

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra pícninářství a travníkářství**



**Bakalářská práce**

**Vliv očkování osiva vojtěšky seté na akumulaci dusíku  
u odrůd s různou úrovní symbiotické fixace.**

**Lázníčka Marián**

© 2012 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv očkování osiva vojtěšky seté na akumulaci dusíku u odrůd s různou úrovní symbiotické fixace" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.4.2012

---

## Poděkování

Rád bych na tomto místě poděkoval všem lidem, kteří mi pomohli při psaní práce poskytnutím cenných materiálů, informací, rad a připomínek.

Zvláštní dík patří především školitelce specialiste Ing. Kamile Máškové a školiteli bakalářské práce Ing. Josefu Haklovi, Ph.D.

## Souhrn

Vojtěška setá (*Medicago sativa*) patří do čeledi bobovité (*Fabaceae*). Je to vytrvalá, vícesečná bylina, která má v zemědělství důležitou roli. Je známo několik odrůd vojtěšky, které se liší svými vlastnostmi. Vojtěšku není třeba nijak přihnojovat dusíkem díky její fixaci vzdušného dusíku pomocí symbiózy s hlízkovitými bakteriemi. Symbióza může být nepříznivě ovlivněna vysokým i nízkým obsahem přijatelného dusíku v půdě. Fixaci dusíku lze zvýšit výběrem odrůdy šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci nebo přímou inokulací osiva či substrátu. Cílem bakalářské práce bylo porovnat akumulaci dusíku v rostlinách vojtěšky seté v závislosti na typu odrůdy a použité očkovací látce. Nádobový pokus probíhal v roce 2010 ve skleníku České zemědělské univerzity v Praze. Substrátem v nádobových pokusech byla černozem, která nebyla dlouhodobě využívána pro pěstování vojtěšky seté. Do studie byly zahrnuty odrůdy Jarka a Oslava, která byla vyšlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci. Jako očkovací látky byly vybrány Nitrazon +N a Rizobin LF. Od každé odrůdy byly testovány celkem tři varianty, dvě očkované jednotlivými preparáty a jedna neočkovaná. Zálivka byla stejná pro všechny varianty. Odběr byl proveden ve stádiu kvetení. Z výsledků vyplynulo, že pouze u odrůdy Oslava, očkované Nitrazonem +N, se v případě výnosu sušiny objevily hodnoty, které se přiblížily statistické průkaznosti ( $p = 0,073$ ). U této odrůdy bylo také dosaženo vyšších hodnot u počtu lodyh na rostlině a délky lodyh, ale tyto hodnoty nebyly statisticky průkazné. U odrůdy Jarka žádný ze sledovaných parametrů nebyl statisticky průkazný.

**Klíčová slova:** vojtěška setá, píče, biologická fixace dusíku, očkování, inokulace

## Summary

The alfalfa (*Medicago sativa*) belongs to family *Fabaceae*. It is perennial plant, which has an important role in agriculture. Many varieties of alfalfa are known. They differ in their properties. The nodules of alfalfa contain bacteria (*Sinorhizobium meliloti*) which help to fixate atmospheric nitrogen due to the symbiosis. This symbiosis could be negatively influenced by high or low content of nitrogen in the soil. The nitrogen fixation could be increased by selection of varieties bred for higher symbiotic fixation or inoculation of seeds and substrate. The aim of the bachelor thesis was to compare nitrogen accumulation in alfalfa plants depending on the type of variety and inoculants. The research was conducted in 2010 in greenhouse of the Czech University of Life Sciences in Prague. The muck soil was used for experiment in containers. This substrate was not used for growing of alfalfa for a long time. The varieties Jarka and Oslava were included into the presented study. The variety Oslava was bred for increased symbiotic fixation. Nitrazon +N and Rizobin LF were used for inoculation. Completely three variants (two inoculated and one non-inoculated) from each variety were tested. The irrigation of plants was same for all variants. The samples were obtained at the stage of flowering. According to the results, only in variety Oslava, inoculated by Nitrazon +N, in case of yield of dry matter the values were noticed near the statistical conclusiveness ( $p = 0,073$ ). In number and length of stems, higher values were also noticed in this variety. But these values were not statistically probable. In variety Jarka none of observed parameters were demonstrable.

**Key words:** alfalfa, forage, biological fixation of nitrogen, inoculation

## Obsah

1. Úvod.....	8
2. Cíl práce .....	9
3. Literární rešerše.....	10
3.1. Fixace dusíku .....	10
3.1.1. Proces infekce .....	11
3.1.2. Tvorba hlízky .....	13
3.2. Vojtěška setá .....	15
3.2.1. Plocha a výnos vojtěšky .....	16
3.2.2. Botanická a morfologická charakteristika.....	16
3.3. Vliv faktorů prostředí na fixaci dusíku u vojtěšky.....	18
3.3.1. Teplota.....	19
3.3.2. Půdní vlhkost.....	19
3.3.3. Světlo .....	19
3.3.4. pH.....	20
3.4. Agrotechnika .....	20
3.5. Šlechtění vojtěšky na vyšší symbiotickou fixaci .....	21
4. Materiál a metody .....	22
4.1. Charakteristika půdních podmínek stanoviště .....	22
4.2. Charakteristika pokusného materiálu .....	22
4.3. Založení a uspořádání pokusu .....	24
4.4. Hodnocené charakteristiky .....	24
4.4.1. Výnos píce.....	24
4.4.2. Hmotnost kořene .....	24
4.4.3. Aktivita nitrogenázy .....	24
5. Výsledky .....	26
5.1. Počet a délka lodyh .....	26
5.2. Výnos suché hmoty .....	26
5.3. Akumulace dusíku.....	27
5.4. Koncentrace dusíku .....	27
5.5. Aktivita nitrogenázy .....	28
6. Diskuze.....	29
7. Závěr .....	31
8. Seznam použité literatury.....	32
9. Přílohy .....	35

## 1. Úvod

V dějinách zemědělství i lidstva samotného najdeme jen málo tak pozitivních počinů, jakým bylo zařazení jetelovin do osevních postupů. Díky pěstování jetelovin se téměř dvojnásobně zvýšil výnos většiny plodin na orné půdě. Na stejné ploše bylo tedy možné chovat dvakrát až třikrát více dobytka. Vojtěška setá je důležitým zdrojem živin pro hospodářská zvířata, proto je nezbytné aby bylo produkováno dostatečné množství kvalitní a levné píče. Široká škála pozitivních účinků v osevním postupu řadí jeteloviny k nejvýraznějším zlepšujícím plodinám. Velkým přínosem pro půdní úrodnost je hluboký kořenový systém, díky kterému jsou přístupnější živiny i ze spodních vrstev. Po rozkladu kořenové soustavy se zpřístupní živiny jiným rostlinám, především dusík, který dokážou jeteloviny symbioticky poutat. Pokud chceme dosahovat vysokých a stabilních výnosů, je velice důležité udržet zdravý a nezaplevelený porost. Dále musíme dbát na předplodinu a zastoupení živin v půdě. V současné době dosahuje vojtěška v ČR výnosu přibližně 8 t.ha<sup>-1</sup> ročně, ale díky nově vyšlechtěným odrůdám dosahuje vojtěška výnosových potenciálů až přes 10 t. ha<sup>-1</sup>. Pro zvýšení výnosového potenciálu je důležité vybrat vhodnou odrůdu, dále pak správné založení porostu, jeho ošetřování a celkové využívání. Další možností je použití očkovacích preparátů, které nám zlepší příjem a fixaci vzdušného dusíku. Tato práce je založena na porovnání akumulace dusíku v rostlinách vojtěšky seté u odrůd s rozdílnou úrovní fixace vzdušného dusíku v závislosti na použitém očkovacím preparátu.

## **2. Cíl práce**

Cílem práce je v nádobovém pokusu porovnat akumulaci dusíku vojtěšky seté v závislosti na typu odrůdy a použití očkovacího preparátu.



### 3. Literární rešerše

Jako zdroj dusíku pro leguminózy i pro následné plodiny je význam biologické fixace znám již od 80. let 19. století, kdy byly izolovány čisté kultury rhizobií (Šimon a Mikanová, 2009)

#### 3.1. Fixace dusíku

Fixace dusíku u leguminóz je výslednicí komplexních a vysoce integrovaných dějů, zahrnuje všechna stadia interakcí mezi hostitelem a mikrosymbiontem. Změny v kterémkoli z těchto stadií mají za následek změnu v efektivitě fixačního procesu (Marečková, 1983). Leguminózy fixují dusík pro svou potřebu a jeho současné ztráty kořeny přímo do půdy jsou minimální. V hlízkách je 1–4 % z celkové rostlinné biomasy s obsahem 4–6 % dusíku, během fixace a asimilace je dusík transportován do ostatních částí rostliny. Hlavním zdrojem dusíku pro jiné druhy, ať již pěstované současně nebo jako následná plodina, jsou odumřelé hlízky, kořeny a listový spad (Sprent, 1979).

Dusík si vojtěška osvojuje z 60–90 % symbiózou nadorovitých bakterií, přičemž minerální dusík dodávaný do půdy snižuje přednost jetelovin – využívání vzdušného dusíku, což je ovšem závislé na mnoha faktorech. Jeteloviny jsou odkázány na půdní dusík pouze v několika týdnech počátečního růstu, kdy je však jejich potřeba velmi malá a při současné hladině minerálního N v půdě většinou dobře zabezpečena. Svědčí o tom i časté případy zvýšené koncentrace nitrátů v píci nad normální úroveň. Na druhé straně je třeba věnovat více pozornosti očkování osiva současnými novými kmeny hlízkových bakterií těsně před setím. Zajistíme tak dostatek efektivních kmenů hlízkových bakterií v blízkosti vytvářejících se kořenů mladých rostlin (Šantrůček *et al.*, 1995).

Samotné rostliny nemají enzym, který by aktivační energii pro redukci N<sub>2</sub> dovedl dostatečně snížit a mohou přijímat dusík jen ve formě nitrátových, amonných či amidických iontů. Tento enzym, nitrogenázu, mají různé diazotrofní organismy – bakterie, které veškerou biologickou fixaci (asimilaci) dusíku provádějí.

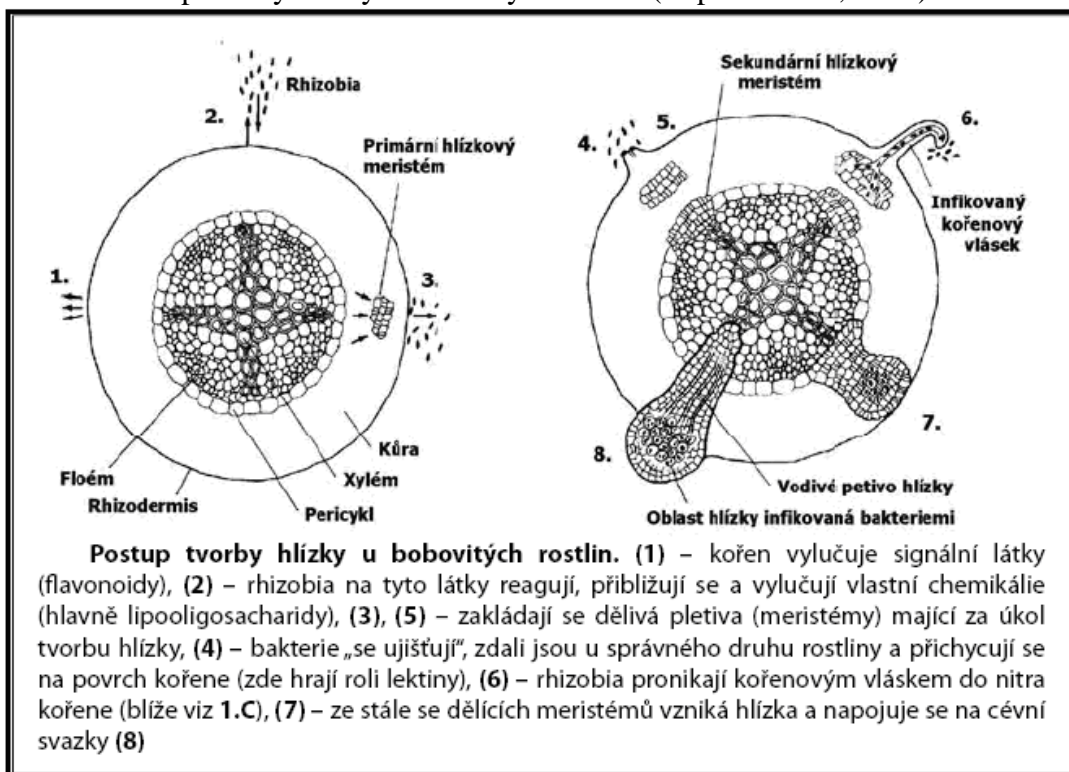
Hlízkové bakterie jsou běžnou součástí mikrobiálního společenstva půdy; žijí v půdě volně (v aerobním prostředí), ale bez rostlin dusík nefixují, ty jim však umožní si anaerobní prostředí si vytvořit. Tato redukce je energeticky velmi náročná – na redukci 1 molekuly N<sub>2</sub> se spotřebuje 15 molekul ATP (Tesařová, 1998) .

### 3.1.1. Proces infekce

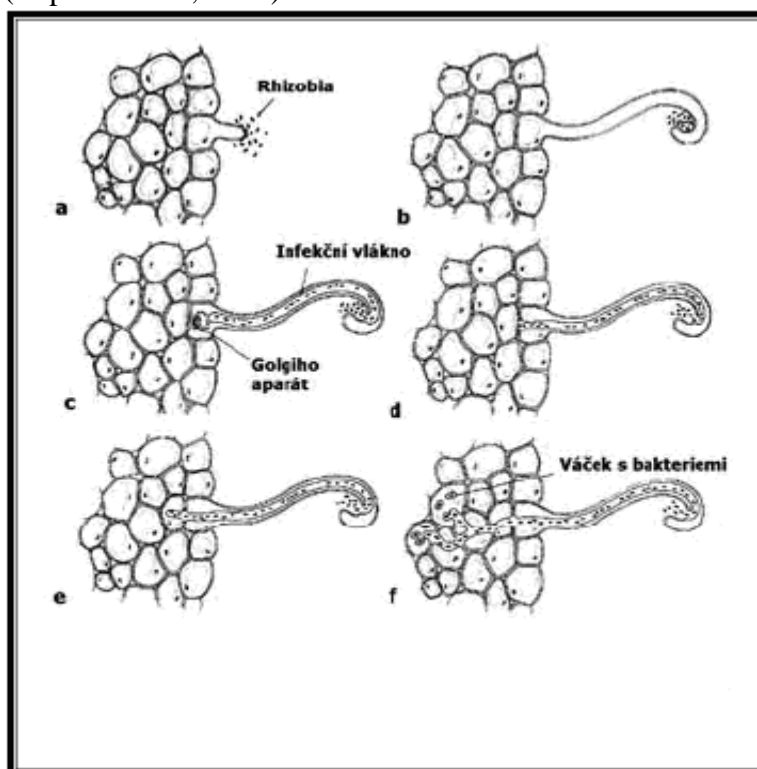
Proces vzniku hlízky je složitým a velmi zajímavým souborem interakcí mezi bakterií a hostitelskou rostlinou (viz obrázek 2.). Aby bakterie svou rostlinu vůbec našla, reaguje na některé látky vylučované kořeny a pohybuje se za nimi po směru jejich koncentračního spádu (chemicky je „stopuje“). Tyto látky patří mezi flavonoidy, sekundární metabolity, které kořen běžně vylučuje například při poranění. Signál z flavonoidů kromě pohybu bakterií také aktivuje některé bakteriální geny (tzv. geny Nod), díky nimž bakterie začne syntetizovat své vlastní chemikálie patřící tentokrát do skupiny lipooligosacharidů. Na lipooligosacharidy zase reaguje rostlina – v kořeni v blízkosti shlukujících se bakterií se začnou diferencovat speciální dělivá pletiva (tzv. hlízkové meristémy), která zahajují tvorbu vlastní hlízky. Zároveň se díky bakteriálnímu signálu začnou ohýbat blízké kořenové vlásky, vstupní brány do vnitřku kořene (viz obrázek 3.).

Ohnutí vlásku totiž naruší buněčnou stěnu a tím umožní kontakt bakterie přímo s cytoplazmatickou membránou hostitele. V místě tohoto kontaktu se začne membrána vchlipovat a infikovaným kořenovým vláskem začne prorůstat v podobě tzv. infekčního vlákna, plného bakterií. Toto vlákno pak vniká do dalších buněk (které jsou už součástí nově vznikající hlízky) a v nich se odškrcují váčky s jednotlivými bakteriemi. Bakterie se pak zvětší a změní svůj tvar (Čepička *et al.*, 2007).

Obr. 2. Postup tvorby hlízky u bobovitých rostlin (Čepička *et al.*, 2007)



Obr. 3. Postup pronikání bakterií rodu *Rhizobium* do kořene hostitelské rostliny (prostřednictvím kořenového vlásku) (Čepička *et al.*, 2007)



Zvětšené bakterie lokalizované v hlízce jsou nazývány bakteroidy. Jejich skupinky, 5-20 jedinců, jsou obaleny peribakteriální membránou, vzniklou invaginací plazmatické membrány hostitelské buňky. V cytosolu buněk obsahujících bakteroidy se nachází červený hemoprotein leghemoglobin. Tento protein působí nepřímo na fixaci dusíku snížením koncentrace kyslíku a snížením redoxpotenciálu uvnitř buňky. Genetická informace o tvorbě tohoto proteinu je nesena rostlinou a indukována přítomností bakterie (Mark *et al.*, 1987).

Výsledkem je tedy vnitrobuněčná symbióza – buňka hostitelské rostliny obsahuje cytoplazmatické váčky obydlené symbiotickými bakteriemi. Rostlina dodává bakteroidu energicky bohaté organické látky (především organické kyseliny malát a sukcinát) a ionty železa, molybdenu a síry a je za to odměňována amonnými kationy (NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> (Čepička *et al.*, 2007).

### 3.1.2. Tvorba hlízky

Samotná tvorba hlízek (viz obrázek 4.) začíná v okamžiku proniknutí infekčního vlákna ke korové buňce, tím dojde k indukci rychlého dělení této buňky, což vede k tvorbě hlízky. (Maier *et al.*, 2000).

Při umělé inokulaci osiva bakterie zachycené na jeho povrchu pronikají při klíčení do zárodečného kořínku a vzniká obvykle méně větších, často nahloučených, hlízek na křídlovém kořenu, případně v horní části postranních kořenů prvního řádu. Naproti tomu při přirozené infekci se obvykle vytváří větší počet menších hlízek rozmístěných po celém systému kořenů (Štranc *et al.*, 2005).

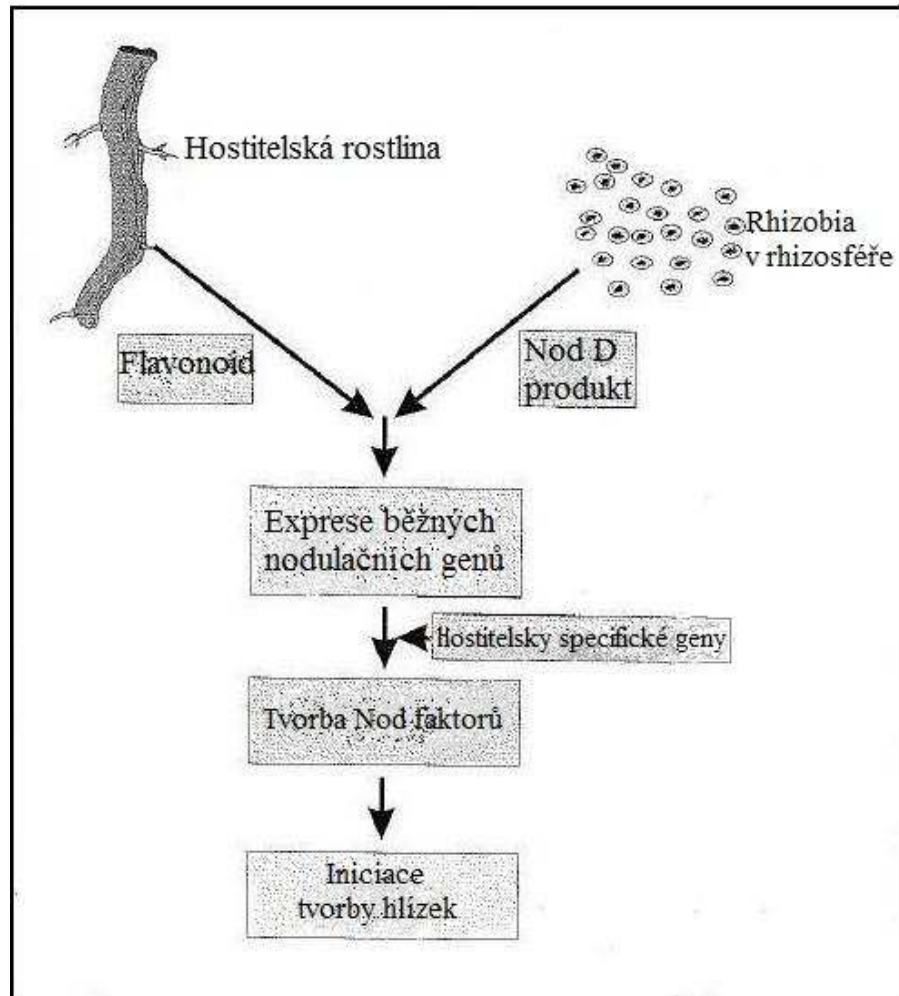
Bakterie infikují mladé kořínky za 3 – 4 týdny po zasetí a vytvářejí na nich nádorky. Vojtěška stejně jako komonice může být infikována pouze bakteriemi *Rhizobium mellilotii*. Vedle druhové specifity v nodulaci můžeme velmi často pozorovat ještě užší specifiku kmenů vůči odrůdám a kultivarům hostitele jak v nodulaci, tak v různé hladině symbiotické fixace, nebo délce aktivní symbiotické vegetační fáze (Marečková *et al.*, 1979). Samotný průběh infekce kořenů probíhá za aktivní spolupráce hostitelské rostliny, která do rhizosféry produkuje řadu atraktantů pro bakteriální buňky, dochází tedy k pohybu bakterií na základě chemotaxe (viz obr. 4) (Cassab, 1998).

Při vzájemném srovnání se mohou hlízky mezi sebou ve výkonnosti fixace dusíku velmi lišit. Důvody, které to způsobují nejsou zdaleka všechny známe. Vyskytují se i zcela neefektivní hlízky, které vůbec žádný dusík nefixují, některé z nich jsou na průřezu bílé a proto se předpokládá, že u těchto hlízek je neschopnost syntézy leghemoglobinu. V některých případech bylo pozorováno, že brzdou normálního průběhu fixace bylo nahromadění metabolitu riboflavinu (Pankhurst *et al.*, 1972), nebo blokování konečné diferenciaci rhizobií na bakteroidní formy (Basset *et al.*, 1977).

Život všech hlízek je omezen časově, při ukončení funkce změni hlízky svou barvu i vizuálně z růžové na zelenohnědou, poruší se membránový obal a hlízky degenerují. Volná rhizobia mohou být zčásti zahubena fytolyzozómy a zčásti se dostávají do půdy (Mosse, 1964, Truchet *et al.*, 1973)

Aktivitu rhizobií, kromě provzdušenosti půdy, podporují i přiměřená vlhkost a teplota půdy (23 - 29°C), dostatek kvalitního humusu, vhodné pH půdy a dostatek přístupných živin (Štranc *et al.*, 2005).

Obr. 4. Genetická interakce mezi rostlinou a rhizobiem iniciující tvorbu kořenové hlízky ( Maier *et al.* 2000, upraveno )



### 3.2. Vojtěška setá

Vojtěška setá (*Medicago sativa* L.) je vikvovitá víceletá hlubokokořenící píce s cennými hospodářskými vlastnostmi, pro které je široce využívána jako krmná, ale také meliorační plodina a plodina zlepšující strukturu a celkovou úrodnost půdy (Vorlíček, 2004).

### 3.2.1. Plocha a výnos vojtěšky

V současnosti je celosvětově nejpěstovanější vikvovitou pícevníkem. Její celková osevní plocha je odhadována na 33 milionů hektarů (Hakl *et al.*, 2005). Vojtěška setá (*Medicago sativa*) patří mezi nejstarší kulturní pícevníky. Převážná většina údajů se shoduje v tom, že byla zavedena do kultury ve Střední Asii, především v nynějších oblastech Íránu, a to asi před 2500 lety (Klesnil *et al.*, 1965). Na naše území byla přivezena až kolem r. 1700, podstatněji se však rozšířila až začátkem 20. století (Klesnil *et al.*, 1978).

Rod vojtěška zahrnuje přibližně 100 druhů a odrůdy pěstované v našich podmínkách pochází z rodů vojtěška setá (*Medicago sativa*), vojtěška zvrhlá (*Medicago varia* Mart.) a vojtěška srpovitá (*Medicago falcata*), popřípadě z jejich kříženců. V roce 1980 bylo pěstováno na území České republiky 135 789 ha vojtěšky seté, v roce 2000 to bylo již 102 070 ha a v roce 2011 počet hektarů klesl na 61 177 ha (Český statistický úřad, 2011). V ČR se výnosy suché píce vojtěšky seté pohybovaly do roku 1990 kolem 9 t.ha<sup>-1</sup>, v současné době kolem 7,5 t.ha<sup>-1</sup>. Výnosový potenciál vojtěšky je však podstatně vyšší a je v praxi využíván pouze z 50-60 % (Vorlíček, 2004). Obvykle je počítáno se 3-4 sečemi, v bramborářské oblasti poskytuje seče pouze 2, při závlahových podmínkách v kukuřičné oblasti a dostatečné výživě 5-6. Výnosy semene vojtěšky jsou značně kolísavé a pohybují se od 20 do 400 kg. ha<sup>-1</sup> (Šantrůček, 2001).

### 3.2.2. Botanická a morfologická charakteristika

U vojtěšky seté vynikají zvláště zřetelně některé morfologické znaky jež jsou pro její životnost – víceletost velmi důležité a současně se při jejím plném vývinu uplatňují ve vysoké výkonnosti a produkci píce. Kořenový systém dosahuje nejmohutnějšího vývoje právě u vojtěšky seté (Klesnil *et al.*, 1978). Kořeny vojtěšky jsou proti ostatním jetelovinám signifikovanější a jejich rozklad je pomalejší. Hluboký kořenový systém umožňuje čerpat živiny i z méně přístupných forem a vynáší živiny ze spodních vrstev půdy (Rotrekl, 2006). Největší podíl kořenové hmoty se rozprostírá ve svrchních půdních horizontech do hloubky 40-50 cm. Přitom je v ornici uloženo 30-60 % celkové kořenové hmoty. Množství kořenové hmoty je dále ovlivněno hustotou

porostu. V hustém porostu je sice kořenový systém jednotlivých rostlin menší, avšak celková kořenová hmota na 1 ha je vzhledem k většímu počtu rostlin vyšší. Čím vyšší jsou výnosy píce, tím více se vytváří kořenové hmoty a tím větší je zúrodňující vliv vojtěšky. Jako ostatní jeteloviny i vojtěška se vyznačuje intenzivní sekreční a exkretční činností kořenů, jež příznivě ovlivňuje rozvoj půdní mikroflóry (Klesnil *et al.*, 1965). Boční kořeny vytvářejí množství tenkých kořínků, rozložených především ve vrchní vrstvě půdy a tvořících hustou síť. Na tenkých kořínkách nacházíme hlízky, jejichž tkáň je vyplněna bakteriemi schopnými fixovat vzdušný dusík (Vorlíček, 2004).

Kořenový krček představuje důležitý vegetativní reprodukční orgán, z něhož vojtěška obrůstá. Vojtěška vytváří po zasetí jednu hlavní lodyhu, na jejíž spodní uzlině se postupně vytvářejí odnožovací pupeny, které tak tvoří základ zdřevnatělého oddenku, tzv. kořenového krčku – zóny odnožování (Klesnil *et al.*, 1978). Kořeny i kořenový krček bývají často napadeny chorobami houbového původu i bakteriálními, které snižují výnosnost, životnost rostliny, a tím i vytrvalost porostu (Šantrůček *et al.*, 1995).

S postupným stárnutím rostliny vojtěšky je kořenový krček vtahován do půdy a v závislosti na druhu vojtěšky může úroveň zatažení dosáhnout 30–50 i více milimetrů. Hlubší zatažení kořenového krčku do půdy podmiňuje vyšší odolnost vůči vyzimování (Vorlíček, 2004). Pro iniciaci růstu lodyh z pupenů potřebuje vojtěška prokypřenou půdu. Ostatní lodyhy mohou vyrůstat nejen z pupenů, ale v jarním období i z přezimujících zkrácených výhonů (10–50 mm), popřípadě z nodů lodyh strniště po sečích (10 % počtu lodyh) (Šantrůček *et al.*, 1995).

Lodyhy vyrůstají z kořenového krčku. Dorůstají do výšky 0,9–1 m i více. Lodyhy vojtěšky jsou zpravidla duté, ale u některých forem mohou být vyplněné dřevem. V uzlinách se lodyha větví a vytváří 4–8 větví. Hlavní podíl odnoží se vytváří na kořenovém krčku. Rostlina vojtěšky vytváří trs, který má kolem 20 lodyh. Trs je vzpřímený, polovzpřímený nebo rozložitý, což závisí na odrůdě a hustotě porostu (Klesnil *et al.*, 1978). Výška porostu dosahuje obvykle největší hodnoty v druhých popř. v dalších rocích vegetace, v užitkových rocích klesá od první k poslední seči (Jamriška *et al.*, 1998).

Listy vojtěšky jsou trojčetné. Jednotlivé lístky jsou opakvejitě, v horní třetině jemně zoubkované. Ve spodní části trsu jsou lístky více okrouhlé a širší, v horní části a rovněž u některých hybridních forem jsou protáhlejší a užší (Klesnil *et al.*, 1965).



Barva lístků je světle až tmavě zelená, na řapících, u báze jsou vytvořeny palisty (Vorlíček, 2004). Nejvíce listů se tvoří v prvním užitkovém roce. Největší plocha listů se vytváří v prvním seči (Klesnil *et al.*, 1978).

Květenstvím vojtěšky je mnohokvítkový hrozen na pevné květní stopce, vycházející z paždí listu. Kvítky jsou přisedlé na krátkých květních stopkách, na jejichž bázi jsou dva nitkovité listeny (Vorlíček, 2004). Hrozen vojtěšky je protáhlý, popřípadě kulovitý, dlouhý 10–60 mm. V hroznu bývá 12–25 květů a jedna rostlina vytváří podle intenzity odnožení, rozvětvení, hustoty porostu apod. 25–250 hroznů. Květ je sestaven z pěti lístků. Dva spodní jsou srostlé a tvoří tzv. člunek. K němu po stranách přiléhají další dva lístky a tvoří křídla. Horní lístek je volný a největší – pavéza. Květ je uspořádán tak, že horní okraje člunku mají vychlípeniny, do nichž zapadají výrůstky křídel (Klesnil *et al.*, 1978). Květ vojtěšky je oboupohlavní, má pestík a 10 tyčinek, z nichž 9 je srostlých a tvoří sloupeček, desátá je volná (Vorlíček, 2004). Vojtěška je převážně cizosprašná a hmyzosnubná. Opylení cizím pylem může nastat jen při otevření květu (Klesnil *et al.*, 1965). Plod tvoří vícesemenný spirálový lusk se 2–4 závity, v lusku je 5–7 semen, což závisí především na opylení (Klesnil *et al.*, 1978). V semeníku je 9–12 vaječných buněk, z nichž se však jen část oplodní a vytvoří vyvinuté semeno.

Semeno vojtěšky je žlutě zbarvené. Má dva základní tvary: fazolovitý (ledvinovitý) a nepravidelně srdcovitý, podobný jeteli červenému. Semeno se skládá z osemení, ve kterém je uzavřen zárodek se dvěma dělohami, vzrůstovým vrcholem a zárodečným kořínkem (Klesnil *et al.*, 1965). U vojtěšky se vyskytují tzv. tvrdá semena, která jsou životaschopná, ale v důsledku nepropustnosti osemení klíčí etapově (Klesnil *et al.*, 1978).

### **3.3. Vliv faktorů prostředí na fixaci dusíku u vojtěšky**

Veškeré fyzikální vlivy prostředí, v kterých hostitelská rostlina žije, se dotýkají symbiotické fixace přímo, nebo působením na vznik a vývoj hlízek. Jsou to především: světlo, teplota, půdní vlhkost a pH půdy (Marečková, 1983).

### 3.3.1. Teplota

Teplota, především nízké teploty zpomalují proces infekce a první stadia vzniku hlízek. Méně je nízkou teplotou ovlivněn růst hlízek a fixační aktivita hlízek již vytvořených. Citlivost symbiózy k nízkým teplotám se liší podle druhu rostliny a kmene rhizobií. U leguminóz mírného pásma je minimální teplota pro nodulaci mezi 7–10 °C. Vznik nových hlízek byl pozorován v polních podmínkách i při teplotě 4–5 °C (Masterson *et al.*, 1976). Aktivní fixace dusíku hlízek je na teplotu méně citlivá než infekční proces a ukazuje se, že má širší rozmezí svého optima. Nitrogenázová aktivita byla zaznamenána i při teplotách 2 °C. U rostlin mírného pásma se uvádí maximum nitrogenázové aktivity 30 °C, u tropických a subtropických druhů do 40 °C. V podmínkách vysokých teplot dochází rychleji k degradaci tkáně hlízek a bakteroidů a celkové období fixační aktivity se zkracuje (Marečková, 1983).

### 3.3.2. Půdní vlhkost

Půdní vlhkost vhodná pro klíčení semen je rovněž přiměřená pro množení rhizobií v půdě, infekci rostlin a pro vznik hlízek. Příliš nízká půdní vlhkost může být limitujícím faktorem vzniku hlízek při inokulaci v některých oblastech (Marečková *et al.*, 1980). U rostlin s již vytvořenými a fungujícími hlízkami ovlivňuje sucho celý rostlinný metabolismus a tím i metabolismus a funkci hlízek. Při drastičtějším vysušení jsou poškozovány přímo hlízky a struktura bakteroidů, poškození může být pak ireverzibilní. U meristematičtých hlízek se obnoví jejich činnost snadněji než u hlízek sférických (sója, fazole), kde je po dlouhodobém stresu suchem nutné vytvoření hlízek nových. Hlavním důvodem omezení fixace je považována omezená difúze plynů a přístup kyslíku ke hlízkám s následným snížením až zastavením nitrogenázové aktivity. Následuje-li vysušení pozemku, obnoví se nodulace a aktivita hlízek velmi rychle (Sprent *et al.*, 1976).

### 3.3.3. Světlo

Světlo působí na symbiotickou fixaci dusíku u leguminóz prostřednictvím procesu fotosyntézy. Přímý vliv na tuto fixaci má intenzita a délka světelného záření.

Snížená aktivita fixace je způsobená limitovaným zásobováním hlízek fotosyntetáty (Hardy *et al.*, 1976).

#### **3.3.4. pH**

Půdní reakce může být jedním z hlavních faktorů limitujících fixaci zpomalením, nebo potlačením tvorby hlízek. U běžných leguminóz mírného pásma je kritické pH oproti ostatním leguminózám vyšší, vojtěška např. zřídka noduluje při pH nižším než 5,2. Mnozí autoři soudí, že vliv pH na rhizobia a infektivitu je primární a po vytvoření hlízek je působení reakce již slabší (Munns, 1977). Nejvhodnější pH půdy pro činnost rhizobií se pohybuje v rozmezí 6,2 až 7,0 (7,2) (Štranc *et al.*, 2005). Nízké pH omezuje množení rhizobií a rovněž snižuje dostupnost některých živin, obvyklý je nedostatek vápníku a molybdenu. Některé prvky jako hliník a zinek se v půdách s nízkým pH naopak vyskytují v toxických koncentracích (Munns, 1977).

### **3.4. Agrotechnika**

Počet rostlin podmiňuje kvalita osiva, výsevek, předseťová příprava půdy, způsob a kvalita založení porostu, povětrnostní podmínky, choroby, škůdci, ošetření porostu, využívání porostu i konkurence. Počet rostlin se snižuje s věkem porostu (Jamriška *et al.*, 1998).

Pravidelné hnojení vojtěšky dusíkem je v ČR neúčinné a neekonomické, a to i v méně příznivých pedoklimatických podmínkách, pro činnost rhizobií u vojtěšky v teplejší bramborařské oblasti (Šantrůček *et al.*, 1995). Maximální úrody můžeme dosáhnout jen na porostech s optimální hustotou. Řídké porosty nedostatečně využívají potenciál prostředí, vytvářejí prostor pro plevele, přehoustlé porosty zase mohou kromě ztrát na osivu způsobit pokles úrody a zhoršovat podmínky seče (Jamriška *et al.*, 1998). Při běžné agrotechnice zařazujeme vojtěšku hlavně po obilninách, směskách apod. Po vojtěšce zařazujeme ozimy i jařiny. V osevních postupech následuje vojtěška po sobě obyčejně za pět roků a déle. Před setím je doporučovaná hluboká podzimní orba do hloubky 250 – 300 mm, nejčastěji jarní smykování, s následným i několikanásobným vláčením (urovnáním povrchu, hubení plevelů) a před setím válení – rozdrobení hrud (Šantrůček *et al.*, 1995). Vápník ovlivňuje půdní reakci, prostřednictvím něj příjem

živin a omezuje nepříznivý účinek Al, Mn případně Fe. Je nepostradatelný pro optimální vývin kořenů a činnosti hlízkových bakterií. P a K podporují činnost hlízkových bakterií, zlepšují podmínky vývinu kořenů a rhizosférné mikroflóry, podmiňují odolnost, trvanlivost, dobrou regenerační a konkurenční schopnost porostů jetelovin. Aplikací N hnojiv bezprostředně před setbou vzniká riziko poškození klíčících rostlin. Všeobecně nitrátová forma působí hůře jako amoniakální nebo močovinová.

Hnojení dusíkatými hnojivy snižuje rozvoj rhizóbií stimulováním růstu ve vegetačních vrcholech, které konkurují v požadavcích na Cu, Mg, P, Zn hlízkovým bakteriím. Minerální dusík snižuje tvorbu lektinu a pektinázy v kořenech jetelovin, které slouží jako rozpoznávací systém pro rhizobia. N hnojení bývá efektivní tam, kde jsou nepříznivé podmínky pro rhizobia. Často je potom ekologicky i ekonomicky výhodnější úprava pH popř. očkování, nebo obalování než N hnojení (Jamriška *et al.*, 1998). Osivo vojtěšky vyséváme nejlépe v březnu až dubnu do hloubky 12 – 20 mm, na lehčích půdách 20–25 mm na dobře urovnaných pozemcích s drobtovitou strukturou půdy. Vojtěšku lze vysévat i v letním období tak, aby vzešla do poloviny srpna (Šantrůček *et al.*, 1995). Podmínky prostředí ovlivňují úspěšné založení porostu ze 72%, výsevní množství se na počtu rostlin na hektar podílí zbyvajícím měrou. Při zakládání porostu bez krycí plodiny stačí vysévat 6–7 mil. klíčivých semen ( $12 - 14 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), při použití pícní krycí plodiny 7,5–8 mil. klíčivých semen ( $15 - 16 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) (Rotrekl, 2006).

### **3.5. Šlechtění vojtěšky na vyšší symbiotickou fixaci**

Některé vlastnosti rostlin vojtěšky ke vztahu k biologické fixaci byly využity při šlechtění. Jako první byla vyšlechtěna francouzská odrůda Nitro s vyšší symbiotickou fixací, tato odrůda však měla menší kořenový systém. V ČR byla jako první vyšlechtěna odrůda Niva, která měla již stovnatelné hmotnosti kořenů (Chloupek, 1995). Jedním ze způsobů, kterým lze zvýšit množství poutaného dusíku je inokulace osiva vojtěšky efektivními kmeny bakterií (Marečková, 1983).

## 4. Materiál a metody

### 4.1. Charakteristika půdních podmínek stanoviště

Pro řešení cíle mé bakalářské práce sloužil pokus, který byl založen v roce 2010 ve skleníku České zemědělské univerzity v Praze. Experiment byl založen do plastových kontejnerů o objemu 12 litrů. Pro tento pokus byla použita černozem jako pěstební substrát z demonstrační chmelnice České zemědělské univerzity (viz Obr.5. Rozbory půd dle Mehlicha), kde vojtěška nebyla pěstována minimálně 15 let. Tyto kontejnery byly uloženy ve skleníku České zemědělské univerzity, kde byla udržovaná konstantní teplota. Zálivka byla pravidelně prováděna pro všechny varianty jednotně.

#### Geologické a pedologické charakteristiky

- Matečná hornina: sprašové půdy,
  - Půdní druh: černozem,
  - Půdní typ: hlinitá půda,
  - Obsah humusu: 3%,
  - pH: 6,99,
- (Škoda *et al.*, 1998).

Obr.5. Rozbory půd dle Mehlicha - Políčko ČZU 2010

Parametr	jednotka	Půda - Políčko ČZU 2010
pH/CaC12		7,31
Draslík dle Mehlicha	mg/kg	277
Fosfor dle Mehlicha	mg/kg	93
Hořčík dle Mehlicha	mg/kg	238
Vápník dle Mehlicha	mg/kg	6606

### 4.2. Charakteristika pokusného materiálu

Porovnávána byla akumulace dusíku v rostlinách vojtěšky seté u dvou českých odrůd: Jarka a Oslava (šlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci dusíku). Tyto odrůdy byly inokulovány očkovacími preparáty Rizobin LF a Nitrazon +N.

Jarka – Vyšlechtila Šlechtitelská stanice Želešice. Povolena – 1995

Výběr z výchozího materiálu – ŽE III, ORCA, AT 7 a následné křížení. Odrůda Jarka se vyznačuje vysokým a vzpřímeným vzrůstem, habitem tvoří přechod mezi listnatým a stonkovým typem vojtěšky. Začátek kvetení je raný až střední, barva květu modrofialová. Odrůda se vyznačuje vysokou odolností listovým chorobám a velmi vysokou odolností cévnímu vadnutí. V SOZ překonala ve výnosu píce průměr kontrolních odrůd ve všech užitkových letech, stejně tak i ve výnosu sena. Nemá specifické požadavky na pěstování, je plastická, vhodná do podmínek odpovídajících pěstování vojtěšky.

Oslava – Vyšlechtila Šlechtitelská stanice Želešice. Povolena – 2003

Jedná se o syntetickou odrůdu šlechtěnou na hospodářské znaky a na vyšší symbiotickou fixaci vzdušného dusíku. Raná až středně raná odrůda s dobrou odolností proti patogenům cévního vadnutí. Má rozkladitý až polovzpřímený tvar trsu (výška 60 – 80 cm). Počet lodyh v trsu je středně vysoký, střední počet internodií. Lodyha střední až dlouhá. Terminální lístek je elipsovitý, delší (30 – 40 mm), širší (15 – 20 mm). Počet květenství středně vysoký, barva květu světle modrá až modrofialová s ojedinělou příměsí květů pestrých, krémových a žlutých. Počet lusků v plodenství střední až vysoký, počet semen v lusku střední. Lusky jsou středně až silně spirálovité (Agrogen spol. s.r.o. Troubsko, 2009)

Tyto odrůdy pochází ze šlechtitelské stanice firmy Agrogen, spol. s.r.o. – Želešice u Brna.

Inokulační preparáty Rizobin LF a Nitrazon +N jsou preparáty vyrobeny na bázi rašeliny. Výrobce uvádí počet živých buněk rhizobií v preparátu Rhizobin LF  $1 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ , v přípravku Nitrazon +N je  $5 \times 10^8$  rhizobií na gram nosiče. V preparátu Nitrazon +N je navíc  $1 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  *Azotobacter sp.* a  $1 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$  *Bacillus megatherium* s prokázanou P-solubilizační aktivitou.

### **4.3. Založení a uspořádání pokusu**

Nádobový pokus byl založen 29. dubna roku 2010. Semena byla rozdělena a následně očkovaná preparáty Rizobin LF nebo Nitrazon +N a zasetá společně s neočkovanou kontrolou.

Pokus byl uspořádán ve znáhodněných blocích ve čtyřech opakováních, celkem tedy 24 kontejnerů (viz schéma pokusu). Do každého kontejneru bylo vyseto vždy 6 semen. Pravidelná zálivka byla v průběhu pokusu pro všechny varianty jednotná. Rostliny byly pěstovány po dobu 81 dnů do počátku kvetení (19. červenec).

### **4.4. Hodnocené charakteristiky**

#### **4.4.1. Výnos píce**

Výnos píce, hmotnost, počet a délka lodyh byla hodnocena květními odběry vzorků. Rostliny byly vyjmuty z nádob, očištěny a následně odděleny kořeny v kořenovém krčku od nadzemní části. Změřena byla vždy nejdelší lodyha, sečten jejich počet a celková hmotnost za pomoci digitální váhy. Následně byly uloženy do papírových sáčků a vloženy do automatické sušárny, kde byly vysušeny do konstantní hmotnosti při 60 °C. Tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce P1.

#### **4.4.2. Hmotnost kořene**

Kořeny oddělené od lodyh v kořenovém krčku byly změřeny jejich délky a posuvným měřidlem následně průměr hlavního kořene. Dále byl určen počet postranních kořenů a hloubka prvního větvení. Na závěr byly kořeny zváženy na digitální váze a uloženy do boxu s upravenou teplotou pro jejich vysušení.

#### **4.4.3. Aktivita nitrogenázy**

Aktivita nitrogenázy se provádí a měří na kořenech rostlin s hlízkami ve fázi začátku kvetení, v tomto pokusu vyhodnocení probíhalo po 81 dnech.

Proces vyhodnocení aktivity nitrogenázy probíhal následujícím způsobem: rostliny byly vyjmuty z kultivačního prostředí, opatrně se odstranil substrát nebo zemina a rostliny se přemístily do infuzních lahví, které byly uzavřeny víčkem. Poté bylo 10 % objemu lahví nahrazeno stejným objemem acetyleny pomocí stříkačky. Po 1 hodinové inkubaci se z lahví odebíraly vzorky plynu (do 2 ml stříkaček) a tyto vzorky byly analyzovány na plynovém chromatografu. Ze stanovených množství vytvořeného ethylenu se vypočítala nitrogenázová aktivita. Tato měření byla prováděna na pracovišti VURV Ruzyni.



## 5. Výsledky

### 5.1. Počet a délka lodyh

Při hodnocení počtu lodyh u odrůdy Oslava, byly nejvyšší hodnoty patrné u varianty, která byla inokulovaná preparátem Nitrazon +N (2,67). Očkované varianty odrůdy Oslava dosáhly vyššího počtu lodyh než varianta neočkovaná-kontrolní, kde hodnota u neočkované-kontrolní varianty byla (2,09). Rozdíly mezi těmito hodnotami však nebyly statisticky průkazné ( $p = 0,214$ ). U odrůdy Jarka byly výsledky jednotlivých variant rozdílné než u odrůdy Oslava. U odrůdy Jarka varianta neočkovaná-kontrolní dosáhla v grafu průměrných hodnot nejvyššího stupně (2,48). Naopak u varianty inokulované Rizobinem byly naměřeny nejnižší hodnoty (2,29). Stejně jako u odrůdy Oslava nebyly tyto rozdíly statisticky průkazné ( $p = 0,734$ ).

V grafu P2, kde jsou uvedeny délky lodyh, vyšla nejlépe varianta Oslava inokulovaná Nitrazonem +N. Průměrná hodnota, které tato varianta dosáhla, byla 71cm. Zbývající dvě varianty (Oslava Rizobin LF a Oslava neočkovaná) zaznamenaly nižších hodnot. Odrůda Jarka v tomto měření dosáhla nejvyšších hodnot ve variantě inokulované Nitrazonem +N. Nejvyšších dosažených průměrných hodnot naměřených u této varianty bylo 68cm. Příznivě v tomto měření dopadla i neočkovaná-kontrolní varianta, kde bylo dosažených hodnot 67cm. Rozdíly v délce lodyh u obou odrůd opět nebyly statisticky průkazné (Oslava:  $p = 0,233$ ; Jarka:  $p = 0,526$ ).

### 5.2. Výnos suché hmoty

Při hodnocení hmotnosti sušiny v lodyhách vojtěšky je z grafu P3 zřetelné, že varianta Oslava inokulovaná Nitrazonem +N dosáhla nejvyšších průměrných hodnot (2,19 g/rostlinu). U odrůdy Oslava byl dále sledován pokles u varianty inokulované Rizobinem LF, kde dosáhla nižších hodnot (1,30 g/sušinu) než neočkovaná-kontrolní varianta (čísla). Tento poznatek byl potvrzen statistickým vyhodnocením odrůdy Oslava šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci. Odrůda Jarka v tomto sledování vyšla nejlépe v neočkované-kontrolní variantě, kde dosáhla průměrných hodnot 1,94 g/rostlinu. Inokulace u této odrůdy byla nejlépe vyhodnocena u varianty očkované Nitrazonem +N (1,88 g/sušinu).

V grafu P4 jsou znázorněny průměrné hodnoty hmotnosti sušiny kořene, kde nejvyšší naměřené hodnoty byly zaznamenány u varianty Jarka neočkované-kontrolní. Její průměrné hodnoty dosáhly 1,4g. U odrůdy Oslava bylo nejvyšších průměrů dosaženo u varianty inokulované Nitrazonem +N (1,18g sušiny na rostlinu). U odrůdy Oslava byl v grafu P4 sledován klesající efekt, kde neočkovaná varianta zaznamenala nejnižší naměřenou hodnotou (0,75g sušiny na rostlinu).

Podle výsledků celkového výnosu suché hmoty se průkazným hodnotám přiblížila odrůda Oslava ( $p = 0,073$ ). U odrůdy Jarka byly všech hodnoty statisticky neprůkazné ( $p = 0,457$ ).

### **5.3. Akumulace dusíku**

V porovnání průměrných hodnot akumulace dusíku v lodyhách (P5), bylo nejvyšších naměřených hodnot dosaženo u varianty Oslava očkované Nitrazonem +N (0,40 g/rostlinu). U varianty Oslava očkované Rizobinem LF a varianty kontrolní-neočkované bylo naměřeno stejných hodnot (0,26 g/rostlinu).

Mezi variantami odrůdy Jarka byla nejlépe vyhodnocena varianta kontrolní-neočkovaná, u které bylo zaznamenáno 0,36g/rostlinu. Podobné hodnoty byly naměřeny i u varianty inokulované Nitrazonem +N (0,35 g/rostlinu).

V průměrných hodnotách naměřených v grafu P6 byla zaznamenána nejvyšší akumulace dusíku v kořenech u varianty Jarka kontrolní-neočkované (0,03g/rostlinu). Následně je ze stejného grafu patrné, že u obou testovaných odrůd si jsou varianty inokulované preparátem Nitrazon +N velice podobné v dosažené průměrné akumulaci dusíku (0,22g/rostlinu a 0,21g/rostlinu). Nejnižší zjištěné hodnoty byly zaznamenány u varianty Oslava kontrolní-neočkované (0,01g/rostlinu).

Ani jedna z variant u obou odrůd nezaznamenala statisticky významné rozdíly v akumulaci dusíku (Oslava:  $p = 0,124$ ; Jarka:  $p = 0,549$ ).

### **5.4. Koncentrace dusíku**

Nejvyšších hodnot koncentrace dusíku v grafu P7 dosáhla varianta Oslava kontrolní-neočkovaná (1,99%). U této odrůdy byl sledován klesající efekt, kde nejmenší průměrná akumulace dusíku byla pozorována u varianty očkované Rizobinem LF (1,87%).

U varianty Jarka inokulované Rizobinem LF a Jarka kontrolní-neočkovaná byly zaznamenány dvě shodné hodnoty (1,95%) v průměrné koncentraci dusíku. Očkovaná varianta Jarka s Nitrazonem +N dosáhla nejnižší koncentrace dusíku (1,84 %).

U odrůdy Oslava ( $p = 0,686$ ) i Jarka ( $p = 0,621$ ) nebyly zaznamenány průkazné rozdíly v koncentraci dusíku v rostlině.

### **5.5. Aktivita nitrogenázy**

Při měření aktivity nitrogenázy vyšla nejlépe z hodnocených variant Oslava inokulovaná Nitrazonem +N, která dosáhla průměrných hodnot 2,93  $\mu\text{mol}$ . Následně je z grafu P8 patrný klesající efekt k nejnižším naměřeným výsledkům aktivity nitrogenázy u varianty Oslava kontrolní-neočkované (1,09  $\mu\text{mol}$ ).

Odrůda Jarka zaznamenala nejvyšších průměrných hodnot u varianty kontrolní-neočkované, u které bylo naměřeno 1,58  $\mu\text{mol}$ . Varianta Jarka inokulovaná Rizobinem LF zaznamenala nejnižších hodnot v tomto měření (0,65 $\mu\text{mol}$ ).

Rozdíly v akumulaci dusíku mezi jednotlivými variantami u obou odrůd byly opět statisticky neprůkazné (Oslava:  $p = 0,573$ ; Jarka:  $p = 0,139$ ).

## 6. Diskuze

Elkan (1981) uvádí, že *Rhizobium meliloti* patří mezi osm hlavních inokulujících skupin a zároveň infikuje a způsobuje tvorbu hlízek na kořenovém systému vojtěšky seté (cit. Frame *et al.*, 1988). Snížený efekt inokulace může být pravděpodobně ovlivněn půdními podmínkami. Munns (1970) uvedl, že aplikace minerálních dusíkatých hnojiv společně s přítomností dusíků v půdě mají inhibiční vliv na fixaci N<sub>2</sub>. Příčinou nízké efektivity inokulace lze přisuzovat především půdním podmínkám znázorněných v obr.5 rozboru půd dle Melicha.

Mocek-Příciniak *et al.* (2008) sledovali u vojtěšky seté (*Medicago sativa* L.) vliv očkovací látky obsahující *Sinorhizobium* na vývoj rostliny, nodulaci a aktivitu nitrogenázy. Výsledky této práce byly vyhodnoceny statisticky pomocí Pearsnova lineárního korelačního koeficientu. Statistický průzkum odhalil korelaci mezi očkovací látkou a nodulací, kde s rostoucí nodulací rostla i hustota očkovací látky. Tato souvislost však nebyla potvrzena mezi hustotou očkovací látky a hmotností nadzemních i podzemních částí rostlin a také délkou kořenů. Výsledky této studie ukázaly, že rostliny inokulované 10% očkovací látkou měly nejlepší růst, více čerstvé rostlinné hmoty a velmi dobře vyvinutý kořenový systém. Také byla testována spojitost mezi hustotou očkovací látky a aktivitou nitrogenázy. Ve studii uvedené výše byla aktivita nitrogenázy zkoumána v souvislosti s typem očkovací látky, která byla použita na jednotlivé odrůdy. Odrůda Oslava, která byla vyšlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci vykázala po aplikaci inokulantů vyšší aktivitu nitrogenázy. Naopak odrůda Jarka dosáhla nejvyšších hodnot u neočkované varianty.

V prováděném pokusu na odrůdách Oslava a Jarka nebyly statisticky průkazné rozdíly ve výnosu suché hmoty u odrůdy Jarka mezi jednotlivými variantami. Nedalo se tedy předpokládat, že inokulace této odrůdy zlepšila výnos sušiny. Schejbal a Šantrůček (1999) také zkoumali očkování vojtěšky Rizobinem u odrůdy Jarka, ale došli k závěru, že inokulace Rizobinem měla pozitivní vliv na výnos sušiny.

V prezentované studii, kde se osivo vojtěšky seté očkovalo Rizobinem a Nitrazonem, byl použit suchý způsob inokulace osiva, který spočívá v promíchání osiva v očkovacím preparátu, který je v suchém stavu. Šimon a Mikanová (2009) popsali výhody a nevýhody suché a mokré cesty inokulace osiva. Ve své práci uvádějí, že suchý způsob

inokulace je sice jednoduchý, ale může docházet k nižšímu uchycení preparátu na osivu. Proto doporučují u velkozrnných plodin použít mokrou cestu očkování, kde se na ředění preparátu používá voda nebo melasa.

Ardakani *et al.* (2009) pozorovali vliv dvojí inokulace u vojtěšky seté. K dvojitému očkování byla použita mykorhiza a rhizobium. Během pokusu proběhla dvakrát sklizeň ve stádiu kvetení, stejně jako ve výše uvedeném pokusu na odrůdách Jarka a Oslava. Výsledky ukázaly, že dvojí inokulace společně se závlahou měla pozitivní efekt na všechny testované kořenové parametry.

V prezentovaném výzkumu byla zkoumána odrůda Oslava, která byla vyšlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci dusíku. Pouze tato odrůda měla téměř statisticky průkazné hodnoty v případě akumulace dusíku. V této studii bylo očkováno osivo Rizobinem LF a Nitrazonem +N. Šlechtění vojtěšky seté na vyšší symbiotickou fixaci sledovali Chloupek *et al.* (1992). V tomto pokusu byl substrát inokulován látkou obsahující *Rhizobium meliloti*. Jako testované odrůdy byly použity Palava a Zuzana. Ve výsledcích této práce bylo publikováno, že odrůdy, které byly šlechtěny na vyšší symbiotickou fixaci, dosáhly také vyšších hodnot v obsahu dusíku v kořenech. Tento fakt má pozitivní vliv na následné snížení hnojení dusíkem u plodin.

## 7. Závěr

Prezentované výsledky ukázaly, že pokus s černozemní půdou, kde nebyla vojtěška dlouhodobě pěstována, prokázal pozitivní vliv očkování pouze u odrůdy Oslava, šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci, a to u varianty, u které byl aplikován Nitrazon +N. Výsledky z výnosu suché hmoty u této varianty se přiblížily statistické průkaznosti ( $p = 0,073$ ).

Podle výsledků z grafů průměrných hodnot počtu a délky lodyh bylo patrné, že u odrůdy Oslava očkovací látka Nitrazon +N způsobila tvorbu vyššího počtu lodyh a měla i pozitivní vliv na délku lodyh. Také u odrůdy Jarka Nitrazon +N způsobil tvorbu delších lodyh. Naopak z těchto grafů byl popsán negativní účinek očkovacích preparátů na vyšší tvorbu lodyh u odrůdy Jarka.

Při hodnocení koncentrace dusíku u odrůdy Oslava i Jarka se neprojevil pozitivní efekt inokulace obou očkovacích látek. Lze odvodit, že na dobře zásobených a úrodných půdách neměla inokulace osiva vojtěšky očkovacími preparáty efektivní opodstatnění.

U odrůdy Oslava byla podle grafu průměrných hodnot aktivita nitrogenázy ovlivněna aplikací očkovacích preparátů. Z těchto grafů bylo totiž patrné, že varianty očkované dosáhly vyšších hodnot než varianta neočkovaná-kontrolní. Naopak u odrůdy Jarka varianta neočkovaná zaznamenala nejvyšších hodnot v aktivitě nitrogenázy. Výsledné grafy průměrných hodnot sledovaných parametrů společně se statistickým zhodnocením prokázaly rozdílnou účinnost očkovacích preparátů a také odlišnosti mezi jednotlivými odrůdami Jarka a Oslava.

Podle grafů průměrných hodnot byly na první pohled patrné rozdíly mezi jednotlivými variantami u obou odrůd. Avšak žádný z těchto rozdílů nebyl statisticky průkazný.

## 8. Seznam použité literatury

Agrogen spol. s.r.o. Troubelo (2009): Odrůdy – Vojtěška setá. Poslední revize 5.3.2009. Dostupné z <<http://www.agrogen.cz/inpage/vojteska-seta/>>.

Ardakani, M.R., Pietsch, G., Friedel, J.K., Schweiger, P., Moghaddam, A., Raza, A. (2009): Effect of co-inoculation with rhizobia and mycorrhiza on root parameters of lucerne (*Medicago sativa* L.) under dry organic farming conditions. 7th ISRR Symposium 'Root Research and Applications'

Basset, B., Goodman, R.N., Novacky, A. (1977) : Ultrastructure of soybean nodules II. *Can. J. Microbiol.*, 23, s. 873-883

Cassab G. I. (1998): Plant cell wall proteins. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: s. 281-309.

Čepička, I., Kolář, F., Synek, P., (2007): Mutualismus vzájemně prospěšná symbióza. Přípravný text - biologická olympiáda 2007-2008. Praha : NIDM ČR. s. 87.

Frame, J.; Charlton, J.F.L.; Laidlaw, A.S. (1998): Temperate forage legumes. Wallingford, CAB International, s. 327

Hakl, J., Šantrůček, J., Kalista, J. (2005): Vojtěška srpkovitá – zdroj přizpůsobivosti našich odrůd. *Úroda*, 4, s. 14-15

Hardy, R.W.P. – Havlka, U.D. (1976): Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In: *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*. IBM vol. 7, ed. P.S.

Chloupek, O., (1995): Genetická diverzita šlechtění a semenářství. Akademia Praha, s.180.

Chloupek, O., Babinec, J., Malá, M., (1992): Breeding of lucerne for higher symbiotic nitrogen fixation and trstiny in hydroponie with limited mineral nitrogen. *Bodenkultur* 43, s. 109 - 113

Jamriška, P., Surovčík, J., Zupal, P., (1998): Pestovanie ďatelovín. Výzkumný ústav rostlinné výroby, 1998, s. 67

Klesnil, A. (1978). *Intenzivní výroba píče* (1. vyd.). Praha: Státní zemědělské nakladatelství. 357 s.

Klesnil, A., Velich, J., Regal, V. (1965): *Vojtěška*. SZN, Praha, 201 s.

Maier R. M., Pepper I. L., Gerba Ch. P. (2000): *Environmental Microbiology*. Academic Press, Elsevier, 571s.

Marečková, H., Máchová, M. (1980): Vliv exogenních faktorů na aktivitu nitrogenázy u jetele červeného. Závěrečná zpráva, d.ú. VI-2-5/9, VÚRV, Praha

Marečková, H., Máchová, M., Našinec, (1979): Textace efektivity kmenů a sledování vlivů inokulace a minerálního dusíku na výnos, některých luskovin. Závěrečná zpráva D.ú.VI-2-5:10, VÚRV, Praha

Mark R. O'brian, Paul M. K., Robert J. M. (1987): Bacterial heme synthesis is required for expression of the leghemoglobin holoprotein but not the apoprotein in soybean root nodules. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA. Biochemistry*, s. 84.

Masterson, C.L., Murphy, P.M. (1976): Application of the acetylene reduction technique to the study of nitrogen fixation by white clover in the fiels. In: *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*, IBM, Vol. 7, ed. P.S. Nutkán, Cambridge University Press. London, s. 299-316

Mocek-Płóćiniak, A., Niewiadomska, A., Głuchowska, K., (2008): Effect of the culturing density of the *Sinorhizobium meliloti* BP on the development of lucerne (*Medicago sativa* L.) and nitogenase activity, *Acta Sci. Pol., Agricultura* 7(1),s. 39-45

Munns, D. N., (1970): Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. V. Kalcium and pH requirements during infection. *Plant Soil*, 32, s. 90 - 102

Munns, D.N. (1977): Mineral nutrition and the legume symbiosis. In: *A Treatise on Dinitrogen Fixation*, ed. Hardy R.W.F., A.H. Gibbon, J. Wiley and Sons, N.Y. s. 353 - 391

Pankhurst, C.E., Schwinghamer, E.A., Bergersen, F.J. (1972): The structure and acetylene-reducing activity of root nodules formed by riboflavin-requiring mutant of *Rhizobium triforii*. *J.Gen. Microbiol.*, 70, s. 161-177

Rotrekl J., (2006): Je obtížné efektivně pěstovat vojtěšku?, *Agro č. 7*, Agro tisk s.r.o., s. 55 – 57

Shejbal, B., Šantrůček, J. (1999): Vliv očkování osiva na výnos vojtěšky seté a jetele lučního. Odborná konference Dostupné z <[http://www.agris.cz/zemedelstvi?id\\_a=106327](http://www.agris.cz/zemedelstvi?id_a=106327)>.

Sprent, J.I., (1979): *The biology on nitrogen-fixing Organisms*. Mc Graw-Hill Book Copany ( UK ) Limited s. 196



Sprent, J.I., Gallacher, A.E., (1976): Anaerobiosis in soybean root nodules under water stress. *Soil Biol. Biochem.* 8, s. 317 – 320

Šantrůček, J. (2001): Vojtěška setá. In. Šantrůček a kol.: *Základy píceinářství*. AF ČZU Praha, s. 146, ISBN 80-213-0764-1

Šebánek, J., *Fyziologie rostlin*, Academia, Praha, s. 484, ISBN 80-200-0586-2

Šimon, T., Mikanová, O. (2009): *Principy a nové směry selekcí hlízkových bakterií pro výrobu inokulačních preparátů*, Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., Praha, s. 20. ISBN 978-80-7427-013-0

Škoda, V. a kol. (1998): – *Obecná produkce rostlinná*. ČZU v Praze, Praha, s. 190, ISBN: 80-213-0450-2

Štranc, J. ; Štranc, P. ; Štranc, D. (2005): *Hlízkové bakterie a jejich význam ve výživě sóji*, ISBN 80-213-1288-2. In: *Perspektivy sóji v ČR, ČZU v Praze*, s.40 -42.

Tesařová, M. (1998): *Heterotrofní výživa*. In Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., a kol. *Fyziologie rostlin*. Praha, Academia, s. 484

Vorlíček, Z. (2004): *Morfologické, biologické a hospodářské charakteristiky vojtěšky seté*. In, Hrabě a kol.: *Trávy a jetelovino trávy v zemědělské praxi*. Olomouc, s. 13-15, ISBN 80-903275-1-6

## 9. Přílohy

### Seznam příloh:

Schéma pokusu

Grafy:

**Graf P1:** Průměrné hodnoty počtu lodyh na rostlinu

**Graf P2:** Průměrné hodnoty maximální délky lodyhy

**Graf P3:** Průměrná hmotnost sušiny lodyh

**Graf P4:** Průměrná hmotnost sušiny kořenů

**Graf P5:** Průměrná akumulace dusíku v lodyhách

**Graf P6:** Průměrná akumulace dusíku v kořenech

**Graf P7:** Průměrné hodnoty koncentrace dusíku

**Graf P8:** Průměrná aktivita nitrogenázy

Tabulky:

**Tabulka P1:** Tabulka průměrných výsledků sledovaných parametrů

### Schéma pokusu

	1	2	3	4	5	6
<b>A</b>	<b>O</b>	<b>J</b>	<b>O<sub>R</sub></b>	<b>J<sub>R</sub></b>	<b>O<sub>N</sub></b>	<b>J<sub>N</sub></b>
<b>B</b>	<b>J<sub>N</sub></b>	<b>O<sub>N</sub></b>	<b>J</b>	<b>O</b>	<b>J<sub>R</sub></b>	<b>O<sub>R</sub></b>
<b>C</b>	<b>O</b>	<b>J</b>	<b>O<sub>R</sub></b>	<b>J<sub>R</sub></b>	<b>O<sub>N</sub></b>	<b>J<sub>N</sub></b>
<b>D</b>	<b>J<sub>R</sub></b>	<b>O<sub>R</sub></b>	<b>J<sub>N</sub></b>	<b>O<sub>N</sub></b>	<b>J</b>	<b>O</b>

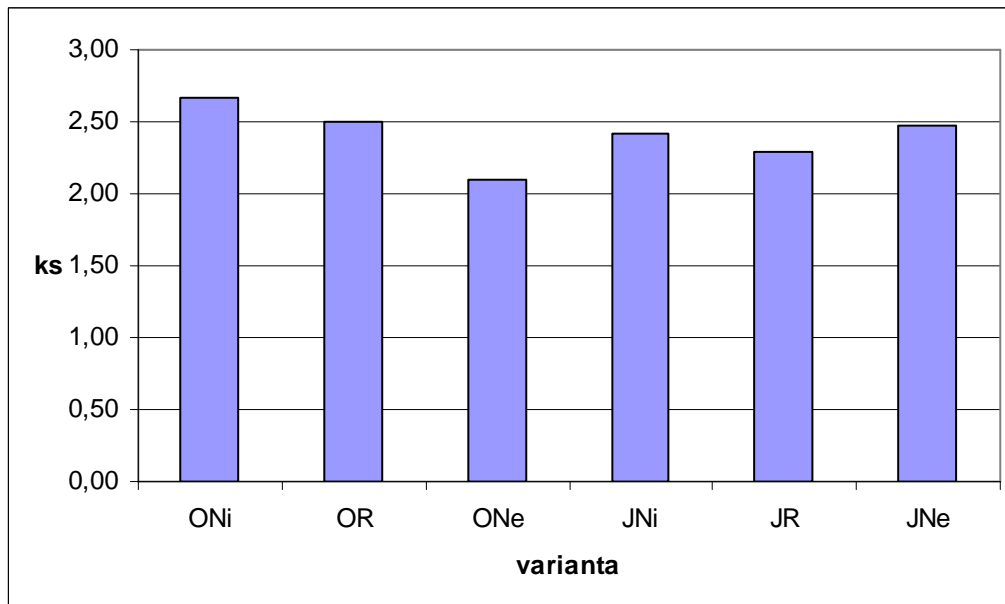
J = Jarka

O = Oslava

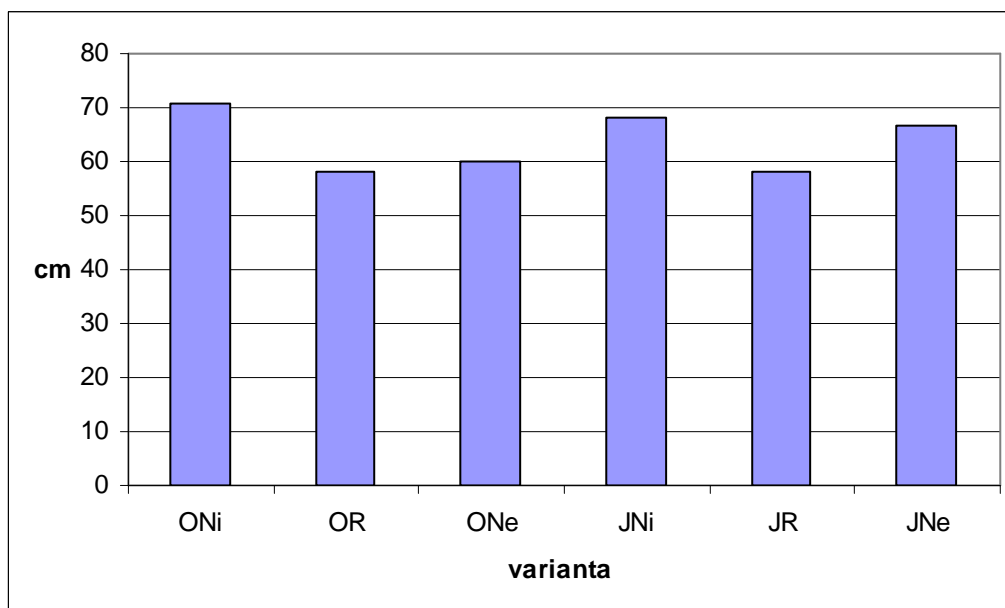
X<sub>R</sub> = odrůda inokulovaná Rizobinem LF

X<sub>N</sub> = odrůda inokulovaná Nitrazonem +N

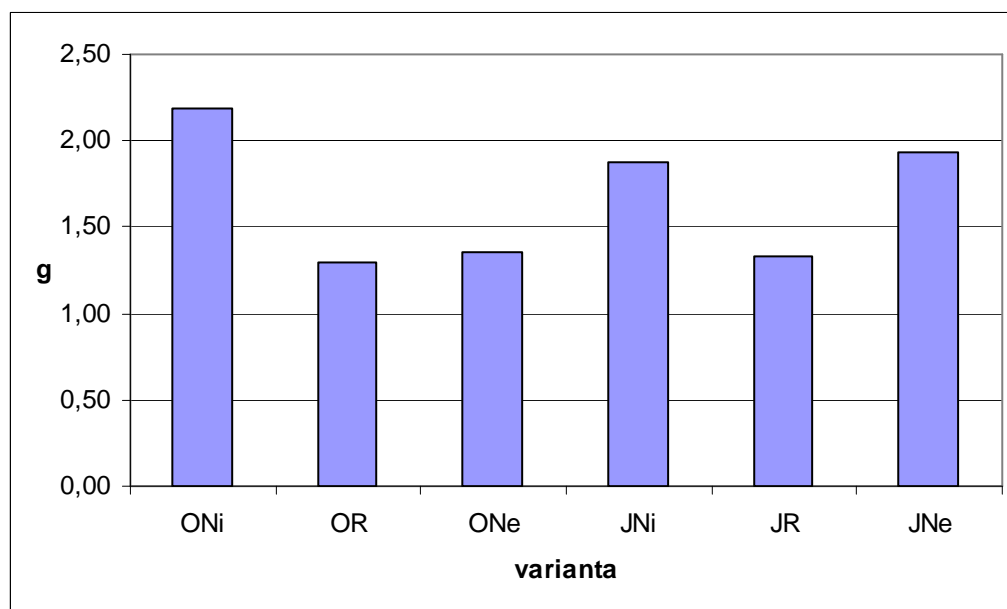
**Graf P1:** Průměrné hodnoty počtu lodyh na rostlinu (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,214$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,734$ )



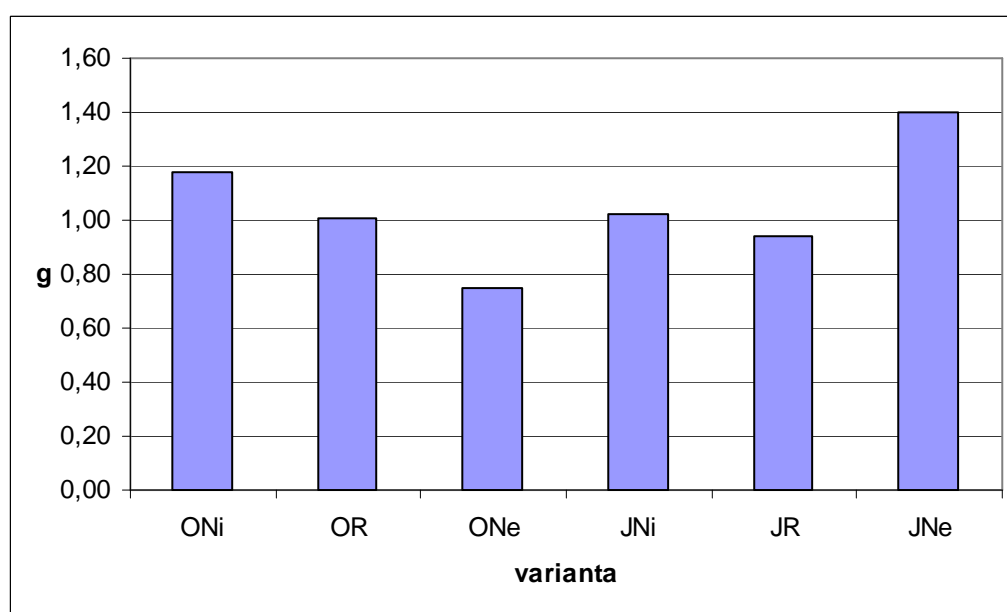
**Graf P2:** Průměrné hodnoty maximální délky lodyhy (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,233$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,526$ )



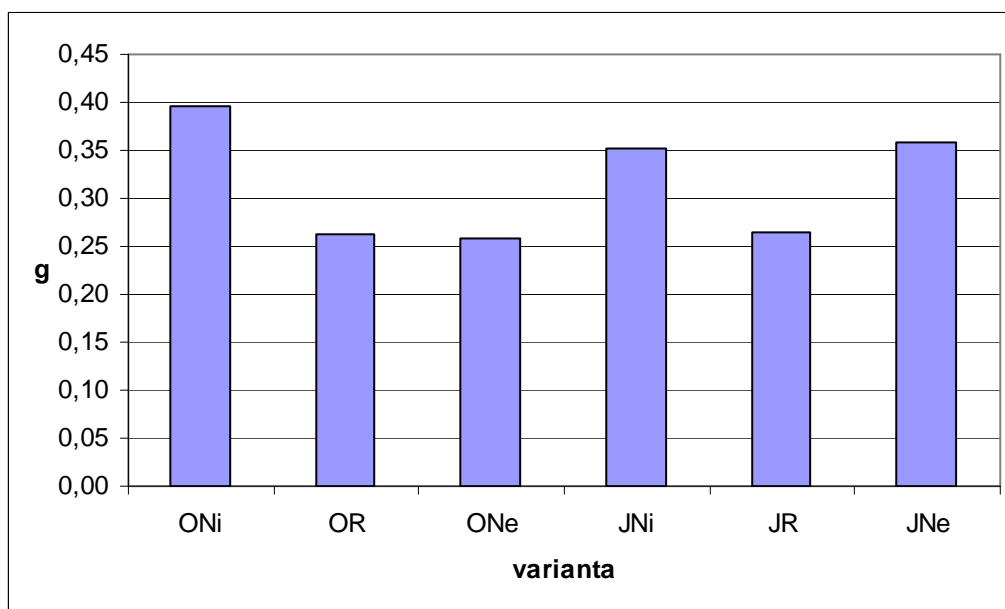
**Graf P3:** Průměrná hmotnost sušiny lodyh na rostlině (g sušiny) (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,073$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,457$ )



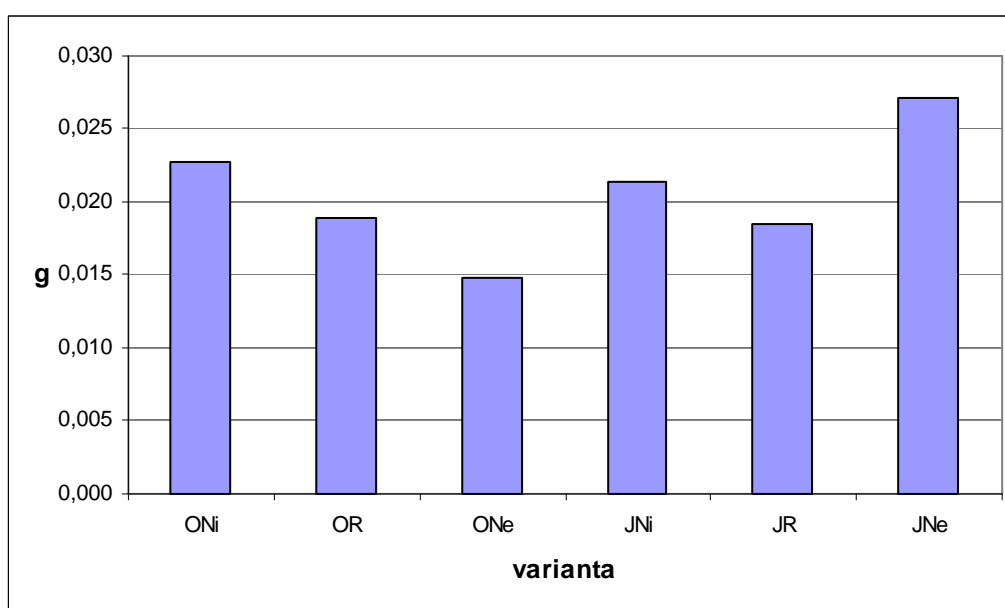
**Graf P4:** Průměrná hmotnost sušiny kořenů na rostlinu (g sušiny)



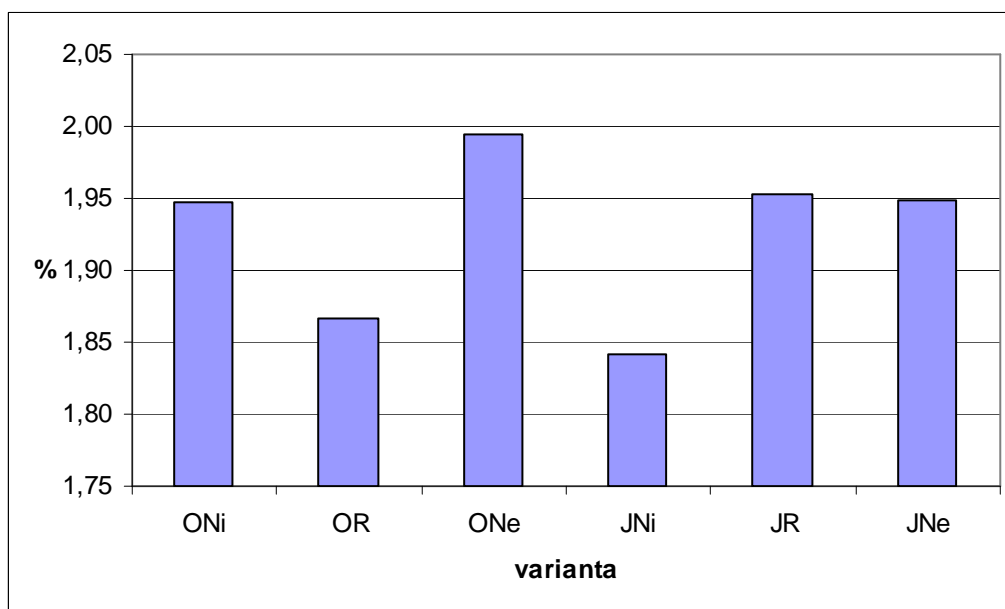
**Graf P5:** Průměrná akumulace dusíku v lodyhách (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,124$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,549$ )



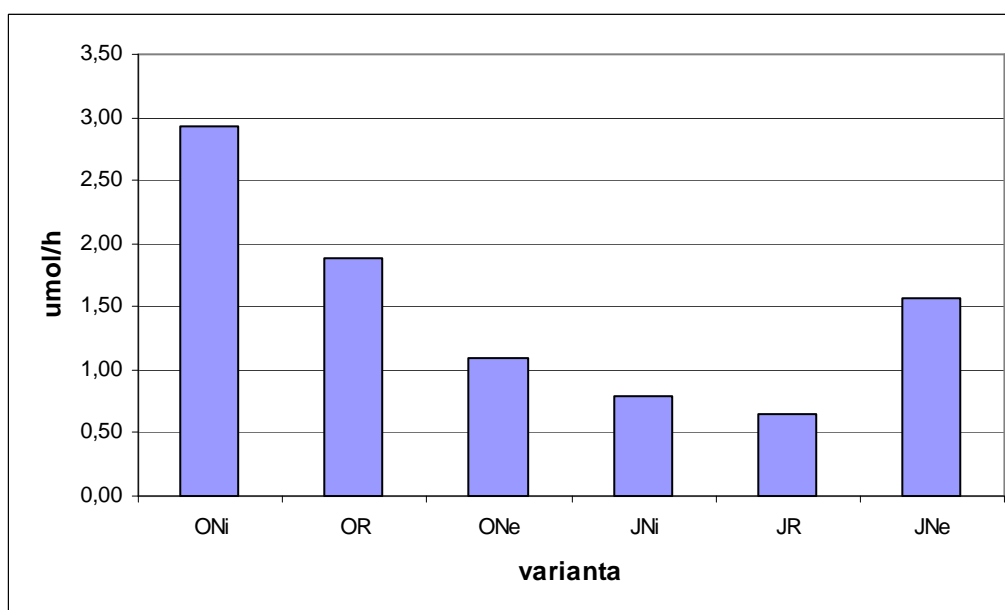
**Graf P6:** Průměrná akumulace dusíku v kořenech



**Graf P7:** Průměrné hodnoty celkové koncentrace dusíku (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,686$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,621$ )



**Graf P8:** Průměrná aktivita nitrogenázy (rozdíly mezi variantami u odrůdy Oslava neprůkazné s  $p = 0,573$ ; u odrůdy Jarka neprůkazné s  $p = 0,139$ )



**Tabulka P1:** Tabulka průměrných výsledků sledovaných parametrů

Varianta	průměr počtu lodyh na rostlinu	průměr délky lodyh	hmostnost sušiny lodyh/rostlinu	hmostnost sušiny kořenů/rostlinu	akumulace N v lodyhách	akumulace N v kořenech	průměr N (%)	TNA
ONi	2,67	71	2,19	1,18	0,40	0,02	1,95	2,93
OR	2,50	58	1,30	1,01	0,26	0,02	1,87	1,88
ONe	2,09	60	1,35	0,75	0,26	0,01	1,99	1,09
JNi	2,42	68	1,88	1,03	0,35	0,02	1,84	0,80
JR	2,29	58	1,34	0,94	0,27	0,02	1,95	0,65
JNe	2,48	67	1,94	1,40	0,36	0,03	1,95	1,58