing. Martin Sedláček. ISBN: 80-902413-6-0.
- Howell, C. R. (2006). Understanding the Mechanisms Employed by *Trichoderma virens* to Effect Biological Control of Cotton Diseases. *Phytopathology*, 96(2):178–180. PMID: 18943921.
- Howell, C. R., Stipanovic, R. D., a Lumsdem, R. D. (1993). Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 3:435–441.
- Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M., a Strasser, H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In Butt, T. M., Jackson, C., a Magan, N., editors, *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential.*, pages 23–69. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Ji, S. H., Choi, K. H., Pengkit, A., Im, J. S., Kim, J. S., Kim, Y. H., Park, Y., Hong, E. J., kyung Jung, S., Choi, E. H., a Park, G. (2016). Effects of high voltage nanosecond pulsed plasma and micro DBD plasma on seed germination, growth development and physiological activities in spinach. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605:117–128.
- Jiang, J., He, X., Li, L., Li, J., Shao, H., Xu, Q., Ye, R., a Dong, Y. (2014). Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat. *Plasma Science and Technology*, 16(1):54–58.
- Junges, E., Muniz, M. F. B., de Oliveira Bastos, B., a Oruoski, P. (2016). Biopriming in bean seeds. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 66(3):207–214.

- Junior, C. A., De Oliveira Vitoriano, J., Da Silva, D. L. S., De Lima Farias, M., a De Lima Dantas, N. B. (2016). Water uptake mechanism and germination of *Erythrina velutina* seeds treated with atmospheric plasma. *Scientific Reports*, 6(September):1–7.
- Kaushik, N., Kaushik, N., Linh, N., Ghimire, B., Pengkit, A., Sornsakdanuphap, J., Lee, S.-J., a Choi, E. (2019). Plasma and Nanomaterials: Fabrication and Biomedical Applications. *Nanomaterials*, 9(1):98.
- Kim, G. C., Lee, H. W., Byun, J. H., Chung, J., Jeon, Y. C., a Lee, J. K. (2013). Dental applications of low-temperature nonthermal plasmas. *Plasma Processes and Polymers*, 10(3):199–206.
- Kitazaki, S., Sarinont, T., Koga, K., Hayashi, N., a Shiratani, M. (2014). Plasma induced long-term growth enhancement of *Raphanus sativus L.* using combinatorial atmospheric air dielectric barrier discharge plasmas. *Current Applied Physics*, 14(SUPPL. 2):S149–S153.
- Koga, K., Thapanut, S., Amano, T., Seo, H., Itagaki, N., Hayashi, N., a Shiratani, M. (2015). Simple method of improving harvest by nonthermal air plasma irradiation of seeds of *Arabidopsis thaliana(L.)*. *Applied Physics Express*, 9(1):016201.
- Kulhánek, P. (2011). *Úvod do teorie plazmatu*. AGA, Praha, 1st edition. ISBN: 978-80-904582-2-2.
- Lacey, L., Frutos, R., Kaya, H., a Vail, P. (2001). Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? *Biological Control*, 21(3):230 – 248.
- Landa, Z. (2002). Biologická ochrana zahradních rostlin proti chorobám a škůdcům v polních podmínkách, ve sklenících a fóliovnících. In Demo, M. a Hričovský, I., editors, *Trvalo udržatelné technologie v záhradnictve*, pages 225–280. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.
- Laroussi, M. a Leipold, F. (2004). Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. *International Journal of Mass Spectrometry*, 233(1-3):81–86.
- Ling, L., Jiafeng, J., Jiangang, L., Minchong, S., Xin, H., Hanliang, S., a Yuanhua, D. (2014). Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific reports*, 4(5859):1–7.
- Marmur, A., Della Volpe, C., Siboni, S., Amirfazli, A., a Drelich, J. W. (2017). Contact angles and wettability: towards common and accurate terminology. *Surface Innovations*, 5(1):3–8.
- Matouš, B. (2010). *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha, 1. st edition. ISBN: 978-80-7262-702-8.
- Medvecká, V., Mošovská, S., Tóthová, K., Mikulajová, A., Zahoran, M., a Zahoranová, A. (2019). Low-temperature plasma treatment of selected cereals. In *22nd Symposium on Application of Plasma Processes and 11th EU-Japan Joint Symposium on Plasma Processing*, pages 244–248. ISBN: 978-80-8147-089-9.

- Moisan, M., Barbeau, J., Crevier, M.-c., Pelletier, J., Philip, N., a Saoudi, B. (2002). Plasma sterilization. Methods and mechanisms. *Pure and Applied Chemistry*, 74(3):349–358.
- Okrouhlá, M. (1993). *Biologické zdroje pro nechemickou ochranu rostlin*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.
- Ouedraogo, A., Fargues, J., Goettel, M., a Lomer, C. (1997). Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathologia*, 137(1):37–43.
- Park, Y., Suk Oh, K., Oh, J., Chan Seok, D., Bong Kim, S., Jae Yoo, S., a Lee, M. (2016). The biological effects of surface dielectric barrier discharge on seed germination and plant growth with barley. *Plasma Processes and Polymers*, 15.
- Penkov, O. V., Khadem, M., Lim, W.-S., a Kim, D.-E. (2015). A review of recent applications of atmospheric pressure plasma jets for materials processing. *Journal of Coatings Technology and Research*, 12(2):225–235.
- Prokinová, E. (1996). *Biologická ochrana proti houbovým chorobám rostlin*. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací.
- Puligundla, P., Kim, J. W., a Mok, C. (2017). Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus L.*) seeds. *Food Control*, 71:376–382.
- Randeniya, L. K. a De Groot, G. J. J. B. (2015). Non-Thermal Plasma Treatment of Agricultural Seeds for Stimulation of Germination, Removal of Surface Contamination and Other Benefits: A Review. *Plasma Processes and Polymers*, 12(7):608–623.
- Rebek, E. J., Frank, S. D., Royer, T. A., a Bográn, C. E. (2012). Alternatives to Chemical Control of Insect Pests. In Soloneski, S. a Larramendy, M., editors, *Insecticides*, chapter 9. IntechOpen, Rijeka.
- Sadhu, S., Thirumdas, R., Deshmukh, R. R., a Annapure, U. S. (2017). Influence of cold plasma on the enzymatic activity in germinating mung beans (*Vigna radiate*). *LWT – Food Science and Technology*, 78:97–104.
- Sarinont, T., Amano, T., Attri, P., Koga, K., Hayashi, N., a Shiratani, M. (2016). Effects of plasma irradiation using various feeding gases on growth of *Raphanus sativus L.* *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 605:129–140.
- Schmiedt, L. (2006). Úvod do fyziky plazmatu. [online]. [cit. 2016-06-09], Dostupné z: <http://atrey.karlin.mff.cuni.cz/řmarble/d/?p=0>.
- Schnabel, U., Niquet, R., Krohmann, U., Winter, J., Schlüter, O., Weltmann, K. D., a Ehlbeck, J. (2012). Decontamination of microbiologically contaminated specimen by direct and indirect plasma treatment. *Plasma Processes and Polymers*, 9(6):569–575.
- Scholtz, V., Pazlarova, J., Souskova, H., Khun, J., a Julak, J. (2015). Nonthermal plasma – A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnology Advances*, 33(6):1108–1119.

- Sejketov, G. S. (1982). *Griby roda Trichoderma ich ispolzovanie v praktike*. Kazachskoj SSSR, Alma-Ata.
- Selcuk, M., Oksuz, L., a Basaran, P. (2008). Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* by cold plasma treatment. *Bioresource Technology*, 99(11):5104–5109.
- Shao, C., Wang, D., Tang, X., Zhao, L., a Li, Y. (2013). Stimulating effects of magnetized arc plasma of different intensities on the germination of old spinach seeds. *Mathematical and Computer Modelling*, 58(3-4):808–812.
- Shapira, Y., Multanen, V., Whyman, G., Bormashenko, Y., Chaniel, G., Barkay, Z., a Bormashenko, E. (2017). Plasma treatment switches the regime of wetting and floating of pepper seeds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 157:417–423.
- Smolka, P. (2011). *Definice plazmatu, základní charakteristiky plazmatu*. Special Nutrients, inc. [cit. 2019-20-01], Dostupné z: [http://ufmi.ft.utb.cz/texty/plazmochemie/PCH\\_02.pdf](http://ufmi.ft.utb.cz/texty/plazmochemie/PCH_02.pdf).
- Šerá, B., Šerý, M., Gavril, B., a Gajdova, I. (2017). Seed Germination and Early Growth Responses to Seed Pre-treatment by Non-thermal Plasma in Hemp Cultivars (*Cannabis sativa L.*). *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 37(1):207–221.
- Šerá, B., Šerý, M., Štraňák, V., Špatenka, P., a Tichý, M. (2009). Does Cold Plasma Affect Breaking Dormancy and Seed Germination? A Study on Seeds of Lamb's Quarters (*Chenopodium album agg.*). *Plasma Science and Technology*, 11(6):750–754.
- Šerá, B., Špatenka, P., Šerý, M., Vrchotová, N., a Hrušková, I. (2010). Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 38(10):2963–2968.
- 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*, 10:506–511.
- Špatenka, P., Endres, H.-J., Krumeich, J., a Cook, R. (1999). Process control of plasma polymerization in a large industrial reactor. *Surface and Coatings Technology*, 116–119:1228–1232.
- Stapelmann, K., Kylián, O., Denis, B., a Rossi, F. (2008). On the application of inductively coupled plasma discharges sustained in Ar/O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> ternary mixture for sterilization and decontamination of medical instruments. *Journal of Physics D-applied Physics*, 41.
- Stolárik, T., Henselová, M., Martinka, M., Novák, O., Zahoranová, A., a Černák, M. (2015). Effect of Low-Temperature Plasma on the Structure of Seeds, Growth and Metabolism of Endogenous Phytohormones in Pea (*Pisum sativum L.*). *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 35(4):659–676.
- Sudhakar, N., Nagendra-Prasad, D., Mohan, N., Hill, B., Gunasekaran, M., a Murugesan, K. (2011). Assessing Influence of Ozone in Tomato Seed Dormancy Alleviation. *American Journal of Plant Sciences*, 02.

- Tančić, Z. S., Skrobonja, J., Lalošević, M., Jevtić, R., a Vidić, M. (2013). Impact of *Trichoderma spp.* on Soybean Seed Germination and Potential Antagonistic Effect on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Pesticides & Phytomedicine*, 28:181–185.
- Tichá, K. (2001). *Biologická ochrana rostlin*. Grada. ISBN: 8024790432.
- Tong, J., He, R., Zhang, X., Zhan, R., Chen, W., a Yang, S. (2014). Effects of Atmospheric Pressure Air Plasma Pretreatment on the Seed Germination and Early Growth of *Andrographis paniculata*. *Plasma Science and Technology*, 16(3):260–266.
- Van Driesche, R. (1996). Biological Control: Benefits and Risks. Edited by H.M.T. Hokkanen and J.M. Lynch. 1995. Cambridge University Press, 40 W. 20th St., New York, NY 10011-4211. xxii 304 pp. , hardcover. *American Journal of Alternative Agriculture*, 11(2-3):132–133.
- Věchet, L. (1991). *Řízení ochranných zásahů proti houbovým chorobám zemědělských plodin*. Studie VTR.
- Velichko, I., Gordeev, I., Shelemin, A., Nikitin, D., Brinar, J., Pleskunov, P., Choukourov, A., Pazderů, K., a Pulkrábek, J. (2019). Plasma Jet and Dielectric Barrier Discharge Treatment of Wheat Seeds. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 39(4):913–928.
- Vleugels, M., Shama, G., Deng, X., Greenacre, E., Brocklehurst, T., a Kong, M. (2005). Atmospheric plasma inactivation of biofilm-forming bacteria for food safety control. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 33(2):824–828.
- von Keudell, A. a Corbella, C. (2017). Review Article: Unraveling synergistic effects in plasma-surface processes by means of beam experiments. *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, 35(5):050801.
- Vyhláška č. 205/2012 Sb. (2012). Vyhláška o obecných zásadách integrované ochrany rostlin. [online]. [cit. 2019-20-01], Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-205>.
- Yamashita, K., Ohta, T., Ito, M., a Hori, M. (2016). Growth enhancement of sprout using plasma-treated water. In *8th International Symposium on Advanced Plasma Science and its Applications for Nitrides and Nanomaterials/9th International Conference on Plasma-Nano Technology and Science (ISPlasma2016-IC-PLANTS2016)*, Nagoya University, Nagoya, Japan.
- Yin, M., Huang, M., Ma, B., a Ma, T. (2006). Stimulating Effects of Seed Treatment by Magnetized Plasma on Tomato Growth and Yield. *Plasma Science and Technology*, 7:3143.
- Yuan, Y. a Lee, T. R. (2013). Contact Angle and Wetting Properties. In Bracco, G. a Holst, B., editors, *Surface Science Techniques*, pages 3–34. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Zahoranová, A., Henselová, M., Hudecová, D., Kaliňáková, B., Kováčik, D., Medvecká, V., a Černák, M. (2016). Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on the Wheat Seedlings Vigor and on the Inactivation of Microorganisms on the Seeds Surface. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 36(2):397–414.

Zhou, Z., Huang, Y., Yang, S., a Chen, W. (2011). Introduction of a new atmospheric pressure plasma device and application on tomato seeds. *Agricultural Sciences*, 02(01):23–27.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(9):879–920.