

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ

Lesnická a dřevařská fakulta

*Ústav zakládání a pěstění lesů*

**Eliminace neproduktivních semen borovice lesní  
(*Pinus sylvestris* L.) v oddíle osiva**

Bakalářská práce

2016/2017

Ondřej Vrba

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Eliminace neproduktivních semen borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) v oddíle osiva vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V                    dne

Tímto bych chtěl velice poděkovat vedoucí bakalářské práce, paní Ing. Kateřině Houškové, Ph.D., za pomoc po celou dobu tvorby práce, vedení správnými cestami a hrazení cest nevhodných, a především za její ochotu, trpělivost a věnovaný čas ke kontrolování práce. Nelze také zapomenout na neskutečnou podporu rodiny po celou dobu studia, díky čemuž mohla tato práce vůbec vzniknout. Také směřuje dík pánům z Podcasteru za možnost uvolnění mysli ve chvílích nouze.

## **Eliminace neproduktivních semen borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) v oddíle osiva**

Abstrakt: Cílem práce bylo otestovat podmínky IDS (Incubation-drying-separation), tak aby bylo možno eliminovat mrtvá a prázdná semena z vybraného oddílu osiva borovice lesní (*Pinus sylvestris*). Byly použity různé podmínky metody IDS a různé délky jednotlivých etap metody, s cílem odstranit neproduktivní osivo. Po rozdělení semen na produktivní a neproduktivní, byly obě frakce podrobeny zkoušce klíčivosti, pro ověření účinnosti metody. Nejlepší výsledky z prvního měření byly následně použity pro měření následující, s upravenými podmínkami inkubace a sušení semen. Díky získaným výsledkům měření, byla nastavena nejvhodnější metodika pro další testování a naopak také metody neperspektivní.

Klíčová slova: klíčivost, metoda IDS, osivo borovice lesní

## **Elimination of unproductive Scots pine seeds (*Pinus sylvestris* L.) in seed section**

Abstract: The objective of this thesis was to test conditions of IDS (Incubation-drying-separation) in order to eliminate dead and empty seeds from the selected section of Scots pine (*Pinus sylvestris*). Different conditions of the IDS and different lengths of the individual stages of the method were used to remove non-productive seeds. After separating the seeds into productive and non-productive categories, both groups were subjected to the tests of germination to verify the effectiveness of the method. The best results from the first measurement were used for subsequent measurement with adjusted conditions for incubation and seed drying. Thanks to the results of the measurements, the most suitable methodology for further testing was set up as optimal to the other inadequate methods.

Key words: germination rate, IDS method, Scots pine seeds

## **OBSAH:**

<b>1. ÚVOD A CÍL PRÁCE</b>	<b>6</b>
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED</b>	<b>7</b>
2.1 Kvalita reprodukčního materiálu	7
2.2 LČR s.p., Semenářský závod Týniště nad Orlicí	7
2.3 Eliminace neproduktivních semen	8
2.3.1 Metody odstranění neproduktivních semen	9
2.3.2 Využití metody IDS	10
2.3.3 Metoda IDS v praxi	13
<b>3. METODY A MATERIÁL</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Materiál</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Metody</b>	<b>20</b>
3.2.1 Energie klíčení a klíčivost	20
3.2.2 Zjišťování obsahu vody	21
3.2.3 Vlastní měření metodou IDS	21
3.2.3.1 Úprava vlhkosti před inkubací	22
3.2.3.2 Povrchové osušení	22
3.2.3.3 Podmínky inkubace	22
3.2.3.4 Sušení osiva	23
3.2.3.5 Plavení osiva	24
<b>4. VÝSLEDKY</b>	<b>27</b>
4.1 Zkouška klíčivosti osiva	27
4.2 Zjišťování obsahu vody	28
4.3 Vlastní ověřování metody IDS	29
<b>5. DISKUZE</b>	<b>37</b>
<b>6. ZÁVĚR</b>	<b>40</b>
<b>7. SUMMARY</b>	<b>41</b>
<b>8. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY</b>	<b>42</b>

## 1. ÚVOD A CÍL PRÁCE

Téma práce rozebírá problematiku spojenou s obsahem neproduktivních semen v oddílech osiva používaných při síji. Hlavní myšlenkou tedy bylo získat vhodné osivo pro zakládání kvalitních porostů, bez negativních aspektů vyvolaných použitím nekvalitního osiva. Na kvalitě a použití vhodného osiva závisí množství a intenzita péče, kterou je založenému porostu nutno věnovat. S nekvalitním osivem, je zde značné riziko vysoké mortality semenáčků. Dalším důvodem byl závazek získání nových dat pomocí metody IDS a jejich poskytnutí Semenařskému závodu v Týništi nad Orlicí, který poskytl osivo použité při výzkumu, pro další zpracování.

Cílem této práce tedy bylo, pomocí nenáročné metody, získat co nejkvalitnější osivo, především co se týče klíčivosti a energie klíčení. Díky tomu dojde ke snížení nákladů pro zakládání nových porostů za využití krytokořenného materiálu, neboť sadbovače, substrát pro jejich naplnění a péče o krytokořenný materiál je výrazně dražší, než sadební materiál prostokořenný. U krytokořenného sadebního materiálu je kvůli ceně také vyšší požadavek na klíčivost osiva a to až k hodnotě 95 %, aby se předešlo dalším finančním ztrátám. Oproti sadebnímu materiálu prostokořennému má také výhodu, že je možné vysazovat jej po celý rok a díky ochraně kořenového systému je také odolnější vůči nepříznivým podmínkám. U materiálu prostokořenného není užití metody IDS potřeba, neboť nízká klíčivost osiva může být kompenzována hustšími výsevy. Dalším cílem bylo snížit objem osiva a tím také snížit nároky na prostor při jeho skladování.

## **2. LITERÁRNÍ PŘEHLED**

### **2.1 Kvalita reprodukčního materiálu**

Kvalita reprodukčního materiálu je definována v zákoně č. 149/2003 Sb.: “Reprodukční materiál lze uvádět do oběhu, pouze vyhovuje-li požadavkům na druhovou čistotu, morfologickou a fyziologickou kvalitu a zdravotní stav. Podrobnosti stanoví prováděcí právní předpis.” (zákon č. 149/2003 Sb.). V tomto zákoně jsou dále vypsány všechny podrobnosti potřebné k distribuci reprodukčního materiálu.

Kvalita oddílů semenného materiálu se posuzuje podle čistoty, absolutní hmotnosti, energie klíčení, klíčivosti nebo životnosti, obsahu vody a počtu klíčivých nebo živých semen v 1 kg; u semenné suroviny také podle sypavosti (ČSN 48 1211, 2006).

Čistota je dána jako procentuální podíl hmotnosti čistých semen nebo čisté semenné suroviny k součtu hmotností frakcí analyzovaného vzorku. Absolutní hmotnost je hmotnost 1000 čistých semen zkoušeného druhu v [g]. Energie klíčení je definována jako počet normálně vyklíčených semen, zjištěných při prvním počítání v určité, normou stanovenou dobu, vyjádřený v procentech počtu zaklíčených čistých semen. Klíčivost je definována jako počet semen normálně vyklíčených za normou stanovenou dobu, vyjádřený v procentech počtu zaklíčených čistých semen. Životnost semen je počet živých (životaschopných) semen zjištěný vitálním barvením nebo jinou zkouškou životnosti vyjádřený v procentech počtu hodnocených čistých semen. Obsah vody (vlhkost) je podíl hmotnosti vody v rozborovém vzorku vyjádřený v procentech původní hmotnosti rozborového vzorku. Sypavost je hmotnost čistých semen získaných z průměrného vzorku semenné suroviny vyjádřená v procentech hmotnosti průměrného vzorku při 20 % obsahu vody (ČSN 48 1211, 2006).

### **2.2 LČR s.p., Semenářský závod Týniště nad Orlicí**

V České republice se zlepšením kvality osiva zabývá i semenářský závod v Týništi nad Orlicí, ve spolupráci s výzkumnými ústavu. V této kapitole jsou použity informace získané z oficiálních webových stránek závodu [1].

Tento podnik má ve svých prostorách uskladněny zásoby geneticky vhodného osiva dostačující pro rovnoměrnou obnovu lesa i v obdobích mezi semennými roky. Tento závod je v provozu už od roku 1971, kdy skončil svoji činnost podobného zaměření podnik v Českých Budějovicích.

Mezi hlavní aktivity podniku patří: zpracování semenné suroviny jehličnatých i listnatých dřevin, skladování osiva v krátkodobém, ale také dlouhodobém časovém rozmezí, v chladírenských boxech, předosevní příprava pomocí kombinace teplé

a studené stratifikace, ošetření osiva termoterapií, která se používá jako ochrana proti houbovým chorobám, provozní rozbory osiva a v neposlední řadě také samotný prodej osiva.

Proces zpracování semenného materiálu jehličnanů začíná ve skladu šišek, který je schopen pojmout na 800 tun šišek. Regulace příjmu by byla nutná v nadměrně plodném období, ale za poslední roky nebylo potřeba k tomuto kroku zajít. Další zastávkou zpracovatelského procesu je luštírna, která je vybavena luštírenskými komorami rozdělenými podle velikosti oddílů šišek. Jsou zde komory jak pro oddíly velkých objemů, tak pro oddíly velikosti např. 1 kg. Dále osivo putuje do klimatizovaného skladu, jehož součástí je také banka lesního osiva. Do banky jsou ukládány oddíly osiva, které mají vysokou genetickou hodnotu a jsou vhodné k použití pro zachování co nejširší genetické variability. Skladování v bance je možné značně dlouhou dobu, což je dáno velmi nízkými teplotami (cca -22°C). V posledních letech se závod zaměřuje na zpracování a skladování osiva jedle. Toto osivo je zpracováno buď přímo pro podzimní výsev, nebo také jarní následujícího roku. V semenných letech se zde pracuje až s 30 tunami jedlových šišek. K předosevní přípravě osiva jehličnanů patří především stratifikace, dále se zde provádí moření biologickými přípravky a také (především u modřínu, který má větší podíl prázdných semen) se zde třídí osivo oddělením poškozených a prázdných semen podle hmotnosti, což je prováděno strojem PREVAC.

Ve zpracování osiva listnáčů, se závod zaměřuje především na semena buku. U této dřeviny je to hlavně proces přípravy pro dlouhodobé skladování v mrazících boxech. Celková kapacita boxů je zde přibližně pro 80 tun bukvic. Během posledních let závod rozšířil své služby v rámci dužnatých plodů listnatých dřevin suchou i mokrou cestou. Mezi nejčastější plody takto zpracovávané patří např. třešeň ptačí (*Prunus avium*), různé druhy jeřábů, hlohy, kaliny a další. K procesům předosevní přípravy zde patří především stratifikace. Díky teplým komorám v kombinaci s chladírenskými boxy je možné využívat možnosti teplostudené stratifikace, kde se teplota střídá v různých časových úsecích. Stratifikace osiva veškerých dřevin je zde prováděna bez přidaného media.

### **2.3 Eliminace neproduktivních semen**

Po zpracování semenné suroviny se v oddílech osiva vyskytuje větší či menší podíl neproduktivních semen jak uvádí PALÁTOVÁ (2008). Spadají mezi ně semena prázdná, mechanicky poškozená, plná ale neživá a také semena poškozená hmyzem. Přítomnost neproduktivních semen v oddílech osiva je krajně nežádoucí a to hlavně z důvodů potřeby většího množství osiva a také kvůli vyšším nárokům na finance pro nákup osiva, či zalesňovací práce. Pro tyto účely je vhodné neproduktivní semena z oddílů odstranit.



### **2.3.1 Metody odstranění neproduktivních semen**

Následující kapitola obsahuje výpis metodiky, jak ji ve své práci popisuje PALÁTOVÁ (2008), ohledně separace mrtvých a neproduktivních semen.

#### **Odstranění prázdných semen – pneumatický princip**

Nečistoty a prázdná semena se při této metodě odstraňují na stroji Petkus, při čemž se využívá tlaku vyvolaného proudem vzduchu. Opakovaným čištěním však dochází ke ztrátám menších semen.

#### **Plavení na principu absorpce**

Tato metoda je vhodná pro osivo, u kterého je malý rozdíl mezi hmotnostmi plných a prázdných semen (smrk, borovice, modřín...). Absorpcí vody se zvýší hmotnost osiva. Plná semena, která jsou těžší, sedimentují a lze je oddělit. Doba absorpce je rozdílná pro jednotlivé druhy. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u smrku, kde frakce sedimentují do 8 hodin od počátku plavení, u borovice, kde frakce sedimentují mezi 8 a 24 hodinami plavení a u modřínu, u kterého frakce sedimentují mezi 20 minutami a 24 hodinami plavení.

#### **Plavení na principu hustoty**

Při použití této metody jsou využívány roztoky s hustotou ležící mezi danou hmotností a prázdných semen. Jako roztoky jsou využívána organická rozpouštědla, jako je například alkohol, hexan, tetrachlor, dietyléter nebo jejich směsi. Všechny tyto látky je před použitím nutno otestovat, jestli nemá negativní dopad na osivo a jeho klíčivost. Při použití alkoholu jako zvoleného média, je jeho koncentrace a doba plavení specifická pro jednotlivé druhy. U borovice je užíván absolutní alkohol po dobu maximálně 1 hodiny. U smrku je také využito absolutního alkoholu a plavení maximálně po dobu 1 hodiny. U modřínu se používá 90 % nebo absolutní alkohol, při době plavení do 5 hodin.

#### **Odstranění mechanicky poškozených semen metodou PREVAC**

Mechanická poškození vznikají hlavně při nesprávném postupu luštění, sušení a následné manipulaci s osivem. Mechanicky narušená semena mají dále tendenci rychleji ztrácet klíčivost při skladování a proto je potřeba jejich odstranění z oddílů osiva. K tomu je využito metody PREVAC, která je založena na rozdílném chování mechanicky poškozeného a zdravého osiva, při zvyšování a snižování tlaku.

Osivo se umístí do nádoby s vodou, kde je osivo vystavováno tlaku a podtlaku. Mechanicky poškozená semena přijímají vodu rychleji a po návratu do prostředí s tlakem normálním, klesají ke dnu rychleji, než semena nepoškozená. Této metody se využívá u osiva smrku, borovice či modřínu

### 2.3.2 Využití metody IDS

Název této metody je zkratkou anglického Incubation-Drying-Separation, čili inkubace-sušení-oddělení. Tato metoda je založena na principu rozdílných reakcí na vysoušení u mrtvých a živých semen. Metoda vychází z poznatku, že prázdná semena při vysoušení ztrácejí vodu rychleji, než semena plná (živá i neživá). Díky tomuto faktu je tedy možné separovat oddíl živého osiva od mrtvého a tím značně ovlivnit jeho kvalitu pro budoucí výsadbu.

Jednotlivé kroky použití metody IDS popisuje ve své práci KOLÁŘOVÁ a kol. (2005), jejíž poznatky, shrnula takto:

„V prvním kroku jsou semena inkubována po určitou dobu za určité teploty ve vlhkém prostředí, aby došlo k maximálnímu nasycení vodou. Dalším krokem je vysoušení, které je založeno na rozdílných časech odevzdávání vody ze semene u živého a mrtvého osiva, což se projevuje rozdílnou hmotností a hustotou. Tohoto je využito ve fázi separace, kde se osivo umístí do vody, či kapaliny o vhodné hustotě, a separuje se na 2 vrstvy. Spodní vrstva obsahující životná semena a horní vrstva se semeny mrtvými.

Postup použitý u každého kroku se u jednotlivých dřevin liší a stále se provádí výzkum, aby se dosáhlo co nejefektivnějšího výsledku. Metoda je v literatuře podrobně zpracována pro osivo borovice lesní, u které se v některých zemích využívá také v praxi. Některé detaily však stále chybí a tak je třeba dalších testů, či zkušeností zahraničních firem, které s touto metodou úspěšně pracují.

1. **Inkubace** – rozděluje se na 2 základní typy a to inkubaci standardní =  $I_{st}$  a inkubaci stimulující =  $I_{inv}$  (PROCHÁZKOVÁ, 2004).

- **Inkubace standardní** – při tomto procesu je osivo máčeno ve vodě a poté umístěno do inkubátoru za maximální možné vzdušné vlhkosti. Toto lze docílit využitím tekoucí vody po stěnách inkubátoru nebo přítomným zvlhčovačem uvnitř inkubátoru. Nejvhodnější délka inkubace byla stanovena na 3 dny. Kratší doba inkubace neumožní osivu dosáhnout maximální vnitřní vlhkosti. Na druhou stranu delší setrvání v inkubátoru může způsobit předčasné klíčení semen.

Nejvhodnější teplota při této inkubaci byla určena jako 15 °C. Při vyšších teplotách může opět nastat problém s klíčivostí. V inkubátoru může být osivo i osvětleno, avšak nebyl zjištěn přímý vliv světla v této fázi na klíčení semen.

- **Inkubace stimulující** – tento proces je využíván zvláště u osiva o nízké vitalitě energie klíčení. Hlavním úkolem je tedy nabudit osivo ke klíčení výrazným upravením faktorů ovlivňujících klíčení. Mezi tyto faktory patří teplota, obsah vody v semenech a doba inkubace. Důležité je, aby byla stanovena počáteční vlhkost osiva. Toho lze dosáhnout zvážení části osiva, odstraněním veškeré vlhkosti sušením za teploty 90°C a opětovným zvážení. Rozdíl hodnot nám udá počáteční vlhkost. Optimální vlhkost borovice lesní je přibližně 30 %. Při samotné stimulující inkubaci  $I_{inv}$ , se osivo umístí do trubice, která má

konce opatřeny plynům propustnou membránou a ta je vložena do inkubátoru. Jakmile se osivu dodá dostatečné množství vody k dosažení požadované vlhkosti, tak je vlhkost následně udržována její regulací uvnitř inkubátoru. Jak popisuje BERGSTEN (1987 ex BERGSTEN 1993), nejvhodnější teplota pro inkubaci je 15 °C, tímto se předejde možným problémům s klíčením. Aby byla u osiva stimulována energie klíčení, je potřeba ponechat ji v tomto stavu přibližně 8 dní, jedná-li se o borovici lesní. U smrku ztepilého (*Picea abies*) inkubace trvá až 12 dnů.

Pokud budeme chtít osivo, u kterého byla využita možnost této inkubace, následně separovat metodou IDS, je třeba ho předtím dovlhčit na optimální vlhkost, čehož docílíme 16ti hodinovou inkubací za teploty 15 °C.

2. **Sušení** – vzduch využitý při sušení osiva by měl dosahovat teplot 20-25 °C a relativní vzdušnou vlhkost 5-15 %. Doba sušení je rozdílná podle použité metody a také podle druhu osiva. Nejsnazší metodou je zjistit vlhkost osiva jeho zvážením, usmrcením naprostým vysušením a opětovným zvážením. Rozdíl hmotností nám udá požadovanou hodnotu vlhkosti. Existují 3 hlavní metody, kterými dosáhneme nejlepšího výsledku v závislosti na druhu a velikosti oddílu osiva.

- První metoda spočívá v uložení osiva na síta do větrané sušárny s odvlhčovačem vzduchu. Tato metoda je vhodná zvláště pro menší oddíly osiva, neboť je potřeba osivo ručně promíchávat aby nedošlo k zapaření. Sušení touto metodou trvá přibližně 2-4 hodiny (BERGSTEN 1987 ex BERGSTEN 1993).

- U další metody je osivo umístěno do rotující bubnové sušičky, která musí být umístěna v prostoru, kde je nízká relativní vlhkost vzduchu a je zde přívod odvlhčeného vzduchu.

- Poslední metodou je využití vertikálně uložené trubice s perforovaným dnem, ve kterém je osivo vysušeno vzduchem o nízké relativní vlhkosti proudícím zespod.

3. **Separace** – tento krok je založen na rozdílné hustotě živých a mrtvých semen. Vysušená semena se umístí do nádoby s vodou nebo jinou kapalinou o vhodné hustotě. Tato hustota musí být zohledněna již ve fázi inkubace a vysoušení, aby bylo její použití při separaci účinné. Existují 4 postupy separace, založené na různé energii klíčení osiva a jeho klíčivosti. Těmito separačními metodami můžeme ještě před užitím různých způsobů IDS dosáhnout k eliminaci prázdných, mechanicky poškozených, či hmyzem napadených semen.

- První metoda se využívá u osiva s nízkou klíčivostí a vysokou energií klíčení. S cílem odstranění mrtvých semen se nejdříve použije standardní inkubace  $I_{st}$ , po dobu 3 dnů, za teploty 15 °C. Dalším krokem je vhodně zvolená metoda sušení a separace. Pro stimulaci klíčivosti osiva může být před standardní inkubací  $I_{st}$ , použita také inkubace stimulující  $I_{inv}$ , kdy se osivu dodá voda na 30 % vlhkost a inkubuje se po dobu 2-3 dnů při teplotě 15 °C.

- Další metodu lze použít na osivo o vysoké klíčivosti a s nízkou energií klíčení. U takového osiva je nutno zvýšit energii klíčení, což znamená rychlost. Z tohoto důvodu se

se využívá pouze metoda stimulující inkubace  $I_{inv}$ , tedy zvýšení vlhkosti na 30 % a inkubování po dobu 1-3 týdnů, za teploty 15 °C. Po inkubaci odpadají kroky sušení i separace.

- Dále můžeme odlišit osivo s nízkou klíčivostí a nízkou energií klíčení. Takovéto osivo je poměrně problematické a náročné na celkovou přípravu. Je potřeba odstranit co nejvyšší množství mrtvých semen a zároveň stimulovat rychlost klíčení. V prvním kroku se tedy použije metoda stimulující inkubace  $I_{inv}$ , kdy se osivu dodá voda k dosažení vlhkosti semen 30 %, po dobu 1-3 týdnů, za teploty 15 °C. Dále následuje inkubace standardní  $I_{st}$ , po dobu 16ti hodin za teploty 5 °C, kdy je potřeba osivo dovlhčit na optimální vlhkost, aby mohly následovat kroky sušení a separace.

- Poslední metoda pracuje s osivem o velmi nízké klíčivosti a velmi nízké energii klíčení. U takovýchto semen je nutno samotnou inkubaci nejdříve otestovat na menších vzorcích osiva, aby mohla být posléze aplikována na zbytek oddílu.

Testy aplikované na nevyklíčená semena borovice pokroucené (*Pinus contorta* Dougl.) popsal ve své práci SIMAK (1984). Autor zde popisuje 3 různé testy, které mají za cíl zjistit podíl živých a mrtvých semen v oddílech vzniklých separací.

- **Sink-test** – tento test je prakticky metoda IDS, která je zde použita na nevyklíčená semena. Spočívá v sušení osiva po dobu 3 hodin a vložením do vody, kde se osivo separuje na živá a mrtvá semena.

- **RTG test** – jde o metodu rentgenování semen, díky čemuž můžeme odlišit živá semena od mrtvých. Pro tento test se používá osivo ze sink-testu z obou vrstev, tedy živých i mrtvých semen, která jsou před rentgenováním povrchově osušena.

- **Zkouška řezem** – používá se po testu RTG a to ke zjištění věrohodnosti a přesnosti daného testu.

SIMAK (1984) ve své práci metodou IDS separoval osivo s původní klíčivostí 67 % na 2 oddíly. Živá semena (spodní oddíl) dosáhly klíčivosti 96 % a mrtvá semena (horní oddíl) 18 %. Také zjistil, že díky metodě IDS se zvýšila energie klíčení a to u oddílu živých semen z 21 % na 61 % a u oddílu mrtvých semen z 21 % na 30 %. Všechny tři zmíněné testy poskytly téměř shodné výsledky, které dokázaly, že v horním plovoucím oddílu jsou skutečně výhradně mrtvá semena, zatímco ve spodním sedimentovaném oddílu jsou semena živá. Přítomnost mrtvých semen v sedimentované části popisuje možným nedokonalým odstraněním mechanicky poškozených semen před zahájením samotné metody IDS, která mohou snadno přijímat vodu a sedimentovat spolu s živými semeny. Přítomnost živých semen v horní části je podle autora zapříčiněna nízkou vitalitou osiva a tím i jeho sníženou schopností získávat a udržovat vodu, což zapříčiní nižší hustotu semen a tím jejich schopnost držet se v horní vrstvě.“

### 2.3.3 Metoda IDS v praxi

Hlavní zdroje dostupné literatury zpracovala ve své práci KOLÁŘOVÁ a kol. (2005), ze které je čerpáno v následující kapitole a to z důvodu kvalitního popisu problematiky a do jisté míry také jazykové bariéry k původním zdrojům.

#### 1. Inkubace

Osivo borovice lesní (*Pinus sylvestris*) využil k testování metody IDS BERGSTEN (1993), dnes tento postup využívají některé specificky zaměřené firmy. Jako médium pro inkubaci byl použit inkubátor se 100 % relativní vzdušnou vlhkostí a zkoušky byly prováděny také s vlhkými filtračními papíry. Ideální teplota pro borovici lesní při inkubaci byla stanovena na 15 °C. Doba inkubace 3 dny.

Aplikaci metody IDS na borovici pokroucenou (*Pinus contorta*) zkoušelo s rozdílnými výsledky několik odborníků. BERGSTEN (1993) uvádí za médium použité k inkubaci inkubátor se 100 % relativní vzdušnou vlhkostí, či vlhké filtrační papíry. Teplota při inkubaci by se měla držet na 15 °C po dobu tří dnů. Naproti tomu SIMAK (1984) ve své práci zkoušel před inkubací máčet osivo ve vodě po dobu 16 hodin, následně ho uložit mezi vlhké filtrační papíry a pro vlastní inkubaci ho umístit do inkubátoru na dalších 56 hodin. Teplotu stanovil také na 15 °C jako Bergsten. Borovici pokroucenou metodou IDS testovali také DOWNIE, WANG (1992), kteří uvádí jako použité médium vlhké podložky Kimpak. Teplotu zmiňují na rozdíl od předešlých autorů vyšší a to 20 °C s dobou inkubace 3 dny.

Testy borovice banksovy (*Pinus banksiana*) metodou IDS popisují ve svém díle DOWNIE, WANG (1991). Jejich poznatky o inkubaci se prakticky neliší od borovice pokroucené v jejich podání. Za médium byly zvoleny vlhké podložky Kimpak, teplota při inkubaci 20 °C a doba trvání inkubace 3 dny.

Borovici vejmutovku (*Pinus strobus*) zahrnuli ve své práci ohledně použití metody IDS DOWNIE, BERGSTEN (1991), kde byly jako vhodné médium zvoleny vlhké filtrační papíry. Teplota při procesu inkubace byla stanovena na 4 °C a doba inkubace 28 dnů.

Metoda IDS byla využita také při výzkumu na borovici Karibské (*Pinus caribaea*), kterou popisuje ve své práci POULSEN (1995). Jako inkubační médium autor zvolil vlhké filtrační papíry, na kterých bylo osivo umístěno 3 dny a následně bylo přemístěno do igelitových sáčků, ve kterých přetrvávalo další 2 dny. Pro inkubaci byla stanovena teplota 15 °C.

DEMELASH et al. (2002) ve své práci popisují metodu IDS v rámci osiva borovice rozložené (*Pinus patula*). Jako médium bylo využito máčení ve vodě po dobu 16 hodin a následně uložení na vlhkých filtračních papírech do inkubátoru po dobu dalších 3 nebo 7 dnů. Zvolená teplota inkubace byla 15 °C.

Všechny zmíněné hodnoty ohledně inkubace jsou si u všech druhů borovice velmi podobné, až na borovici vejmutovku, u které jsou zvolené hodnoty teploty i doby inkubace výrazně odlišné.

BERGSTEN (1993) využil postup metody IDS také na semena smrku ztepilého (*Picea abies*). Při fázi předinkubační přípravy osiva popisuje máčení osiva ve vodě a pro inkubaci jeho umístění do inkubátoru se 100 % relativní vzdušnou vlhkostí, popřípadě lze podle autora použít i vlhké filtrační papíry. Teplotu při inkubaci stanovil na 15 °C a to po dobu 3 dnů. Osivo smrku ztepilého ve své práci uplatnil také TILLMAN-SUTELA a kol. (2003), kde je jako předinkubační úprava osiva doporučeno máčení osiva ve vodě po dobu 16 hodin a následné uložení do inkubátoru na dalších 24 hodin. Toto celé při teplotě 5 °C.

Osivo smrku sivého (*Picea glauca*) využili ke svému výzkumu DOWNIE, BERGSTEN (1991), kteří při své práci využili jako inkubační médium vlhké filtrační papíry. Inkubační teplota byla nastavena na 4 °C a to po dobu 21 dnů. S osivem tohoto druhu smrku pracovali při výzkumu DOWNIE, WANG (1992), kde místo filtračních papírů zvolili jako médium vlhké podložky Kimpak. Vhodnou teplotu určili 20 °C a dobu trvání inkubace 3 dny.

Jako předmět svého výzkumu zvolil SWEENEY a kol. (1991) osivo douglasky tisolisté (*Pseudotsuga menziesii*). Fázi inkubace popisují ve dvou krocích a to plavení osiva v destilované vodě při pokojové teplotě (20-22 °C) po dobu 24 hodin. Jako další krok popisují slití vody, povrchové osušení osiva a jeho inkubace v sáčcích z PVC. Teplota inkubace je stanovena na 15 °C a doba trvání 3 dny.

Metoda IDS byla aplikována na listnaté dřeviny. Příkladem FALLERO, PACELLA (1997) ji využily u osiva platanu javorolistého (*Platanus x acerifolia*). Jako médium inkubace popisují ve své práci použití filtračních papírů, které byly kontinuálně vlhčeny. Zvolená inkubační teplota, kterou uvádějí, je 20 °C po dobu 40 hodin.

Další testovanou listnatou dřevinou je olše (*Alnus incana* subsp. *Tenuifolia* (Nutt.) *Breitung*), jejíž osivo použil v práci JONES a kol. (2002). Tito jako inkubační médium zvolili filtrační papír, do kterého osivo zabalili, následně je vložili do zatížených sdrátovaných klecí a ponořili do nádrže s destilovanou vodou. Teplota, ani doba inkubace zde však není zmíněna.

JONES a kol. (2002) použili metodu IDS také na osivo břízy severoamerické (*Betula occidentalis*), u které využili zcela shodný proces inkubace jako u olše.

## 2. Sušení

BERGSTEN (1993) zvolil ve své práci, ohledně borovice lesní, jako vhodný prostředek pro sušení osiva síta umístěna v sušárně, bubnovou sušičku nebo zmiňuje vertikální trubici s proděravělým dnem, kterým je přiváděn vzduch o nízké relativní vlhkosti. Teplotu při

sušení stanovil na 20-25 °C a relativní vzdušnou vlhkost 5-15 %. Doba sušení jak popisuje autor je rozdílná s ohledem na zvolený způsob sušení.

Pro borovici pokroucenou použil BERGSTEN (1993) prostředek pro sušení stejný, jako u borovice lesní (síta, bubnová sušička, vertikální trubice), stejná teplota (20-25 °C), relativní vzdušná vlhkost (5-15 %) a doba sušení. SIMAK (1984) při fázi sušení zdůrazňuje rozložení osiva do jedné vrstvy. Teplotu pro sušení stanovil na 15 °C a relativní vzdušnou vlhkost na 35 %. Dobu sušení touto metodou určil na 12 hodin. DOWNIE, WANG (1992) ve své práci využili sušení na sítěch, kde byl odstraněn přebytek vody, po dobu 2 hodin a následné využití odsávače na dalších 7-12 hodin. Teplotu sušení zmiňují 20 °C a relativní vzdušnou vlhkost, ve fázi, kdy je osivo umístěné na sítu, na 75-85 %.

DOWNIE, WANG (1992) při výzkumu na borovici Banksově využili poznatků z borovice lesní a aplikovali stejnou metodu sušení (síta, odsávač), teplotu (20 °C), vzdušnou vlhkost (75-85 % na sítu) i dobu sušení (2h na sítěch, 7-12h při odsávání).

U borovice vejmutovky ve své práci DOWNIE, BERGSTEN (1991) zvolili jako nejvhodnější prostředek pro sušení sušičku. Teplotu sušení pro toto osivo určili v rozmezí 20-25 °C. Relativní vzdušnou vlhkost 10 %. U doby sušení tvrdí, že nejvhodnější délka tohoto procesu je do bodu, kdy bude procento plovoucích semen rovno procentu plných mrtvých semen.

Osivo borovice Karibské bylo dle POULSENA (1995) sušeno v sušárně, v síťových pytlích. Autor udává teplotu sušení 15 °C a relativní vzdušnou vlhkost 15 %. Kladné výsledky zaznamenal při době sušení 45, 75, 135 a 330 minut.

DEMELASH et al. (2002) popisují při procesu sušení osiva borovice rozložené, využití síť umístěných v sušárně, na která bylo rozmístěno osivo. Sušení bylo realizováno při teplotě 20 °C a relativní vzdušné vlhkosti 40 %. Doba sušení touto metodou byla zvolena na 3, 6, 9 nebo 12 hodin.

U smrku ztepilého zvolil BERGSTEN (1993), jako vhodný prostředek sušení, síta rozmístěna v sušárně, bubnovou sušičku nebo také vertikálně uloženou trubici s proděravělým dnem, kterým je přiváděn vzduch o nízké vlhkosti. Teplotu pro sušení ve své práci určil na 20-25 °C a relativní vzdušnou vlhkost 5-15 %. Dobu sušení neurčil přímo, neboť je rozdílná u jednotlivých způsobů. Osivo smrku ztepilého v podání TILLMAN-SUTELA a kol. (2003) bylo vysoušeno v proudu vzduchu. Autoři zvolili teplotu pro sušení 20 °C bez udání vhodné relativní vzdušné vlhkosti a dobu tohoto procesu na 45 minut.

DOWNIE, BERGSTEN (1991) použili při procesu sušení osiva smrku sivého sušičku s nastavenou teplotou na 20-25 °C a relativní vzdušnou vlhkost sniženou na 10 %. Doba sušení je podle autorů různá a měla by mít trvání, dokud nebude procento plovoucích semen rovno procentu plných mrtvých semen. Osivo tohoto druhu smrku v procesu sušení uložili při svém výzkumu DOWNIE, WANG (1992) na síta po dobu 2 hodin, kde byla

odstraněna přebytečná voda a následně k sušení využili odsavače na dalších 7-12 hodin. Teplota sušení je v jejich práci zmíněna 20 °C a relativní vzdušná vlhkost na sítu 75-85 %.

U douglasky tisolisté použil při svém výzkumu SWEENEY et al. (1991) k sušení osiva papírové ručníky s cílem odsát přebytečnou vodu a následně zvolil uložení takto upraveného osiva do inkubátoru mezi savé papíry po dobu 30, 60 nebo 120 minut za konstantní teploty 25 °C.

Semena platanu javorolistého autorky FALEERI, PACELLA (1997) při procesu sušení nechaly oschnout na papírových ručnicích, kvůli odstranění přebytečné vody a následně je umístily do inkubátoru na síta. Vhodná teplota sušení je uvedena 20 °C. Autorky poskytují hned několik vhodných dob sušení touto metodou a to 3,5 - 24 hodin.

U osiva olše zvolil JONES et al. (2002) metodu sušení na filtračních papírech uložených v nádobě nad roztokem  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  a to vše uzavřeno polyetylenovou fólií. Teplota ani doba sušení není v jejich práci popsána, jen relativní vzdušná vlhkost je stanovena na 50%.

Fázi sušení osiva břízy severoamerické popisuje JONES et al. (2002) využitím stejné metodiky jako u olše.

### **3. Separace**

V práci s osivem borovice lesní BERGSTEN (1993), popisuje separaci oddílů osiva způsobem využití vodního sloupce, či roztoků o vhodné hustotě, ve kterých bude vysušené osivo plaveno, dokud se neseparuje na plovoucí a sedimentovaný oddíl. Dále také popisuje možnost využití sedimentačního koryta.

U borovice pokroucené použil BERGSTEN (1993) stejné metodiky jako pro borovici lesní. SIMAK (1984) ve své práci využil k plavení také vodního sloupce, ale specifikuje dobu na 5 minut. Vodního sloupce se při separaci drží také DOWNIE, WANG (1992). Při svém výzkumu této metody využili také při separaci osiva borovice Banksovy. Zmíněna byla tato metoda také v práci DOWNIE, BERGSTENA (1991) při separaci osiva borovice vejmutovky. V tomto případě byla po užití metody IDS zaznamenána vyšší klíčivost u méně kvalitního oddílu osiva, a to ze 46 % na 69 %. U oddílu kvalitnějšího vzrostla klíčivost pouze o 3 % z 87 na 90. Toto vysvětluje MITTAL et al. (1987) tím, že vlhkost u semen borovice vejmutovky roste výrazně do 8. týdne a pozvolněji pak do 14. týdne stratifikace.

POULSEN (1995) zvolil jako separační metodu osiva borovice Karibské, míchaní ve vodě teploty 20 °C po dobu 5 minut. Po ukončení metody IDS byla zaznamenána klíčivost 54 % u sedimentovaného oddílu, což je proti původním 23 % více jak dvojnásobný nárůst.

Oddíly semen borovice rozložené byla dle DEMELASHE et al. (2002) také separována ve vodě.



S neúspěchem metody IDS se setkal KARRFALT (1996) u separace osiva borovice těžké (*Pinus ponderosa* var. *Scopulorum* Engelm.), kde zjistil klíčivost stratifikovaného osiva v sedimentovaném oddílu 68 %, což byla shodná hodnota s kontrolou (68 %). U osiva nestratifikovaného byla zjištěna klíčivost 80 %, která byla proti kontrolní hodnotě (90 %) dokonce nižší. V plovoucí části osiva pak bylo zaznamenáno v prvním případě 56 %, a v druhém dokonce 81 % živých jedinců.

Separace osiva smrku ztepilého podle BERGSTENA (1993) může probíhat ve vodním sloupci nebo využitím sedimentačního koryta. TILLMAN-SUTELLA et al. (2003) při svém výzkumu využili k separaci pouze sedimentační koryto. Při jejich výzkumu bylo použito osivo, které bylo 3 měsíce skladováno při teplotě -3 °C. U první frakce, oddělené sedimentačním korytem, zmiňují autoři klíčivost osiva 72-79 % a u poslední frakce v separačním korytu (11.) klíčivost 15-21 %.

Oddíly osiva smrku sivého od sebe separovali DOWNIE, BERGSTEN (1991) pomocí vodního sloupce, kterého využili při separaci osiva tohoto druhu také DOWNIE, WANG (1992). Všichni tito autoři využitím metody IDS na toto osivo nedosahovaly jasných výsledků. Příkladem DOWNIE, BERGSTEN (1991) uvádí, že klíčivost sedimentovaného frakce jednoho oddílu se zvýšila z 50 % na 86 %, zatímco u jiného oddílu z 94,5 % na 99,5 %.

Semena douglasky tisolisté separoval na živá a mrtvá SWEENEY et al. (1991) také ve vodním sloupci, avšak v této práci je doporučení zamíchání osiva, kvůli maximálnímu využití povrchu semen a jejich schopnosti vstřebávat vodu. U tohoto osiva využil autor metodu IDS s cílem separovat zdravá semena od semen napadených chalcidkou (*Megastigmus spermatrophus* Wachtl.), takto napadená semena nevykazují žádné známky poškození a neodlišují se od zdravých ani hmotnostně. Metodou IDS se autorovi podařilo u všech oddílů odstranit 95-99 % napadených semen, která zůstala po separaci v horní (plovoucí) frakci. Metoda IDS měla současně pozitivní vliv také na klíčivost živých semen.

FALLERI, PACELLA (1997) uvádějí, že pro osivo platanu javorolistého je vhodným separačním médiem petrolejový éter, ve kterém by mělo být osivo plaveno a soustavně mícháno po dobu 5 minut. Autorky ve své práci pracovaly na odstranění prázdných semen tohoto javoru. Mimo použitou metodu IDS autorky také podrobily část osiva testu měrné hustoty (SG-test), při kterém by mělo dojít k separaci prázdných a plných semen na základě rozdílných hustot. Jako separační médium pro tento test byl použit petrolejový éter. U obou metod autorky uvádějí úspěch v podobě zvýšení klíčivosti a podílu plných semen v sedimentované frakci a to ze 48 % na 60,5 % u SG-testu a metodou IDS až na 86 %.

Petrolejový éter při svém výzkumu na osivu olše zvolil také JONES et al. (2002), který udává, že míchání je dostačující po dobu 20 sekund. Autor uvádí, že díky metodě IDS

došlo ke zvýšení procenta klíčivých semen v sedimentované frakci na 32 %, zatímco v plovoucí frakci vyklíčilo pouze 3 %. Klíčivost neseparovaného oddílu byla přitom 19 %.

U břízy severoamerické popisuje JONES et al. (2002) použití, jako separačního média, etanol, ve kterém by se osivo mělo po dobu 20 sekund míchat. Po provedení všech kroků metody IDS autoři dospěli k závěru, že i zde došlo ke zvýšení zastoupení klíčivých semen v sedimentované frakci na 33%, což je oproti 7 %, které vyklíčily při kontrole klíčivosti, značný nárůst. Z plovoucí frakce vyklíčilo pouze 1 % semen.

## **Shrnutí**

Po ukončení metody IDS bylo autory DOWNIE, WANG (1992), vyzkoušeno vysušení osiva na hodnotu vlhkosti 5 %, čímž chtěli zjistit vliv na klíčivost, který však neměl příliš negativní efekt.

Podle výsledků všech autorů, můžeme tvrdit, že metoda IDS má ve většině případů značně pozitivní vliv na klíčivost osiva. Také je velmi vhodnou metodou pro separaci živých semen od mrtvých. Pro každou dřevinu je však nutno aplikovat metodu IDS jinak, je třeba vysledovat nejvhodnější dobu trvání jednotlivých kroků, teplotu, vlhkost a další aspekty, které mohou ovlivnit výsledek. V současné době naneštěstí neexistuje výzkum, který by poskytl 100 % výsledky pro separaci a klíčení osiva, což však otevírá možnosti dalších pokusů a nevyzkoušených metod, které tento výsledek mohou přinést.

## **3. Metody a materiál**

### **3.1 Materiál**

K výzkumu byly poskytnuty oddíly osiva borovice lesní a smrku ztepilého (Tab č. 1) ze Semenářského závodu v Týništi nad Orlicí. Jednalo se o 2 oddíly osiva borovice s čísly uznaných jednotek CZ-2-2B-BO-1443-16-5-J, označená v práci jako BO1, a CZ-2-2B-BO-3154-16-4-J, s označením BO2. Dále 2 oddíly smrku CZ-2-2B-SM-749-21-7-L, označený SM1, a CZ-2-2A-SM-1361-27-8-E označen SM2. Pro vlastní ověřování metody IDS byl použit jen jeden oddíl osiva, a to borovice lesní (BO1), u které je postup nejvíce propracován a popsán v literatuře. V případě, že bude dosaženo žádaných výsledků, bude metoda dále testována i na dalším oddílu osiva borovice lesní a také na jiných dřevinách (z dostupného osiva hlavně smrk ztepilý).

Z uvedených vlastností osiva v následující tabulce (Tab. 1), jsou zvláště důležité hodnoty klíčivosti, energie klíčení a podíl prázdných/plných semen. Všechny oddíly osiva jsou dle požadavků vyhovující pro účely prováděného výzkumu.

Tab. 1: Výsledky zkoušek jakosti semen poskytnuté semenářským závodem

	<b>BO1</b>	<b>BO2</b>	<b>SM1</b>	<b>SM2</b>
Čistota	99,6%	99,7%	95,8%	99,2%
Semena jiných druhů	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Nečistota	0,4%	0,3%	4,2%	0,8%
Sypavost				
Absolutní hmotnost	6,653 g	6,182 g	7,730 g	5,840 g
Klíčivost	51,0%	48,0%	26,0%	47,0%
Energie klíčení	27,0%	14,0%	1,0%	3,0%
Abnormálně vyklíčená semena	11,0%	6,0%	2,0%	0,0%
Mrtvá semena	38,0%	46,0%	72,0%	37,0%
Svěží semena	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Tvrdá semena	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
Poškozená hmyzem	0,0%	0,0%	0,0%	3,0%
Prázdňá semena	0,0%	0,0%	0,0%	13,0%
Podíl plných semen	100,0%	100,0%	96,0%	86,0%
Energie klíčení plných semen	27,0%	14,0%	1,0%	33,0%
Klíčivost plných semen	51,0%	48,0%	26,0%	54,0%
Životnost plných semen				
Počet čistých/životaschopných semen v kg	76351 ks	77412 ks	32223 ks	79836 ks
Obsah vody	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

## 3.2 Metody

### 3.2.1 Energie Klíčení a klíčivost

Prvním krokem bylo ověřit, zda je klíčivost, energie klíčení a čistota osiva shodná s hodnotami uváděnými dodavatelem (Tab. 5). Při zjišťování energie klíčení byl nejdříve každý oddíl osiva promícháním, aby nedošlo ke zkreslení dat použitím osiva ze svrchní vrstvy, které by mohlo mít o trochu jiné vlastnosti než osivo ve spod. Promíchání bylo provedeno plastovou lžící, kvůli možné kontaminaci osiva patogeny, vedoucí k rozvoji plísní, při doteku rukou. Dále byly z každého oddílu odpočítány 4 vzorky osiva po 100 kusech, tedy dohromady 16 vzorků. Dle normy ČSN 48 1211 byla zkouška klíčivosti zahájena uložením osiva na Jacobsenova klíčidla na kovové podložky s otvorem ve dnu (Obr. 1). V této podložce bylo umístěn bavlněné klíčící lůžko s knotem, který zasahoval do vody v klíčícím stole. Na lůžko byl položen navlhčený filtrační papír s popisem, o jaký oddíl se jedná, na který se následně rozmístily jednotlivé vzorky semen. Jednotlivá semena byla rozmístěna pomocí pinzety tak, aby se nedotýkala. Takto připravené podložky se semeny byly následně přikryty plastovými kryty s otvorem na odvádění přebytečné vlhkosti, které měly zajistit prostředí vhodné pro klíčení jako ve skleníku. Voda byla použita vodovodní neboť její kvalita a požadavek na pH 6,0 – 7,5 byly vyhovující. Osivu bylo přes den zajištěno také umělé osvětlení, které může stimulovat klíčení a následný růst. Klíčidla byla nastavena na teplotu 30 °C po dobu 8 hodin (den) a 20 °C po dobu 16 hodin (noc), dle ČSN 48 1211. Dále byla prováděna kontrola zásoby vody v klíčidlech, aby byla osivu poskytována potřebná vlhkost. Takto připravené osivo se na klíčidlech ponechalo 1 týden, kdy se odstranila a důkladně zaznamenala vyklíčená semena, pro zjištění energie klíčení zkoumaného osiva. Na klíčidlech bylo zbylé osivo ponecháno dalších 14 dnů, pro zjištění celkové klíčivosti osiva. Přibližně v polovině této lhůty bylo provedeno další odstranění a zaznamenání klíčících jedinců a výměně filtračních papírů, aby se zabránilo šíření plísní a usnadnil se počítání semen na konci zkoušky. Dle ČSN 48 1211 se na konci zkoušky klíčivosti počítají všechna vyklíčená semena s klíčkem delším jako čtyřnásobek délky semena, pro naše účely jsme volili dvojnásobek délky.

Po dalších 2 týdnech byla zkouška klíčivosti ukončena. U SM1 a BO1 byl zkoumán také podíl svěžích, mrtvých a prázdných semen (Tab. 6), což bylo realizováno rozříznutím semen a vizuálním zhodnocením vnitřního obsahu semene. Pokud obsahovalo neporušené embryo a světlý endosperm, bylo označeno za svěží, pokud byl obsah semene hnědý, tlející, tak za mrtvé. Také zde byla zaznamenána přítomnost semen prázdných bez pletiv uvnitř semene nebo bylo jejich množství menší než polovina vnitřního objemu semen.

Další testování bylo aplikováno výhradně na oddíl osiva BO1 s tím, že pokud by bylo dosaženo pozitivních výsledků, byly by testy provedeny i na ostatních oddílech, jak již bylo vysvětleno výše.



Obr. 1: Osivo na kovových podložkách, umístěné na Jacobsenových klíčiidlech

### 3.2.2 Zjišťování obsahu vody

Byly odebrány 2 vzorky osiva BO1 a zváženy. Vzorky byly uloženy na kovové misky a ihned umístěny do sušárny na 17 hodin při teplotě 105 °C pro získání sušiny osiva. Po procesu vysušení se vzorky nechaly vychladnout a byly opět zváženy a zaznamenán jejich hmotnostní rozdíl před a po vysušení (Tab. 7). Tento rozdíl nám stanovil množství odevzdané vody a tím také obsah vody, který osivo obsahovalo před sušením.

### 3.2.3 Vlastní měření metodou IDS

Celkem byly provedeny 3 série měření metodou IDS. Vždy bylo využito poznatků z předchozího měření, pro volbu metody dalšího měření. Každé měření bylo složeno z části úpravy vlhkosti před inkubací, povrchového osušení, různých podmínek inkubace, sušení osiva, plavení osiva a testu klíčivosti. Každý vzorek testovaného osiva měl hmotnost 2,5 g. V 1 sérii měření bylo testováno 11 vzorků, ve 2. sérii 14 vzorků a ve 3. sérii 4 vzorky.

### 3.2.3.1 Úprava vlhkosti před inkubací

1. Měření – osivo bylo máčeno 0, 1, 2 dny ve vodě při laboratorní teplotě (značeny „0máč, 1máč, 2máč“) viz. Tab. 2. Cílem tohoto máčení bylo dodat osivu maximální možný obsah vody pro následující proces klíčení.
2. Měření – část vzorků osiva byla máčena 1 den ve vodě při teplotě 4 °C (značeny „máč“), zatímco druhá část byla dovlhčena na 30 % obsahu vody (značeny „dovlhč“) viz. Tab. 3.
3. Měření – stejně jako u předchozího měření byly vzorky buď 1 den máčeny při teplotě 4 °C (značeno „máč“) nebo dovlhčeny na 30 % obsahu vody (značeny „dovlhč“) viz. Tab. 4.

### 3.2.3.2 Povrchové osušení

1. Měření – při tomto měření nebylo povrchové osušení provedeno u žádného vzorku (0máč, 1máč, 2máč).
2. Měření – povrchové osušení bylo aplikováno u všech 12 vzorků, které byly máčeny ve vodě (máč), kvůli snížení povrchové vlhkosti na osivu a tím zabránění možným problémům s plísněmi či hnilobou a možnému předčasnému klíčení v průběhu inkubace. Při procesu povrchového osušení bylo po ukončení máčení osivo z vody vyndáno a umístěno na filtrační papíry po dobu 20 minut (po 10 minutách byl filtrační papír obměněn). U 2 dovlhčovaných vzorků (dovlhč), nebylo povrchové osušení potřeba, neboť voda k osivu přidaná byla semeny vstřebána a povrch tedy neobsahoval nadbytek vody.
3. Měření – u vzorků, které byly máčeny (máč), bylo provedeno povrchové osušení umístěním osiva po procesu máčení na filtrační papíry po dobu 20 minut (po 10 minutách vyměněn). U dovlhčovaného osiva povrchové osušení provedeno nebylo.

### 3.2.3.3 Podmínky inkubace

1. Měření – 1 vzorek byl po máčení umístěn na petriho misku (petri) s filtračním papírem a uzavřen do inkubátoru po dobu 3 dnů a teploty 15 °C (Tab. 2). Další 10 vzorků bylo umístěno do speciálně upravených plastových nádob (dále jen speciální nádoba, označeno JN, viz. Obr. 2) o objemu 1 l, uzavíratelné plastovým víkem, obsahující 0,5 l vody a mřížku, několik centimetrů nad hladinou, na kterou bylo osivo vysypáno. Takto připravené osivo bylo vloženo do inkubátoru také po dobu 3 dnů, za teploty 15 °C .



Obr. 2: Speciálně upravená plastová nádoba

2. Měření – 4 vzorky byly při procesu inkubace uloženy ve speciálních nádobách (JN), 3 vzorky v petriho miskách (Petri) mezi 2 vlhké filtrační papíry a 3 vzorky do uzavíratelných igelitových sáčků (Sáček). Všechny tyto vzorky byly umístěny do inkubátoru po dobu 3 dnů, za teploty 15 °C (Tab. 3). Dále byly 4 vzorky uloženy do petriho misek, kde 2 z nich byly dány na vlhký filtrační papír a přikryty dalším vlhkým filtračním papírem, a další 2 vzorky byly při procesu inkubace bez přítomnosti filtračních papírů, umístěny do klimaboxu (K.box) po dobu 3 dnů, stálé teploty 15 °C.

3. Měření – zde byly 2 vzorky umístěny při procesu inkubace do speciálních nádob (JN) a 2 vzorky do uzavíratelných igelitových sáčků (Sáček). Všechny tyto vzorky byly inkubovány po dobu 3 dnů a teploty 15 °C (Tab. 4).

### 3.2.3.4 Sušení osiva

1. Měření – po vlastní inkubaci byly varianty ve speciálních nádobách (JN) ponechány v těchto nádobách, avšak již otevřených, a proběhlo zde sušení osiva. U jednotlivých variant byla zvolena teplota 20 nebo 25 °C a délka sušení nastavena na dobu 3 – 7 hodin

(Tab. 2). U 2 vzorků byl proces sušení rozdělen do 2 fází o různých teplotách a dobách sušení.

2. Měření – vzorky inkubované ve speciálních nádobách (JN) v nich pro sušení byly ponechány s tím, že nádoby byly otevřeny. Varianty, inkubované v petriho miskách (petri), byly v těchto miskách také sušeny. Varianty, inkubované v klimaboxu (K.box), byly pro proces sušení přendány na petriho misky. Nakonec varianty inkubované v igelitových uzavíratelných sáčcích (Sáček), byly pro samotné sušení umístěny na petriho misky. Zvolená teplota pro tento krok byla vždy 20 °C, zatímco doba sušení byla u jednotlivých vzorků v rozmezí 2 – 12 hodin (Tab. 3).

3. Měření – zde byly varianty inkubované ve speciálních nádobách (JN) a igelitových sáčcích. Teplota během sušení byla zvolena opět na 20 °C a doba sušení vždy 12 hodin (Tab. 4).

### **3.2.3.5 Plavení osiva**

Po sušení, byly všechny varianty vystaveny procesu plavení. Tento krok spočíval ve vsypání jednotlivých variant do kádinek s vodou, kde strávily 5 minut při občasném zamíchání, aby se do kontaktu s vodou dostaly všechny semena celým povrchem. Tímto bylo dosaženo separace vzorků na oddíl plovoucí (mrtvá semena) a oddíl sedimentovaný (živá semena). Plovoucí oddíl byl následně odebrán pomocí síta a umístěn na kovová lůžka s bavlněným klíčným lůžkem a vlhkým filtračním papírem s popisem o jakou variantu se jedná. Sedimentované frakce, byly opět pomocí síta vyňaty z vody a umístěny na klíčidla stejným způsobem jako frakce plovoucí.

Většina vzorků měla větší či menší potenciál k poskytnutí zdárných výsledků, až na vzorky z klimaboxu, kde byly všechny semena zařazena do kategorie mrtvých semen. To bylo pravděpodobně způsobeno nadměrným vysušením osiva při procesu inkubace a tím zůstalo při následném plavení na hladině. Poměrně dobrých výsledků okolo 80 % klíčivosti živých semen dosáhly vzorky inkubované ve speciálních nádobách, sáčcích a také vzorky na petriho miskách, které prošly přípravou máčení, nikoli už dovlhčovaný vzorek. Klíčivost semen zařazených do mrtvých je zde samozřejmě nežádoucí. Zde nejlepšího výsledku dosáhl vzorek inkubovaný 2 hodiny v inkubátoru v sáčku, přičemž klíčivost mrtvé frakce byla jen 16,4 %. Další poměrně dobrých výsledků s klíčivostí pod 50 % dosahovaly vzorky inkubované ve speciálních nádobách. Tyto výsledky nastavily směr pro další pokus, k použití speciálních nádob a sáčků, jež se poměrně osvědčily.



Tab. 2: 1. Přehled variant 1. série měření

Označení varianty	Úprava vlhkosti před inkubací	Podmínky inkubace			Sušení	
		Teplota (°C)	Délka (dny)	Prostředí	Teplota (°C)	Délka (hod)
JN - 1máč - 20/4	1 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	4
JN - 0máč - 20/4	bez máčení	15	3	Speciální nádoba	20	4
JN - 2máč - 20/4	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	4
JN - 2máč - 20/3	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	3
JN - 2máč - 20/2	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	2
JN - 2máč - 25/4	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	25	4
JN - 2máč - 20/5	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	5
JN - 2máč - 20/5 + 25/1	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20 + 25	5 + 1
JN - 2máč - 20/5 + 25/2	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20 + 25	5 + 2
JN - 2máč - 25/3	2 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	25	3
Petri - 2máč - 20/4	2 denní máčení	15	3	Petriho miska	20	4

Tab. 3: Přehled variant 2. série měření

Označení varianty	Úprava vlhkosti před inkubací	Podmínky inkubace			Sušení	
		Teplota (°C)	Délka (dny)	Prostředí	Teplota (°C)	Délka (hod)
JN - máč - 20/2	1 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	2
JN - máč - 20/8	1 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	8
JN - máč - 20/12	1 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	12
JN - dovlhč - 20/6	dovlhčení	15	3	Speciální nádoba	20	6
Petri - máč - 20/2	1 denní máčení	15	3	Petriho miska	20	2
Petri - máč - 20/8	1 denní máčení	15	3	Petriho miska	20	8
Petri - dovlhč - 20/2	dovlhčení	15	3	Petriho miska	20	2
K.box - máč - filtr - 20/2	1 denní máčení	15	3	Klimabox	20	20
K.box - máč - bez filtr - 20/2	1 denní máčení	15	3	Klimabox	20	20
K.box - máč - filtr - 20/8	1 denní máčení	15	3	Klimabox	20	20
K.box - máč - bez filtr - 20/8	1 denní máčení	15	3	Klimabox	20	20
Sáček - máč - 20/2	1 denní máčení	15	3	Sáček	20	20
Sáček - máč - 20/6	1 denní máčení	15	3	Sáček	20	20
Sáček - máč - 20/8	1 denní máčení	15	3	Sáček	20	20

Tab. 4: Přehled variant 3. série měření

Označení varianty	Úprava vlhkosti před inkubací	Podmínky inkubace			Sušení	
		Teplota (°C)	Délka (dny)	Prostředí	Teplota (°C)	Délka (hod)
JN - dovlhč - 20/12	dovlhčení	15	3	Speciální nádoba	20	12
JN - máč - 20/12	1 denní máčení	15	3	Speciální nádoba	20	12
Sáček - dovlhč - 20/12	dovlhčení	15	3	Sáček	20	12
Sáček - máč - 20/12	1 denní máčení	15	3	Sáček	20	12

## 4. Výsledky

### 4.1 Zkouška klíčivosti osiva

Energie klíčení u oddílu osiva BO1 po 7 dnech na klíčovkách vyšla 34 % (Tab. 5), což je proti hodnotě poskytnuté semenářským závodem (dále jen „kontrola“) 27 %, více o 7 %. U oddílu osiva BO2 vyšla průměrná energie klíčení 17,25 %. Rozdíl proti kontrole, která uvádí hodnotu 14 %, je 3,25 %. Oddíl smrku SM1 s průměrnou energií klíčení 4,75 % se od kontroly (1 %) odchyluje o 3,75 %. Energie klíčení u oddílu SM2, která vyšla průměrně 26% se od kontroly, která udává hodnotu 3 % rozdílná o celých 23 %. Toto mohlo být způsobeno odlišnou délkou a způsoby skladování a transportu. Také mohl být výsledek zkreslen měřením vyklíčených semen s klíčkem 2x délky semene, zatímco semenářský závod pracoval se 4x délkou.

Tab. 5: Aritmetický průměr energie klíčení testovaných oddílů osiva

Varianta	Průměrná energie klíčení	Kontrola
BO - 1	34	27
BO - 2	17,25	14
SM - 1	4,75	1
SM - 2	26	3

Průměrná hodnota vyklíčených semen za 21 dní u oddílu osiva BO1 vyšla 52,75 % (Tab. 6). S kontrolou ze semenářského závodu, který udává hodnotu 51 %, se odlišuje jen o 1,75 %. Dle normy ČSN 48 1211, je povolený rozdíl mezi opakováními, při průměrné klíčivosti 52,75 %, 20 % a tedy jsou výsledné hodnoty v rámci povolené tolerance. Bylo zde stanoveno také 21,5 % svěžích semen, která jsou zdravá, a je u nich značná pravděpodobnost vyklíčení. Toto je však značně problematické, a proto pravděpodobně semenářský závod zařadil jiná semena než klíčivá do mrtvých. Bylo zjištěno také 2,75 % prázdných semen u borovice a až 6,25 % prázdných semen u osiva smrku. U oddílu SM1 vyšla průměrná klíčivost 35,5 %, což je proti kontrole (26 %) více o 8,5 %. Díky zjištěným výsledkům bylo potvrzeno, že osivo je vhodné pro užití metody IDS pro testování.

Tab. 6: Aritmetický průměr výsledků zkoušek klíčivosti u testovaných oddílů osiva

Varianta	Klíčivá	kontrola	Prázdná	kontrola	Mrtvá	kontrola	Svěží	kontrola
BO - 1	52,75	51	2,75	0	23	38	21,5	0
SM - 1	35,5	26	6,25	0	34,25	72	24	0

## 4.2 Zjišťování obsahu vody

Po vysušení několika vzorků osiva BO1 byl naměřen obsah vody cca 6,5 % (Tab. 7), což je obsah vody vhodný pro skladování ortodoxních semen a tedy i použitého osiva borovice.

Tab. 7: Obsah vody v testovaném oddílu osiva

Varianta	Hmotnost osiva před sušením (g)	Hmotnost osiva po sušení (g)	Obsah vody (%)
BO1 - v1	4,78	4,47	6,52
BO1 - v2	4,72	4,41	6,59

Podle normy ČSN 48 1211 je povolený rozdíl obsahu vody mezi dvěma rozborovými vzorky použitého osiva 0,3 %, což je v rámci tolerance.

Tab. 8: Obsah vody po máčení

Varianta	Hmotnost po máčení (g)	Hmotnost po sušení (g)	Obsah vody po máčení (%)
dovlhč 1d/3	2,9	2,09	38,8
dovlhč 1d/3	2,97	2,12	40,1
máč 1d/21	3,19	2,12	50,5
máč 1d/21	3,59	2,39	50,2
máč 1d/21	3,13	2,11	48,3

Z tabulky je patrné, že jednodenní máčení zvýšilo obsah vody na cca 50 % (Tab. 8). Dále bylo zamýšleno dovlhčením dosáhnout obsahu vody 30 %, což se zcela nepodařilo, neboť dovlhčené vzorky dosahovaly hodnot cca 40 % vody.

### Obsah vody po inkubaci

Po inkubaci po dobu 3 dnů a za teploty 15 °C, byly použité vzorky opětovně zváženy, vysušeny v sušárně po dobu 17 hodin, při teplotě 105 °C a zvážena sušina, čímž byla zjištěna vlhkost osiva po inkubaci.

Tab. 9: Obsah vody po inkubaci

Varianta	Hmotnost po máčení (g)	Hmotnost po inkubaci (g)	Hmotnost po sušení (g)	Obsah vody po inkubaci (%)
dovlhč 1d/3 - JN	3,42	3,43	2,31	48,5
dovlhč 1d/3 - Sáč	3,69	3,7	2,62	41,2
máč 1d/21 - Sáč	3,82	3,79	2,55	48,6
máč 1d/21 - JN	3,32	3,42	2,23	53,4

V uvedené tabulce můžeme vyzorovat změnu hlavně u dovlhčovaného vzorku, který byl inkubován ve speciální nádobě. Tento nabyl vlhkosti o 10 % vyšší (Tab. 9), než byla jeho vlhkost po dovlhčení, přičemž u ostatních vzorků se vlhkost změnila jen nepatrně.

### 4.3 Vlastní ověřování metody IDS

Cílem měření, bylo dosažení minima klíčivých semen ve frakci mrtvých semen, která při plavení zůstávala na hladině a maximum klíčivých semen ve frakci živých semen, která při plavení sedimentovala na dně nádoby. Dalším požadavkem byl co nejnižší počet nevyklíčených semen v této frakci, přičemž podíl živých a mrtvých semen by měl být dle kontroly klíčivosti (51 %) zhruba stejný. Z prvních výsledků bylo zjištěno, že se tomuto nejvíce blíží varianty s klíčivostí 52,4 %, 48,5 % a 54,5 % (Tab. 11). Nejnižší klíčivost byla naměřena 41,1 % a 42,1 %, kde byla nízká klíčivost pravděpodobně způsobena vyšší teplotou nastavenou při sušení osiva. Nejvyšší klíčivosti dosahuje varianta inkubace na Petriho misce, kde však bylo v živé frakci pouze 69 semen, což je 18,9 % z celkového množství (Tab. 12). Při tomto množství je výsledek značně zkreslený. To bylo pravděpodobně způsobeno vyschnutím filtračních papírů a tím také osiva během 3 denní inkubace, což mělo za následek nižší schopnost absorbování vody při plavení a tedy větší

podíl osiva zůstal na hladině (frakce mrtvých semen). Ke kontrolní hodnotě podílu mrtvých semen (38%) se významněji neblížilo žádné z užitých měření a tedy bylo třeba nadále zkoušet další možnosti. Ke kontrolní hodnotě energie klíčení (27 %) se několik variant značně blíží. U žádné varianty není v živé frakci nižší hodnota energie klíčení nižší. Díky tomuto měření byla stanovena nevhodnější teplota sušení 20 °C a doba sušení zkrácena, či prodloužena v závislosti na použité metodě inkubace.

Tab. 10: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (ks) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - 1máč - 20/4	1	6	138	238	1	6	197	179
JN - 0máč - 20/4	2	14	156	211	3	13	224	143
JN - 2máč - 20/4	0	28	133	230	0	28	176	187
JN - 2máč - 20/3	2	34	115	230	6	30	194	151
JN - 2máč - 20/2	2	20	128	191	4	18	191	128
JN - 2máč - 25/4	0	27	95	253	1	26	143	205
JN - 2máč - 20/5	1	22	110	248	1	22	158	200
JN - 2máč - 20/5 + 25/1	4	57	142	177	6	55	200	119
JN - 2máč - 20/5 + 25/2	2	57	110	213	7	52	176	147
JN - 2máč - 25/3	2	5	109	252	2	5	152	209
Petri - 2máč - 20/4	78	218	37	32	144	152	50	19

Tab. 11: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (v %) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - 1máč - 20/4	14,3	85,7	36,7	63,3	14,3	85,7	52,4	47,6
JN - 0máč - 20/4	12,5	87,5	42,5	57,5	18,8	81,3	61	39
JN - 2máč - 20/4	0	100	36,6	63,4	0	100	48,5	51,5
JN - 2máč - 20/3	5,6	94,4	33,3	66,7	16,7	83,3	56,2	43,8
JN - 2máč - 20/2	9,1	90,9	40,1	59,9	18,2	81,8	59,9	40,1
JN - 2máč - 25/4	0	100,0	27,3	72,7	3,7	96,3	41,1	58,9
JN - 2máč - 20/5	4,3	95,7	30,7	69,3	4,3	95,7	44,1	55,9
JN - 2máč - 20/5 + 25/1	6,6	93,4	44,5	55,5	9,8	90,2	62,7	37,3
JN - 2máč - 20/5 + 25/2	3,4	96,6	34,1	65,9	11,9	88,1	54,5	45,5
JN - 2máč - 25/3	28,6	71,4	30,2	69,8	28,6	71,4	42,1	57,9
Petri - 2máč - 20/4	26,4	73,6	53,6	46,4	48,6	51,4	72,5	27,5

Tab. 12: Podíl mrtvé (plovoucí) a živé (sedimentované) frakce osiva

Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)	Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)
	ks			%	
JN - 1máč - 20/4	7	376	JN - 1máč - 20/4	1,8	98,2
JN - 0máč - 20/4	16	367	JN - 0máč - 20/4	4,2	95,8
JN - 2máč - 20/4	28	363	JN - 2máč - 20/4	7,2	92,8
JN - 2máč - 20/3	36	345	JN - 2máč - 20/3	9,4	90,6
JN - 2máč - 20/2	22	319	JN - 2máč - 20/2	6,5	93,5
JN - 2máč - 25/4	27	348	JN - 2máč - 25/4	7,2	92,8
JN - 2máč - 20/5	23	358	JN - 2máč - 20/5	6	94
JN - 2máč - 20/5 + 25/1	61	319	JN - 2máč - 20/5 + 25/1	16,1	83,9
JN - 2máč - 20/5 + 25/2	59	323	JN - 2máč - 20/5 + 25/2	15,4	84,6
JN - 2máč - 25/3	7	361	JN - 2máč - 25/3	1,9	98,1
Petri - 2máč - 20/4	296	69	Petri - 2máč - 20/4	81,1	18,9

Ve druhém měření byl zaznamenán značný neúspěch při využití sušení osiva v klimaboxu. Osivo bylo po sušení plaveno. Veškeré osivo však zůstávalo na hladině a tím zařazeno do frakce mrtvých semen. Toto mohlo být způsobeno nadměrným vysušením osiva během inkubace v klimaboxu. Dále je zde značný nárůst podílu vyklíčených „mrtvých“ semen, oproti prvnímu měření. Zajímavé výsledky poskytla varianta Sáček – máč – 20/2 (Tab. 14), kde je vysoký podíl klíčivých semen v živé frakci a naopak nízký ve frakci mrtvé. Opět je zde však problém, že podíl mrtvých semen je pouze 14,4 % ze vzorku. Podíl mrtvých semen nejbližší kontrole (38%), dosahují varianty sušené delší dobu (Tab. 15). Z tohoto důvodu byla v následujícím měření doba sušení prodloužena a využito prostředí pro inkubaci, které se osvědčilo nejvíce. Energie klíčení je oproti kontrole (27 %) také výrazně vyšší u všech živých variant, kromě zmíněných variant z klimaboxu. Hodnoty energie klíčení jsou dokonce vyšší než v předchozím měření (Tab. 11).



Tab. 13: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (ks) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - máč - 20/2	15	40	190	121	19	36	228	83
JN - máč - 20/8	37	68	182	52	49	56	199	35
JN - máč - 20/12	98	156	88	35	120	134	100	23
JN - dovlhč - 20/6	65	82	148	70	80	67	165	53
Petri - máč - 20/2	16	27	186	135	19	24	212	109
Petri - máč - 20/8	24	76	192	83	31	69	215	60
Petri - dovlhč - 20/2	172	170	20	4	209	133	21	3
K.box - máč - filtr - 20/2	165	201	0	2	210	156	0	2
K.box - máč - bez filtr - 20/2	198	165	0	3	234	129	0	3
K.box - máč - filtr - 20/8	178	201	0	2	228	151	0	2
K.box - máč - bez filtr - 20/8	165	170	1	0	209	126	1	0
Sáček - máč - 20/2	6	49	195	132	9	46	239	88
Sáček - máč - 20/6	24	66	157	92	36	54	197	52
Sáček - máč - 20/8	58	66	144	68	76	48	168	44

Tab. 14: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (v %) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - máč - 20/2	27,3	72,7	61,1	38,9	34,5	65,5	73,3	26,7
JN - máč - 20/8	35,2	64,8	77,8	22,2	46,7	53,3	85	15
JN - máč - 20/12	38,6	61,4	71,5	28,5	47,2	52,8	81,3	18,7
JN - dovlhč - 20/6	44,2	55,8	67,9	32,1	54,4	45,6	75,7	24,3
Petri - máč - 20/2	37,2	62,8	57,9	42,1	44,2	55,8	66	34
Petri - máč - 20/8	24	76	69,8	30,2	31	69	78,2	21,8
Petri - dovlhč - 20/2	50,3	49,7	83,3	16,7	61,1	38,9	87,5	12,5
K.box - máč - filtr - 20/2	45,1	54,9	0	100	57,4	42,6	0	100
K.box - máč - bez filtr - 20/2	54,5	45,5	0	100	64,5	35,5	0	100
K.box - máč - filtr - 20/8	47	53	0	100	60,2	39,8	0	100
K.box - máč - bez filtr - 20/8	49,3	50,7	100	0	62,4	37,6	100	0
Sáček - máč - 20/2	10,9	89,1	59,6	40,4	16,4	83,6	73,1	26,9
Sáček - máč - 20/6	26,7	73,3	63,1	36,9	40	60	79,1	20,9
Sáček - máč - 20/8	46,8	53,2	67,9	32,1	61,3	38,7	79,2	20,8

Tab. 15: Podíl mrtvé (plovoucí) a živé (sedimentované) frakce osiva

Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)	Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)
	ks			%	
JN - máč - 20/2	55	311	JN - máč - 20/2	15	85
JN - máč - 20/8	105	234	JN - máč - 20/8	31	69
JN - máč - 20/12	254	123	JN - máč - 20/12	67,4	32,6
JN - dovlhč - 20/6	147	218	JN - dovlhč - 20/6	40,3	59,7
Petri - máč - 20/2	43	321	Petri - máč - 20/2	11,8	88,2
Petri - máč - 20/8	100	275	Petri - máč - 20/8	26,7	73,3
Petri - dovlhč - 20/2	342	24	Petri - dovlhč - 20/2	93,4	6,6
K.box - máč - filtr - 20/2	366	2	K.box - máč - filtr - 20/2	99,5	0,5
K.box - máč - bez filtr - 20/2	363	3	K.box - máč - bez filtr - 20/2	99,2	0,8
K.box - máč - filtr - 20/8	379	2	K.box - máč - filtr - 20/8	99,5	0,5
K.box - máč - bez filtr - 20/8	335	1	K.box - máč - bez filtr - 20/8	99,7	0,3
Sáček - máč - 20/2	55	327	Sáček - máč - 20/2	14,4	85,6
Sáček - máč - 20/6	90	249	Sáček - máč - 20/6	26,5	73,5
Sáček - máč - 20/8	124	212	Sáček - máč - 20/8	36,9	63,1

Při třetím měření bylo využito poznatků z předchozích a doba sušení prodloužena na 12 hodin. Inkubace probíhala v prostředí ve speciálně upravených nádobách a sáčcích, které v předchozích měřeních poskytnuly nejlepší výsledky. Z tabulky je patrné, že lepších výsledků klíčivosti dosahují varianty dovlhčované a to jak inkubované ve speciální nádobě s klíčivostí 87,5 % (Tab. 17), tak v igelitovém sáčku s klíčivostí 89,5 %, což značí minimum neklíčícího osiva ve frakci a tedy pomyslné dosažení jednoho z cílů měření. Jako nejperspektivnější metoda se jeví varianta JN – dovlhč – 20/12, ale opět je u všech variant vysoký podíl mrtvých semen (Tab. 18), tedy semen, která při plavení zůstala na hladině. Oproti kontrolní hodnotě (38 %) dosahují až dvojnásobku. Toto mohlo být způsobeno

příliš dlouhou dobou při sušení. Energie klíčení všech živých variant oproti kontrole, stejně jako u předchozích měření, značně převyšuje hodnotu 27 % z kontroly.

Tab. 16: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (ks) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - dovlhč - 20/12	85	162	88	40	139	108	112	16
JN - máč - 20/12	119	166	87	53	168	117	114	25
Sáček - dovlhč - 20/12	162	129	61	15	182	109	68	8
Sáček - máč - 20/12	100	134	108	40	127	107	122	26

Tab. 17: Počet vyklíčených a nevyklíčených semen (v %) v jednotlivých variantách

Varianta	Energie klíčení (po 1 týdnu)				Klíčivost (po 3 týdnech)			
	Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)		Mrtvá semena (plovoucí)		Živá semena (sedimentovaná)	
	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená	Vyklíčená	Nevyklíčená
JN - dovlhč - 20/12	34,4	65,6	68,8	31,3	56,3	43,7	87,5	12,5
JN - máč - 20/12	41,8	58,2	62,6	38,1	58,9	41,1	82	18
Sáček - dovlhč - 20/12	55,7	44,3	80,3	19,7	62,5	37,5	89,5	10,5
Sáček - máč - 20/12	42,7	57,3	73,0	27	54,3	45,7	82,4	17,6

Tab. 18: Podíl mrtvé (plovoucí) a živé (sedimentované) frakce osiva

Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)	Varianta	Mrtvá semena (plovoucí)	Živá semena (sedimentovaná)
	ks			%	
JN - dovlhč - 20/12	247	128	JN - dovlhč - 20/12	65,9	34,1
JN - máč - 20/12	285	139	JN - máč - 20/12	67,2	32,8
Sáček - dovlhč - 20/12	291	76	Sáček - dovlhč - 20/12	79,3	20,7
Sáček - máč - 20/12	234	148	Sáček - máč - 20/12	61,3	38,7

## 5. DISKUZE

Kvalitní osivo, je jednou z hlavních podmínek úspěšné síje, jak už přímo při zalesňování, tak ve školkařství. Z tohoto důvodu je eliminace neproduktivních semen a podpora vitality, energie klíčení a klíčivosti, velice vhodným krokem předosevní přípravy. Při využití metody IDS je tedy požadavek na eliminaci, ale velice příhodná je současná stimulaci pozitivních vlastností pro vzcházení osiva.

U testování metody IDS v naší práci byla nejprve zvolena úprava vlhkosti máčáním osiva ve vodě, po dobu 1 nebo 2 dnů, za pokojové teploty, stejně jako tento krok ve své práci zkoušel SIMAK (1984), pouze však po dobu 16 hodin. Díky tomuto kroku, by mělo být dosaženo lepších podmínek osiva pro samotnou inkubaci. Následně bylo osivo inkubováno, a to hlavně na základě poznatků o použití metody IDS na osivu borovice lesní, kterých ve své práci dosáhnul BERGSTEN (1993). Stejně jako zmiňuje autor, byla při inkubaci udržována teplota 15 °C a doba inkubace stanovena na 3 dny. Pro proces sušení uvádí BERGSTEN (1993) vhodnými prostředky síta v sušárně, bubnovou sušičku a další. Jako nejvhodnější pro tuto práci byla zvolena horkovzdušná sušárna, kde bylo osivo uloženo v rozdílných podmínkách po dobu 3 – 7 hodin. Autor zmiňuje teplotu sušení 20 – 25 °C, čehož bylo také při výzkumu využito. Jako způsob separace, bylo využito vodního sloupce, stejně jako tento způsob popisuje BERGSTEN (1993), který však dále uvádí možnost použití sedimentačního koryta, které však pro náš účel nebylo vyhodnoceno jako vhodné řešení. Při provádění zkoušky klíčivosti bylo hlavním cílem rozdělit osivo na frakce sedimentované (živé) a plovoucí (mrtvé) v podíle dle kontrolních údajů ze semenářského závodu. Samotná zkouška klíčivosti měla následně ověřit, jsou-li v plovoucí frakci skutečně mrtvá, a v sedimentované frakci živá semena. Díky výsledkům bylo zjištěno, že inkubace v Petriho misce, tak jak byla provedena, není vhodným řešením. Celých 81,1 % semen bylo zařazeno do skupiny mrtvá, což bylo pravděpodobně způsobeno vyschnutím filtračních papírů během inkubace a tím také zhoršení vlastnosti absorpce vody při následném plavení. Mohlo by být dosaženo lepšího výsledku užitím materiálu, který déle drží vlhkost nebo pravidelným vlhčením, což by však bylo značnou komplikací při procesu inkubace. Další výsledky podílu mrtvých a živých semen jsou u všech variant značně ve prospěch živé frakce, což opět není dobrým výsledkem, neboť kontrolní údaj má hodnotu 38 % mrtvých semen. Tento rozdíl byl pravděpodobně způsoben kratší dobou při sušení. Energii klíčení a klíčivost jsou požadavkem hlavně u živé frakce. Energie klíčení nabývá ve všech případech vyšších hodnot, než je uvedena hodnota kontroly (27 %). Nejsou zde patrné výraznější rozdíly způsobené dobou máčání, a tedy je možné předpokládat, že stimulace energie klíčení proběhla v jiné části procesu. Celková klíčivost také většinou dosahovala vyšší hodnoty než kontrola (51 %). Nejnížší hodnoty se vyskytují u variant, které byly sušeny při teplotě 25 °C, z čehož můžeme usuzovat, že tato teplota je již příliš vysoká a bude vhodné využívat teplot nižších.

U druhého měření byla, ohledně úpravy vlhkosti před inkubací, kromě máčení využita také metoda dovlhčení osiva na 30 % obsahu vody. Po dodání vypočítaného objemu vody, však byla zjištěna vlhkost cca 40 %, což mohlo být způsobeno chybou výpočtu nebo nízkou teplotou při procesu dovlhčování. Následné povrchové osušení máčeného osiva by mělo snížit povrchovou vlhkost a tedy i možnost předčasného klíčení či výskytu plísně. Samotná inkubace proběhla na základě výsledků předchozího měření, s využitím dalších prostředků, které by mohly osivo při inkubaci dostatečně připravit pro následující kroky. Proces sušení proběhl u všech variant za teploty 20 °C, která byla zvolena jako nejvhodnější a po dobu 2-12 hodin, kdy bylo opět využito předchozího měření a pracováno hlavně s delšími časovými intervaly. Po provedení plavení byly získány frakce mrtvé a živé ze všech variant. S jistotou lze tvrdit, že testovaná inkubace v klimaboxu, je nevhodným způsobem, stejně jako dovlhčovaná varianta inkubovaná na petriho misce a sušená 2 hodiny. U těchto variant byla při plavení téměř všechna semena zařazena do frakce mrtvá. U varianty s petriho miskou to bylo pravděpodobně opět způsobeno vyschnutím filtračního papíru během inkubace. U variant z klimaboxu je možné, že byla udržována příliš nízká vzdušná vlhkost, ale bylo by potřeba dalších měření, aby tato možnost byla potvrzena. Podílu mrtvých semen dle kontroly (38 %) se nejvíce blíží varianty sušené po dobu 8 hodin. Z čehož lze usoudit, že pro sušení je vhodnější delší doba za konstantní teploty 20 °C. Energie klíčení a klíčivost je opět nejvyšší u variant sušených po dobu 8 hodin (kromě varianty Petro – dovlhč – 20/2, kde bylo v živé frakci jen 24 semen), z čehož vyplývá, že tyto jsou perspektivní pro další výzkum.

V posledním měření byly při úpravě vlhkosti před inkubací opět využity obě metody (1 denní máčení a dovlhčení), které v předchozím měření dosahovaly dobrých výsledků. Po povrchovém osušení máčených variant byla nastavena inkubace, dle získaných poznatků z předchozích měření. Při sušení byla následně ponechána teplota 20 °C, ale doba sušení u všech variant byla nastavena na 12 hodin, což by mělo mít pozitivní vliv na vlastnosti osiva. Z podílu mrtvých semen, který je proti kontrolní hodnotě více než dvojnásobný, lze usoudit, že sušení po dobu 12 hodin, je již příliš dlouhé a osivo pak díky nedostatečné absorpci zůstane při procesu plavení na hladině. Co se týče energie klíčení a klíčivosti, vyšly všechny varianty značně pozitivně. Je patrné, že dovlhčované varianty dosahují téměř 90 % klíčivosti, což značí minimum neklíčivých semen v živé frakci, ale i varianty máčené nabývají hodnoty přes 80 %, takže by bylo vhodné pokračovat u obou variant. Možným dalším postupem by bylo ponechat podmínky až do procesu sušení, kde by bylo vhodné zkoušet časy v rozmezí 6-8 hodin nebo. Další možností by bylo sušení po dobu 12 hodin, ale za nižší teploty, aby osivu nebyla příliš odebrána voda.

Díky provedeným měřením lze tvrdit, že úprava vlhkosti máčením či dovlhčením, nabývá ve výsledku rozdílů u klíčivosti osiva v rámci jednotek procent, což není zásadní problém, a tedy jsou obě možnosti vhodné k dalším testům. Podmínky inkubace měly při tomto výzkumu poměrně zásadnější roli a to hlavně použitá metoda inkubace v klimaboxu a petriho miskách, kde bylo bezmála všechno řazeno do frakce mrtvé. Tudíž tyto metody

by byly vyhodnoceny jako neperspektivní, či neprůkazné a v dalších testech je třeba se zaměřit na metodu inkubace v sáčku a speciální nádobě. Proces sušení byl proveden za různých teplot, kde se rozhodlo o nastavení konstantní teploty na 20 °C, a dob sušení, kde byla vyhodnocena doba delší, jako perspektivnější pro další testování.

## 6. ZÁVĚR

Cílem práce bylo pomocí metody IDS eliminovat neproduktivní semena borovice lesní v oddíle osiva. Bylo dosaženo poměrně směřodatných výsledků, zvláště co se týče energie klíčení a klíčivosti osiva v živé frakci, což jsou jedny z hlavních vlastností pro vzcházivost osiva. Stále by však bylo potřeba dalších měření a zkoušení dalších variant, především co se týče doby sušení a způsobů inkubace osiva. Nepodařilo se tedy tímto výzkumem najít nejlepší podmínky pro jednotlivé kroky metody IDS, ale byla nastavena určitá cesta, kudy by se mohl další výzkum směřovat a jakých částí se naopak vyvarovat. Pro následná měření by bylo vhodné začít s dobou máčení osiva po dobu 1 dne při teplotě 20 °C nebo dovlhčení osiva na 30 % při 4 °C. Při inkubaci je důležité udržet danou teplotu (15 °C) a především vlhkost (100 %), aby nedošlo k nadměrnému vysušení osiva. U následného sušení je třeba volit teplotu 20 °C po dobu 6-8 hodin a podle výsledků upravovat. Plavení osiva po dobu 5 minut bylo vyhodnoceno jako vhodné.



## 7. SUMMARY

The research applied the IDS method to separate non-productive and dead seeds from the Scots pine (*Pinus sylvestris*) seed. Thanks to the findings of the authors who deal with the issue, the basic conditions were set and adjusted according to the best results after each measurement.

At the beginning, germination and germination energy tests were performed to determine content of the live and dead seeds in the sample. The final values were suitable for application of the IDS method. In addition, a test was conducted to determine the water content, where a value suitable for the storage of orthodox seed was produced, and thus the seed contained sufficient water for use in research. The first step in application of the IDS method was to adjust seed moisture. This was done by dipping in water at 20 °C (máč) for 1 day or by placing it in a sachet with a set water content at a temperature of 4 °C for 1 day in order to increase humidity on 30 %. The next step was the surface drying, which was done with the most of the soaked variants. Each variant were then incubated at 20 °C for 3 days. In the incubation process, several variants were chosen for a larger number of different results, in order to determine which environment best maintains the desired seed moisture during incubation. Namely variants in a sachet, climabox, petri dishes and in a special container. After incubation, the seed was subjected to a drying process. This took place with temperatures between 20 °C and 25 °C for 2-12 hours. The procedure for the following measurements was further modified by each result. During the last step - the floating - the seeds were separated into the sedimentation (live) group and floating (dead) group, for which a control germination test was performed.

Entire research has provided relatively good results for some methods. Some variants are therefore promising for the next research.

## 8. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

PALÁTOVÁ, Eva. *Zakládání lesa I.: lesní semenářství*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2008. ISBN 978-80-7375-181-4.

ČSN 48 1211 *Lesní semenářství - Sběr, kvalita a zkoušky kvality semenného materiálu lesních dřevin: Forest seed management - Collection, quality and methods for testing forest tree seeds*. 60 s.

PROCHÁZKOVÁ, Z., BEZDĚČKOVÁ, L., KOLÁŘOVÁ, P., 2005. *Využití metody IDS (Incubation-Drying-Separation) pro zlepšení kvality oddílů semen některých jehličnanů*. Zprávy lesnického výzkumu, 2:108-114

PROCHÁZKOVÁ, Z., 2004. *Kvalitní osivo – základ intenzivních technologií KSM*. In: Možnosti použití sadebního materiálu z intenzivních školkařských technologií pro obnovu lesa. Sborník referátů z mezinárodního semináře. Opočno, 3.-4.6.2004, s. 35-39.

Zákon č. 149/2003 Sb., *Zákon o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin)*

### Internetové zdroje:

[1] <https://semenarskyzavod.cz/sluzby/>