

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra pícninářství a trávnickářství



**Vliv očkování osiva vojtěšky na výnos a kvalitu píce
v užitkových letech**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Petra Zemánková

Vedoucí práce: doc. Ing. Josef Hakl, Ph.D.

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv očkování osiva vojtěšky na výnos a kvalitu píce v užitkových letech" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu své diplomové práce doc. Ing. Josefu Haklovi, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost a pomoc při vypracování této diplomové práce. Také bych chtěla poděkovat slečně Ing. Janě Konečné za odbornou výpomoc.

Vliv očkování osiva vojtěšky na výnos a kvalitu píce v užitkových letech

The seed inoculation of lucerne in relation to forage yield and quality

Souhrn

Vojtěška setá, naše tradiční pícnina, zaujímá významnou roli v osevním postupu zemědělských plodin a ve výživě hospodářských zvířat.

Mezi přednosti vojtěšky seté patří schopnost vázat vzdušný dusík pomocí hlízkových bakterií, který se následně akumuluje v kořenech a po mineralizaci organické hmoty se stává přístupným pro následující plodiny. Je snaha zvyšovat symbiotickou fixaci pomocí šlechtění vojtěšky nebo využitím očkovacích preparátů.

V této diplomové práci bylo cílem posoudit vliv očkovacích preparátů na výnos a kvalitu píce během vegetace. Byly porovnávány dvě české odrůdy vojtěšky seté (Oslava a Jarka) a dva očkovací preparáty (Nitrazon a Rizobin), zároveň byla provedena neočkováná kontrola. Na pokusném pozemku byl porost vojtěšky sledován v užitkových letech 2012 a 2013. Vzorky píce byly odebírány ze čtyř sečí, ve čtvrté seči byly navíc odebrány také vzorky kořenů. U vzorků píce se hodnotil výnos v seči, kvalita píce a struktura porostu.

Z výsledků je patrné, že očkovací preparáty neměly pozitivní vliv na výnos a kvalitu píce na daném stanovišti. To může být způsobeno typem stanoviště a kvalitní zásobeností přijatelných živin v půdě, očkování osiva se tedy v našem pokusu projevilo jako neefektivní. V prvním vegetačním roce ale byl zaznamenán vyšší výnos píce v seči u odrůdy Oslava (šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci) a to především u preparátu Nitrazon. Ve druhém vegetačním roce nebyl tento projev statisticky průkazný, ale byl zaznamenán viditelný trend mezi danou odrůdou a očkovacím preparátem. I v úrodných půdách lze tedy předpokládat významnou vazbu mezi použitým očkovacím preparátem a sledovanou odrůdou, a tak by bylo zajímavé v tomto výzkumu i nadále pokračovat.

Klíčová slova: pícniny, vojtěška setá, fixace dusíku, Nitrazon, Rizobin

Summary

Alfalfa, our traditional forage crops, occupies an important role in a rotation of crops and in a livestock nutrition.

The advantages of alfalfa include an ability to bind atmospheric nitrogen via nodule bacteria. The advantage of symbiotic fixation is a nitrogen accumulation in roots, which is opened up by root mass mineralization to following crops.

The aim of this diploma thesis was to assess the effect of inoculants to yield and to forage crops quality during the vegetation. Two Czech alfalfa varieties (Oslava and Jarka) and two inoculants (Nitrazon and Rizobin) were compared, and the control without using any inoculant was made simultaneously. The stand of alfalfa was observed in commercial years 2012 and 2013 on the experimental ground. The samples of forage were collected from four fellings, in the fourth one the root samples were taken as well. All samples were then processed and analyzed in the laboratory.

The results show that inoculants had no positive effect on the yield and the forage crops quality at the given station. This could be caused by the type of the station and the sufficient supply of the acceptable nutrients in the soil. The forage inoculation in our experiment is therefore proved to be ineffective. In the first commercial year it was recorded a statistically conclusive interaction between the variety Oslava which is cultivated to higher symbiotic fixation and used inoculants, especially Nitrazon. In the second commercial year this phenomenon was not statistically conclusive, but there was a visible trend between the variety and the inoculant. The significant link between the used inoculant and the variety in view proved. So it would be very interesting to continue in further research.

Keywords: forage, alfalfa, nitrogen fixation, Nitrazon, Rizobin

Obsah

1. Úvod	1
2. Cíl práce a vědecká hypotéza	2
3. Literární rešerše	3
3.1 Botanická charakteristika	3
3.1.1 Vojtěška srpovitá	3
3.1.2 Vojtěška setá	4
3.2 Náročnost k podmínkám prostředí	6
3.2.1 Klimatické nároky	6
3.2.2 Půdní nároky	6
3.2.3 Agrotechnika	7
3.2.4 Založení porostu	7
3.2.5 Výživa a hnojení	7
3.2.6 Ošetřování porostu vojtěšky	9
3.3 Využívání a kvalita porostu vojtěšky	9
3.4 Symbióza kořenů s hlízkovými bakteriemi – fixace vzdušného dusíku	10
3.4.1 Půdní mikroorganismy - Rhizobakterie	11
3.4.2 Infekce rostlin bakteriemi	12
3.4.3 Tvorba infekčních vláken	13
3.4.4 Tvorba hlízek	13
3.4.5 Ukončení fixace hlízek	16
3.5 Možnosti zvýšení fixace vzdušného dusíku	16
3.5.1 Faktory ovlivňující fixaci dusíku u pícnin	17
3.5.2 Stanovištní podmínky	17
3.5.3 Šlechtění vojtěšky	17
3.5.4 Očkování osiva	18
3.5.5 Kombinace faktorů	19

3.6	Inokulační preparát	19
3.6.1	Izolace	20
3.6.2	Technologie výroby inokulačních preparátů	20
3.6.3	Aplikace inokulačních preparátů	21
3.6.4	Výhody použití inokulačních preparátů	22
3.7	Odůvodnění cíle práce	22
4.	Materiál a metody	24
4.1	Cíl práce	24
4.2	Charakteristika stanoviště	24
4.3	Charakteristika použitého pokusného materiálu	25
4.3.1	Odrůdy vojtěšky seté	25
4.3.2	Očkovací přípravky	25
4.4	Založení a rozvržení pokusné plochy	26
4.5	Hodnocené parametry	28
4.5.1	Analýza dusíku dle Dumase	28
4.6	Statistické hodnocení	28
5.	Výsledky	29
5.1	První užitkový rok 2012	29
5.2	Druhý užitkový rok 2013	32
6.	Diskuze	35
6.1	Struktura porostu a výnosy v prvním užitkovém roce	35
6.2	Struktura porostu a výnosy v druhém užitkovém roce	37
6.3	Celkové roční výnosy a obsah dusíku v kořenech	38
6.4	Efektivnost použití očkovacích preparátů	39
7.	Závěr	41
8.	Seznam použité literatury	42
9.	Samostatné přílohy	49

1. Úvod

Vojtěška setá (*Medicago sativa* L.) patří k základním a nejvýznamnějším pícninám. Mezi její přednosti patří poměrně stálé a vysoké výnosy, odolnost proti suchu, vytrvalost a zúrodňující efekt na půdu. Pro pěstování vojtěšky v našich podmínkách jsou nejvhodnější klimatické i půdní podmínky v kukuřičné a řepařské výrobní oblasti, ale i v bramborářské oblasti s hlubokou a propustnou půdou. Vojtěška setá je velkým a levným producentem stravitelných bílkovin, minerálních prvků a vitamínů pro hospodářská zvířata, zejména pro polygastrická zvířata.

Vojtěška setá představuje výrazně zlepšující plodinu osevního postupu. Svými hlubokými kořeny působí na půdu melioračně, dále významně zvyšuje podíl organické hmoty v půdě, čímž zvyšuje půdní úrodnost. Velkou předností vojtěšky je schopnost symbiotické fixace vzdušného dusíku za pomoci hlízkových bakterií. Mezi významné výhody symbiotické fixace patří zpřístupnění dusíku pro následující plodiny, vliv na výnos plodiny, zvyšování nutriční hodnoty píce, či omezení hnojení minerálním dusíkem pro následující plodiny.

Snahou zemědělského hospodaření je tedy zvyšovat schopnost symbiotické fixace vzdušného dusíku u vojtěšky seté. Toho lze v našich podmínkách docílit především dvěma způsoby, a to buď šlechtěním vojtěšky, nebo využitím očkovacích preparátů. Novodobé výzkumy se ve většině případů nezabývají interakcí inokulačních preparátů a používaných odrůd vojtěšky, proto bylo cílem této práce posoudit význam používání nových očkovacích preparátů na výnos a kvalitu píce u vybraných českých odrůd vojtěšky seté.

2. Cíl práce a vědecká hypotéza

Cílem práce je posoudit význam používání nových očkovacích preparátů na výnos a kvalitu píce i odběr hlavních živin během vegetace.

Hypotéza: Použití očkovacích preparátů při výsevu vojtěšky zvýší v závislosti na použité odrůdě koncentraci dusíku, případně i fosforu v píci s dopadem na celkový odběr živin.

3. Literární rešerše

3.1 Botanická charakteristika

Vojtěška setá (*Medicago sativa* L.) patří k nejstarším kulturním pícninám. Již před 2500 lety se pěstovala ve střední Asii (Klesnil et al., 1978). Na našem území se začala pěstovat v 17. století, ale k většímu rozšíření došlo začátkem 20. století (Velich et al., 1994). Víceleté pícniny jsou rozšířeny převážně v mírném pásmu a v severnějších oblastech, kde je většina zemědělství zaměřena na živočišnou výrobu (Carlsson et Huss-Danell., 2003).

Vojtěška setá patří k základním a nejvýznamnějším pícním jetelovinám. Její předností jsou stálé a vysoké výnosy, odolnost proti suchu a vytrvalost. Představuje výrazně zlepšující plodinu osevního postupu, neboť, jak uvádí Rotrekl et al. (2006), kromě produkce kvalitní píce pozitivně ovlivňuje půdní úrodnost.

Podle Small (2011) rod vojtěška (*Medicago*) obsahuje 87 uznaných druhů rostlin. Vojtěška neboli tolíce vojtěška patří do početného rodu čeledi bobovitých (*Fabaceae*), z nichž je většina rostlin víceletých. Největší hospodářský význam mají tři druhy (vojtěška srpovitá - *Medicago falcata* L., vojtěška zvrhlá - *Medicago media* R., vojtěška setá - *Medicago sativa*) (Klesnil et al., 1965).

3.1.1 Vojtěška srpovitá

Ve vývoji kulturních vojtěšek hraje důležitou roli. Vytváří podzemní zakořeňující oddenky a větší počet kulových kořenů, takže hlavní kulový kořen není vždy patrný. Na rozdíl od vojtěšky seté nedosahují kořeny takové hloubky a dřeňovitá lodyha je menšího vzrůstu. Její hospodářské využití je omezené, neboť má nižší výnos a horší kvalitu píce (více vlákniny) než vojtěška setá (Klesnil et al., 1973).

Hakl et al. (2005) uvádí, že mezi nejdůležitější charakteristiky vojtěšky srpovité patří odolnost proti vymrzání, tolerance k suchu, rezistence proti chorobám a odlišné utváření kořenového systému. Kvůli těmto vlastnostem a snadnou křížitelností s vojtěškou setou je cenným šlechtitelským materiálem (Hakl et al., 2002).

Vojtěška zvrhlá

Vzniká neustálým křížením vojtěšky seté a vojtěšky srpovité. Ke křížení dochází jak přirozenou cestou, tak i záměrně. Kříženci se vyznačují značnou různorodostí typů a tvoří plynulý přechod od vojtěšky srpovité až k vojtěšce seté. Hybridní

charakter se projevuje jak v morfologických tak i ve fyziologických vlastnostech (Klesnil et Velich, 1965). Pestrobarevnost květů je dobrým ukazatelem stupně prokřížení a slouží k dalšímu podrobnému dělení na typ žlutě kvetoucí (falcata typ) a modře kvetoucí (sativa typ) (Klesnil et al., 1973). Jak uvádí Velich et al. (1994), pro naše klimatické výrobní podmínky a vysokou intenzitu výroby se cení modře kvetoucí typ sativa.

3.1.2 Vojtěška setá

Biologie

Vojtěška setá má nejmohutněji rozvinutý kořenový systém. V prvních týdnech probíhá zakořeňování pomalu, proto jsou mladé rostliny citlivé na přísušky. Koncem prvního roku dosahuje kořen hloubky 1 – 2 m při setí bez krycí plodiny. V dalších letech dosahuje kořen celkové hloubky v propustných sprašových půdách až 15 m. Vojtěška vytváří ze všech kulturních plodin a pícnin největší množství kořenové hmoty (7,5 - 12 t/ha). Nejvíce kořenové hmoty je uloženo v hloubce do 40 – 50 cm, přitom je jí v ornici 30 - 60 % z celkového množství (Klesnil et al., 1973). Množství kořenové hmoty závisí i na stáří a mění se podle Larina (1951) (Klesnil et al., 1973) následovně: pokud je produkce kořenů v prvním roce považována za 100%, ve druhém roce stoupá na 147% a ve třetím roce až na 233%. Klesnil et al. (1978) uvádějí, že mezi mohutností kořenového systému a výnosem píce je úzká závislost. Tím je patrné, že čím vyšší jsou výnosy píce, tím více se vytváří kořenová hmota a tím má vojtěška větší zúrodňující vliv.

Vojtěška svým kúlovým kořenem vytváří kanálky pro prosakování srážkové vody a pronikání vzduchu do půdy, což vede k provzdušňování hlubších půdních profilů (Škoda et al., 1998). Kořenový systém vojtěšky má intenzivní sekreční a exkreční činnost a příznivě ovlivňuje rozvoj půdních mikrobů. Při intenzivním dýchání vylučuje mnoho CO₂ a látek kyselé povahy, což umožňuje uvolňování živin z méně přístupných forem (Klesnil et al., 1973). Víceleté pícniny mají až 60% podíl fixovaného dusíku v kořeni. Obsah dusíku v kořenech je také ovlivněn stavem půdní vody a obsahem živin v půdě, zejména fosforem (Carlsson et Huss-Danell., 2003). Kořenový krček představuje zdřevnatělý oddenek, z něhož vojtěška obrůstá. Po zasetí vojtěška vytváří jednu hlavní lodyhu, ze které se postupně vytvářejí

odnožovací pupeny, které tak tvoří základ kořenového krčku – zóny odnožování. (Klesnil et al., 1973). Vorlíček (2004) uvádí, že pokud rostlina zatáhne kořenový krček hlouběji do půdy, zvýší se její odolnost vůči vyzimování. Největší intenzita odnožování u rostlin bývá ve 3. roce. Je to způsobeno zvýšenou tvorbou spících pupenů a menším podílem zkrácených zelených výhonků. Klesnil et al. (1982) uvádí celkovou hloubku kořenového krčku u starších porostů vojtěšky 40-50mm, ale i více. Vojtěška a její kořenový krček špatně snáší sešlapávání a nadměrné utužení mechanizačními prostředky, což snižuje intenzitu odnožování i výnos (Klesnil et al., 1978).

Lodyhy vyrůstají z kořenového krčku. Zpravidla jsou duté, pouze některé hybridní formy jsou vyplněny dřevem. V době květu dochází k rychlé lignifikaci lodyh a snížení jejich stravitelnosti (Klesnil et al., 1978). Počet lodyh na rostlině vojtěšky je závislý na podmínkách růstu a věku rostliny od 2 - 3 do několika desítek na jedné rostlině. Lodyhy jsou vzpřímené nebo polovzpřímené a mohou dosáhnout délky přes 1 m (Vorlíček., 2004).

Listy jsou trojčetné opakvečité, v horní třetině mírně zoubkované. Listy obsahují až 70 % proteinu z jeho celkového obsahu v rostlině a převážnou část karotenu. Cenný je obsah vitamínů, z nichž je nejvíce zastoupen betakaroten ($60 - 90 \text{ mg.kg}^{-1}$ zelené hmoty), dále vitamíny B₁, B₂, D, E, C a K (Vorlíček et al., 2004). Olistěnost vojtěšky činí 40 – 50 % váhy nadzemní hmoty (Klesnil et al., 1973). Na podílu listů a lodyh závisí kvalita sklizeného produktu. Jak uvádí Hák et al. (2009b), podíl listů v píce vojtěšky závisí na fázi růstu, pořadí seče a délce lodyh.

Květenství je mnohokvítkový hrozen na pevné květní stopce vycházející z paždí listu. Květ je oboupohlavní. Pro zajištění vysoké biologické hodnoty semen vyžaduje vojtěška opylení cizím pylem (Vorlíček, 2004). Plodem vojtěšky je mnohosemenný lusk různého tvaru, většinou vytvářející spirálu o dvou až čtyřech závitech. Průměrný počet semen v lusku je v rozmezí 5 – 7 semen. Množství obsahu semen je rozdílné a závisí také na druhu vojtěšky (Vorlíček, 2004). Počet semen v lusku je ovlivněn zejména opylením, jak uvádí Klesnil et Velich (1965).

Semena vojtěšky mají žlutohnědou až hnědou barvu a fazolovitý až nepravidelně srdcovitý tvar (Klesnil et Velich, 1965). Na povrchu semene je silný obal (slupka). Obal je natolik tvrdý, že semena dlouho nejsou schopna nabobtnat a nerovnoměrně klíčí (Vorlíček, 2004). Tato vlastnost se projevuje převážně v suchých pěstebních podmínkách v době tvorby a zrání semene (Klesnil et Velich, 1965). Kvalita osiva je

hodnocena především jeho klíčivostí, jež je ovlivňována tzv. tvrdoslupečností (Hakl et al., 2009a). Jednotlivé odrůdy vojtěšky se liší velikostí semen (Vorlíček, 2004).

3.2 Náročnost k podmínkám prostředí

3.2.1 Klimatické nároky

Přestože se vojtěška řadí mezi teplomilnější rostliny, její zimovzdornost je značná. Odolnost vojtěšky klesá pouze počátkem jarního obrůstání, kdy již při -5 °C dochází k poškození mladých lodyh. O přizpůsobivosti vojtěšky drsnějšímu klimatu svědčí její pěstování v severních oblastech Evropy. U nás je pěstována ve výrobním bramborářském typu. Větší srážky nepůsobí na tuto suchovzdornou rostlinu škodlivě, pokud ovšem nezpůsobí zhoršení půdní provzdušenosti (Klesnil et al., 1973).

3.2.2 Půdní nároky

Rozhodujícím faktorem pro rozvoj vojtěšky je půdní stanoviště. Vojtěška je citlivá na poměr vody a vzduchu, na mechanické, fyzikální a chemické vlastnosti půdy. Kořeny se nejlépe vyvíjejí při obsahu vláhy 80 % polní vodní kapacity. O vhodnosti půdy pro vojtěšku nejvíce rozhoduje povaha spodních půdních vrstev, takzvaných podorničních. Z hlediska půdního druhu vyhovují vojtěšce hlinité až písčitohlinité úrodné půdy s půdním typem černozemním, případně hnědozemním (Klesnil et al., 1978). Pro růst vyžaduje hluboké kypré a kvalitně úrodné půdy s pH 6,0 – 6,5 (Sheesley et al., 1974). Suchovzdornost vojtěšky souvisí s hloubkou kořenového systému. Spotřeba vody na jednotku sušiny je u vojtěšky značná. Je 2krát až 3krát vyšší než u obilovin (Klesnil et al., 1973). Peterson et al. (1992) uvádí, že velkou část z celoroční potřeby vody získává z půdních zásob a menší část z meteorologických srážek. Pro semenářské využití vojtěšky je však třeba vybírat oblasti s příznivějšími klimatickými podmínkami v teplých oblastech České republiky (Klesnil et al., 1978).

Klesnil et al. (1978) uvádí, že vytrvalost vojtěšky jako víceleté pícniny je značná a může dávat celkem vysoké výnosy po 7 až 9 let. V praxi ovšem dosahuje uspokojivých výnosů maximálně do 3. užitkového roku.

3.2.3 Agrotechnika

Při běžné agrotechnice zařazujeme vojtěšku hlavně po obilovinách a směskách. Po vojtěšce zařazujeme ozimy i jařiny. V osevních postupech následuje vojtěška po sobě obvykle za pět roků a déle. Na podzim před setím je doporučována hluboká podzimní orba do hloubky 250 - 300 mm, nejčastější jarní smykování s následným i několikanásobným vláčením (urovnání povrchu, hubení plevelů) a před setím válení – rozdrobení hrud. Tyto operace může nahradit i kombinátor (Šantrůček et al., 2003)

3.2.4 Založení porostu

Vojtěška je velmi náročná na přípravu půdy. Při hlavním zpracování je třeba vytvořit nejvhodnější podmínky pro rychlé zakořeňování a v předseťové přípravě příznivé podmínky pro rovnoměrný výsev a hloubku setí. Podle druhu předplodiny provádíme hlubokou podzimní orbu, na těžších půdách s utuženým podložím i podrývání (Velich et al., 1991).

Správná předseťová příprava je předpokladem dobrého založení porostu. Důležité je, aby zajistila dobré uložení semena do půdy a ušetření půdní vláhy, a tím zajistila i jeho optimální vzcházivost. Jedná se hlavně o jemnější přípravu pouze svrchní části ornice. Vojtěšku vyséváme v březnu až dubnu do hloubky 12-20mm, na lehčích půdách 20-25mm, na dobře urovnaných pozemcích s drobovitou strukturou půdy (Hrabě et al., 2004). Vojtěška na píci poskytuje nejvyšší výnosy při setí do úzkých řádků, a proto se nejčastěji pěstuje v řádcích o rozteči 125 mm. Optimální výsevek se pohybuje mezi 13 až 19 kg/ha (Kopřiva, 1979). Výše výsevku závisí na kvalitě přípravy půdy a setí (Hrubá, 2003). Hrubá (2003) dále uvádí, že při dobrém výsevu vzchází až 70 % klíčivých semen. Pokud je vojtěška zakládána na pozemku, kde již velmi dlouhou dobu nebyla, je lepší těsně před výsevem očkovat osivo přípravkem Rizobin obsahujícím hlízkové bakterie (Hrubá, 2003). Vojtěšku je možné vysévat i v letním období, avšak je nutné, aby vzešla do poloviny srpna. (Hrabě et al., 2004).

3.2.5 Výživa a hnojení

Vojtěška, má-li maximálně využít svůj biologický výnosový potenciál, spotřebuje velké množství živin (Klesnil et al., 1978). Zásoba živin je důležitá nejen v orniční

vrstvě, ale i ve spodině, kam vojtěška proniká svým mohutným kořenovým systémem (Velich et al., 1991). Při výživě a hnojení vojtěšky je třeba brát v úvahu i rozvoj kořenového systému, stáří porostu, intenzitu využití i vlastnosti půdy (Klesnil et al., 1978). Při sklizni 10 tun sena z hektaru je z půdy odčerpáno 260 kg dusíku, 200 – 250 kg CaO, 150 – 180 kg K₂O a 60 až 70 kg P₂O₅. Skutečná spotřeba je však o 20 % vyšší, protože rostlina část přijatých živin ukládá do kořenů (Hrubá, 2003).

Klesnil et al. (1978) uvádějí, že i když vojtěška čerpá poměrně málo fosforu, je pro ni velmi důležitý. Velich et al. (1991) uvádějí, že fosfor působí na aktivitu fyziologických a biochemických procesů, dále na zvýšení obsahu dusíkatých látek a samotného fosforu v sušině. Mimo jiné dává píce větší chuť a celkově zlepšuje její krmnou hodnotu. Šantrůček et al. (2003) doporučují na středně zásobených půdách dodat fosfor pomocí zásobního hnojení k předplodině.

Klesnil et al. (1978) uvádějí, že vápník je hned po dusíku nejvíce čerpanou živinou. Aplikuje se už k předplodinám, aby došlo k vytvoření příznivého prostředí ve spodních vrstvách. Podle Velicha et al. (1991) je vápník nejen pro vojtěšku důležitou živinou, ale zároveň zlepšuje i fyzikální a chemické vlastnosti půdy, a tím usnadňuje rostlině příjem dalších živin. Působí tak příznivě na její celkový vývin i víceletost.

Velich et al. (1991) uvádějí, že draslík je vojtěškou přijímán v množství 12 – 25 kg na 1 t sušiny. Pokud je prostředí, kde se vojtěška pěstuje, příliš kyselé, čerpání draslíku se značně zvyšuje, což se posléze odráží ve vysokém obsahu draslíku v sušině.

Dusík si vojtěška osvojuje z 90 % symbiózou a jen 10 % čerpá z půdy (Klesnil et al., 1978). Pravidelné hnojení dusíkem v ČR je neúčinné a neekonomické (Šantrůček et al., 2003). Symbiotickou fixaci vzdušného dusíku je možno podpořit očkováním osiva kulturou hlízkových bakterií. Výjimečně se aplikuje tzv. startovací dávka, asi 20 kg N/ha před setím (Kuchtík et al., 2002). Přihnojování se může využít při zasetí v počáteční fázi růstu na málo výživných půdách a v období, než bakterie začnou fixovat vzdušný dusík. Dále v období po sklizni, kdy rostlina vytváří minimální energii pro bakterie. Když se naopak přidá velké množství hnojiva, rostliny zpomalí nebo ukončí proces fixace dusíku (Lindemann et al., 2003). Rostlina přijímá dusík z půdy, neboť je to pro ni energeticky snazší než přes bakterie. Víceleté pícniny a luštěniny mohou fixovat 112 až 225 kg N/ha, proto se obvykle nepřihnojují, jelikož je to nevýhodné (Lindemann et al., 2003).

Podle Vaňka et al. (2002) každoroční hnojení vojtěškových porostů v brzkém jarním období nemá na půdách s dobrým obsahem K i P vliv na výnos píce, a tak je produkčně i ekonomicky neefektivní.

Část dusíku se po ukončení pěstování vrátí do půdy pro následující plodiny. Dusík se vrací do půdy přes rostlinné zbytky. Nejvíce dusíku se dodá do půdy při zapravení celé rostliny do půdy. Kořeny a krček přidají málo dusíku oproti nadzemní biomase (Lindemann et al., 2003).

3.2.6 Ošetřování porostu vojtěšky

Již od počátečního, často rozhodujícího období, je nutné uplatňovat agrobiologickou kontrolu. Důležité je provést kontrolu vzcházení a hustoty porostů. Mechanické ošetření u mladého porostu v prvním roce neprovádíme. Důležité je zajistit ochranu proti plevelům, zvláště při setbě krycí plodiny. Cílem veškerého ošetřování vojtěšky musí být udržet čisté, nezaplevelené a dobře zapojené porosty po celou dobu využívání, neboť jen za takového stavu mohou poskytovat vysoké výnosy píce (Velich et al., 1991).

3.3 Využívání a kvalita porostu vojtěšky

Hakl et al. (2009c) uvádějí, že vojtěška setá je díky svému vysokému výnosovému potenciálu a výborné kvalitě píce řazena mezi naše hospodářsky nejvýznamnější pícniny.

Při sklizni vojtěšky je třeba sledovat dva hlavní cíle: jednak dosáhnout maximálních výnosů píce a živin a jednak zajistit požadovanou provozní vytrvalost porostu. Proto při vlastním využití je nutné vycházet z biologických vlastností této rostliny. Týká se to jak stanovení sklizně v příslušné růstové fázi, tak i doby poslední seče. Vojtěška dává 3 až 4 seče za rok, v bramborářské výrobní oblasti zpravidla jen 3 seče za rok. Je třeba vycházet z toho, že v řepářské výrobní oblasti první seč narůstá přibližně za 50 dnů druhá a třetí za 40 až 45 dnů a čtvrtá za 40 dnů (Klesnil et al., 1978).

Kvalita píce vojtěšky je velmi dobrá, avšak můžeme pozorovat jisté výkyvy v kvalitě píce v závislosti na fázích růstu, ve kterých se porost sklízí. Počínaje kvetením dochází ke stárnutí vojtěšky a snižuje se obsah stravitelných živin, naopak

se zvyšuje obsah vlákniny a rostliny dřevnatí. Výnos sena u vojtěšky se v celostátním průměru pohybuje kolem 9,5 t/ha (Velich et al., 1991).

Z hlediska kvality jednotlivých částí lze říci, že nejvyšší kvalitu píce mají listy a nejméně hodnotnou část představují lodyhy. Z hlediska obsahu bílkovin mají listy oproti lodyhám více než dvojnásobek dusíkatých látek. Souhrnně lze tedy říci, že kolísání celkového obsahu dusíkatých látek v píci vojtěšky v hodnotách od cca 24 % do 15 % je dáno především změnami zastoupení listů a lodyh. Snížení podílů listů ve sklizené hmotě velmi negativně ovlivňuje obsah bílkovin. Včas provedená první seč je rozhodující pro celoroční výnos bílkovin (Hakl et al., 2006).

Důležité je i meliorační působení jetelovin. Kořeny prorůstají hluboko do spodiny, vynášejí z podorničních vrstev živiny a půdu provzdušňují. Po zaorání zanechávají jeteloviny v půdě 4 – 12 t suché kořenové a strništní hmoty, jak uvádí Klesnil (1973). Vysoké množství kvalitní hmoty jetelovin je důležitým materiálem pro tvorbu trvalého humusu a podporuje rozvoj půdní mikroflóry (Kudrna, 1979).

3.4 Symbióza kořenů s hlízkovými bakteriemi – fixace vzdušného dusíku

Kořeny jetelovin jsou v symbiotickém vztahu s mikroorganismy, který je výhodný pro rostliny i mikroorganismy (Kudrna, 1979). Tyto mikroorganismy – tzv. hlízkové bakterie (Rhizobia) – poutají vzdušný dusík, který zůstává k dispozici i pro následné plodiny (Škoda et al., 1988).

Důležitou vlastností vojtěšky je symbióza tenkých kořínků s nádorkovými bakteriemi poutajícími vzdušný dusík (Klesnil et al., 1973). Fixací dusíku se označuje pronikání elementárního atmosférického dusíku do koloběhu dusíku. Ze 78 % má sice atmosférický dusík největší podíl na složení zemské atmosféry, avšak kvůli své nízké reaktivitě není organismům k dispozici jako zdroj dusíku (Tietjen und Zeibig, 2002).

Fixace biologického dusíku je proces, který přetváří vzdušný dusík N_2 na biologicky využitelný NH_3 . Tento proces v přírodě zajišťují půdní bakterie. Rostliny využívají tento dusík buď z mrtvých těl bakterií, kdy dochází k uvolňování dusíku do prostředí, nebo ze symbiózy s bakterií fixující vzdušný dusík (Lindemann et al., 2003).

Význam této biologické fixace, je znám od 80. let 19. století, kdy byly izolovány čisté kultury rhizobií. Tyto bakterie infikují mladé kořínky 3 - 4 týdny po zasetí a vytvářejí na nich nádorky. Vojtěšku infikují bakterie *Rhizobium melilotii*. Pomocí těchto bakterií může vojtěška poutat ročně na 1ha až 220 kg/N (70 – 420 kg/N/ha) (Šimon et Mikanová, 2009).

Biologická fixace dusíku se během let stala samostatnou vědeckou disciplínou a poznatky výzkumu jsou i komerčně využívány při produkci inokulačních látek pro leguminozy (Šimon et Mikanová, 2009).

3.4.1 Půdní mikroorganismy - Rhizobakterie

Podle vztahu k rostlinám můžeme půdní mikroorganismy dělit na symbiotické bakterie (rhizobia) a volně žijící rhizobakterie. (Šimon et Mikanová, 2010).

Rhizobakterie jsou, prospěšné půdní mikroorganismy, které podporují růst a vývoj rostlin. Kolonizují kořeny rostlin, fixují vzdušný dusík a stimulují růst rostlin pomocí růstových regulátorů, fytohormonů a biologicky aktivních látek (Šimon et Mikanová, 2010). Jsou důležitou součástí pro udržení produkčních a ekologických funkcí půdy. Účastní se důležitých procesů v půdě, přispívají ke zvyšování dostupnosti živin pro rostliny a napomáhají k udržení dobré půdní struktury. V podmínkách našeho pásma má největší význam symbióza hlízkových bakterií – rhizobií- s leguminózami. (Šimon et Mikanová, 2012). Rhizobia je schopna žít v půdě i v případě nepřítomnosti symbiotické rostliny (Loynachan, 2005).

Rhizobia jsou gram-negativní, obligátně aerobní, heterotrofní bakterie tyčinkovitého tvaru opatřené subpolárními bičíky (Šimon et Mikanová, 2009), které jsou schopné fixovat vzdušný dusík (Šimon et Mikanová, 2012). Klíčící rostlinky leguminóz produkují signální bílkoviny – noduliny, na které reagují specifická rhizobia pro určitý druh leguminózy (Šimon et Mikanová, 2009). Rhizobakterie se rozdělují na rychle rostoucí a pomalu rostoucí. Rychle rostoucí hlízky tvoří na vojtěšce, jeteli a hrachu. Pomalu rostoucí rhizobia tvoří hlízky např. na sóje a lupině. (Šimon et Mikanová, 2012).

Kromě symbiotických bakterií lze ještě rozlišit v půdě nesymbiotické rhizobakterie, kam patří bakterie rodu *Azotobacter*. Jsou to gram-negativní, volně žijící bakterie fixující vzdušný dusík. Nalezneme je především v orných půdách mírného pásma, kde je neutrální pH a vyšší obsah organické hmoty. Roční fixace dusíku se pohybuje

od 5 do 10kg N na hektar, vyšší fixace až 30kg N/ha/rok je dosahována při vyšší vlhkosti a teplotě půdy a při vyšším obsahu organické hmoty v půdě. Měli bychom podporovat půdní podmínky pro výskyt *Azotobacter*, ale můžeme je i přímo aplikovat na pozemek nebo na osivo před setím. Výsledky pokusů ukazují, že inokulace osiva obilovin, nebo i jiných plodin, zvyšuje výnos i koncentraci dusíku v rostlinách. Použití bakterií rodu *Azotobacter* jako půdního inokulantu je účinné, protože bakterie fixují molekulární dusík, ovlivňují produkci růstových hormonů a fungicidních látek a schopnost rozpouštět fosfáty v půdě, a tím zpřístupňovat fosfor rostlinám (Šimon et Mikanová, 2010). Volně žijící symbiotické bakterie upřednostňují saprotrofický způsob života v době, kdy nefixují dusík (Gade, 2004).

3.4.2 Infekce rostlin bakteriemi

Samotný průběh infekce kořenů probíhá za aktivní spolupráce hostitelské rostliny, která do rhizosféry produkuje řadu atraktantů pro bakteriální buňky, dochází k pohybu bakterií na základě chemotaxe. Mezi atraktanty látky patří aminokyseliny, vitamíny skupiny B a látky flavonoidního charakteru (Cassab, 1998).

Proces infekce začíná výměnou molekulárních signálů mezi rostlinou a bakterií (Diouf et al., 2002). Rostlina vydává signály ve formě organických molekul flavonoidů (Loynachan, 2005). Flavonoidy (luteolin, apigenin, daidzein, naringenin), betainy a kyselinu aldonovou rostliny vylučují z kořene. Byly identifikovány jako vyvolávací molekuly pro rhizobiální chemotaxi a pro vyjádření rhizobiální nodulace. Flavonoidy jsou velice aktivní i při nízké koncentraci (Diouf et al., 2002). Každý rostlinný druh vylučuje specifickou směs flavonoidů pro určitý druh bakterií.

Symbiotické fixace dusíku mezi rhizobií a leguminózou se účastní *sym* geny, které souvisí s regulačním systémem metabolismu dusíku v buňce a fixací N_2 . *Sym* geny dělíme na *nod* geny, *nif* geny, *fix* geny. *Nod* geny nesou informaci o látkách, které jsou zapotřebí při tvorbě hlízek a při rozvoji symbiotické fixace. Ke svému projevu potřebují rostlinné induktory, jako jsou flavonoidy či betainy. *Nif* geny nesou informaci o tvorbě enzymu nitrogenázy. *Fix* geny jsou nezbytné pro průběh fixačního systému. (Catoira et al., 2000)

3.4.3 Tvorba infekčních vláken

Tvorba hlízek začíná infekcí čepičky kořenového vlásku rostliny bakterií. Tento průběh je velmi rychlý. Rhizobium se k vlásku připojí během několika minut a po 4 - 5 hodinách se vlasek začíná kroutit následkem dehydratace, což umožní vniknutí bakterie do kořenového vlásku (Catoira et al., 2001). Rostlina tvoří na povrchu kořenových vlásků lektiny, které zlepšují vazbu a průnik bakterie do kořenového vlásku (Parniske, 2004). Rhizobia se rychle množí a rostou uvnitř infekčního vlákna. Infekční vlákno prorůstá k primární kůře kořene, kde stimuluje tvorbu buněk kořene a tvorbu hlízky (Heidstra et al., 1994). Poté co bakterie rhizobia naruší kořen leguminózy, vyvolají morfologické změny v epidermálních buňkách kořene (Lindemann et al., 2003). Rhizobie se morfologicky mění v odlišnou bakteroidní formu a dochází k propojení metabolických pochodů mezi rostlinou a bakterií. Prostřednictvím enzymu nitrogenázy je zahájena samotná fixace dusíku (Šimon et Mikanová, 2009).

Hlízky se vytváří na hlavním kořeni v místech, kde rostou kořenové vlásky, které byly napadeny bakterií (Loynachan, 2005).

3.4.4 Tvorba hlízek

Noduly neboli hlízky jsou epitelové buňky na kořenových systémech píce a luštěni. Vojtěška pomocí meristematických pletiv vytváří hlízky, kde rhizobia žije (Loynachan, 2005).

Hlízky na jeteli a vojtěšce mají prstovitý tvar a jsou méně než půl palce (1 palec je 25 – 27 mm) v průměru veliké. Hlízky na jednoletých rostlinách (fazole, sója,...) jsou kulaté a mohou dosáhnout velikosti hrášku. Hlízky na víceletých pícech jsou dlouho žijící a fixují vzdušný dusík během celého růstového období, dokud jsou podmínky příznivé. Většina hlízek se koncentruje okolo hlavního kořene. Vojtěšková rostlina jich má 10 až 50 (Lindemann et al., 2003).

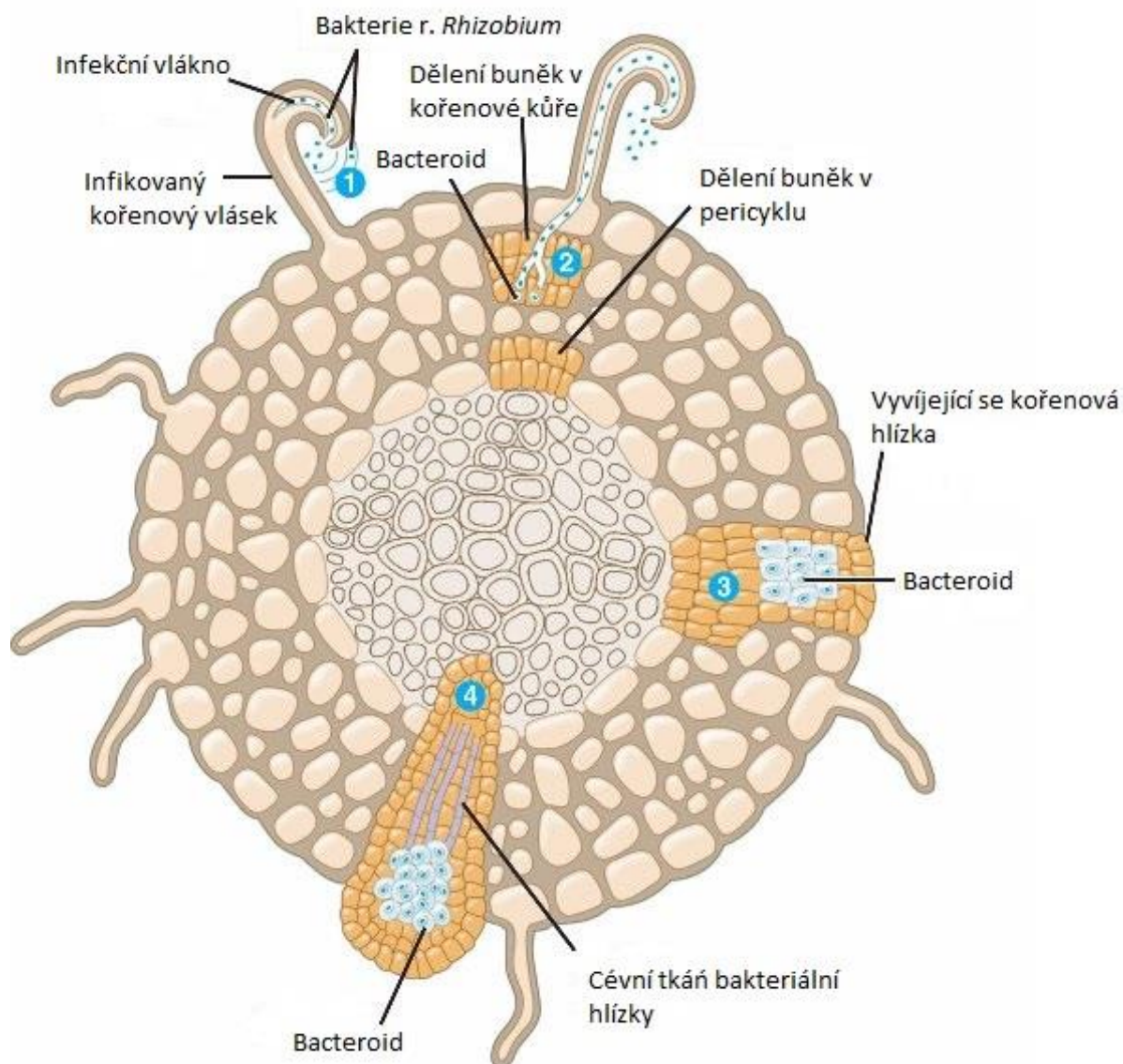
Malé hlízky jsou 2 – 3 týdny po zasetí viditelné na kořenech rostliny, ale záleží na druhu pícniny a na podmínkách klíčení. Mladé hlízky mají uvnitř bílou nebo šedou barvu, jelikož ještě nefixují vzdušný dusík. Jak rostou a začínají fixovat vzdušný dusík, pozvolna mění barvu na růžovou až načervenalou. Barva je způsobena leghemoglobinem, který zásobuje a řídí tok kyslíku mezi rostlinou a bakterií. Leghemoglobin je specifický protein s hemovou prostetickou skupinou. Má podobnou

funkci jako hemoglobin u teplokrevných živočichů (Lindemann et al., 2003). Růžové či načervenalé hlízky většinou převládají uprostřed vegetačního období.

Transport signálů a látek mezi rostlinou a bakterií zajišťuje peribakteriální membrána (cytoplazmatická membrána buňky hlízky a z proteinů bakteriálního původu), která obklopuje bakterii (Vercher, 1989). Dochází zde k přeměně bakterie na bakteroid, který je schopný fixace vzdušného dusíku (Brewin, 1991). Rostlina resorpčním způsobem zásobuje bakterie sloučeninami uhlíku, a tím jim dodává zdroj energie pro fixaci dusíku a jiné aktivity látkové výměny (Tietjen et Zeibig., 2002). Rostlina poskytuje bakteriím značné množství energie, vodu, živiny a rhizobie. Část přijaté výživy využije k vytvoření ze vzdušného dusíku na NH_3 , který je transportován přímo do rostliny (Loynachan, 2005).

Na vznik a vývoj hlízek mají velký vliv hlavně fyzikální vlastnosti půdy, jako jsou teplota, půdní vlhkost, zásobenost živinami a pH (Šimon et Mikanová, 2012).

Průběh infekce kořene u hostitelské rostliny je znázorněn v obrázku 1. (<http://bio1152.nicerweb.com>)



Obrázek 1: Průběh infekce kořene hostitelské rostliny

1. Deformace a zakroucení kořenového vlásku.
2. Průnik infekčního vlákna a jeho růst.
3. Tvorba kořenové hlízky.
4. Vznik bakteroidů.

3.4.5 Ukončení fixace hlízek

Když převládají na kořenech bílé či šedé hlízky, dochází k malé fixaci dusíku. Může to být způsobeno málo efektivními bakteriemi, slabým zásobením živinami nebo jiným rostlinným stresem. Hlízky, které nefixují dusík, zevnitř zezelenají, rostlina je přestane zásobovat a stávají se součástí rostliny (Lindemann et al., 2003).

3.5 Možnosti zvýšení fixace vzdušného dusíku

Pro nesporný přínos fixace N_2 existuje logicky snaha maximalizovat fixaci. Základní možnosti zvýšení fixace vzdušného dusíku jsou podrobně uvedeny níže. Patří sem například výběr vhodného stanoviště či vytváření vhodných podmínek pro zlepšení symbiotického vztahu mezi hlízkovými bakteriemi a kořeny vojtěšky.

Možností zvýšení fixace dusíku je více, ale jen některé mají očekávaný účinek. Slabá fixace dusíku v půdě může být napravena očkováním, hnojením, zavlažováním. (Lindemann et al., 2003).

Lindemann et al., (2003) uvádí tyto metody vedoucí ke zvýšení fixace vzdušného dusíku:

- Znovu zasít osivo očkované správným typem rhizobia k dané plodině
- Snaha očkovat rostliny přímo na poli pomocí postřiku nebo jiných prostředků. Tato metoda se v provozu moc neuplatňuje.
- Možnost přihnojení dusíkem, aby byly zabezpečeny všechny dusíkaté potřeby pro rostlinu. Tato metoda není vhodná pro víceleté pícniny (př. Vojtěška setá), tedy pokud je plodina na pozemku víc jak jedno vegetační období. Pokud jsou hlízky mladé, půdní dusík nemusí být dosažitelný pro mladé rostliny, a tak se využije přihnojení.
- U zasetých rostlin se objevuje nedostatek dusíku uprostřed vegetačního období, kdy je rostlina vzrostlá a spotřeba dusíku je největší. Příčinou může být slabá nebo neefektivní fixace dusíku. Pěstitel může odstranit stres rostliny, ale je pozdě na aplikaci očkovacího přípravku. Možností je aplikace dusíkatého hnojiva pro nastávající plodinu nebo očkovat následující plodinu.

Klesnil et al. (1973) uvádí, že očkování je nutné pouze na takových pozemcích, kde se vojtěška vůbec nebo dlouho nepěstovala.

3.5.1 Faktory ovlivňující fixaci dusíku u píce

Některé leguminózy mají lepší fixaci dusíku a jiné horší (Lindemann et al., 2003). Zastoupení rhizobií v půdě závisí na abiotických a biotických faktorech prostředí a na pěstovaných nebo volně rostoucích leguminózních rostlinách (Šimon et Mikanová, 2009). Jakýkoli stres na rostlinu sníží fixaci dusíku neboli aktivitu hlízek (Lindemann et al., 2003).

3.5.2 Stanovištní podmínky

Fyzikální vlastnosti půdy (půdní vlhkost, teplota, pH a zásobenost živinami – především dusíkem) významně ovlivňují vznik a vývoj hlízek. (Šimon et Mikanová, 2009). Geografická lokace ovlivňuje a způsobuje velké rozdíly ve fixaci dusíku a je důležitým zdrojem množství fixovaného dusíku. Navzdory rozdílům v přírodních podmínkách, přihnojování a geografické lokaci je obsah sušiny závislý na obsahu dusíku (Carlsson et Huss-Danell., 2003).

V půdě dochází ke konkurenčním vztahům s ostatními mikroorganismy o živné substráty a kompetičnímu vztahu uvnitř rhizobiálních populací při kolonizaci kořenů leguminóz a tvorbě hlízek. (Šimon et Mikanová, 2009).

3.5.3 Šlechtění vojtěšky

V České republice je v současné době vojtěška setá pěstována na 55 884 ha zemědělské půdy, ke dni 31. 5. 2013. (Česky statistický úřad, 2014). Ve státní odrůdové knize České republiky bylo ke dni 15. 6. 2013 zapsáno 18 odrůd vojtěšky seté (*Medicago sativa* L.) (ÚKZUK, 2014). České odrůdy patří k jedněm z nejlepších v Evropě. Moderní odrůdy jsou typu syntetických populací, většinou širokého genetického základu. Hybridní odrůdy jsou neekonomické (Chloupek, 2008). Hlavní šlechtitelské cíle u vojtěšky jsou zaměřeny na zlepšení výnosu semene, zvýšení provozní vytrvalosti, výnosu píce a zlepšení její kvality (Šantrůček, 2003). Tyto šlechtitelské cíle uvádí i McKersie (1997), který se u nově vyšlechtěných odrůd

zaměřuje na zvyšování výnosu píce a zlepšování její kvality, zvýšení fixace vzdušného dusíku a větší odolnost vůči horším půdním podmínkám. Šantrůček (2007) dále uvádí, že se vojtěška šlechtí na odolnost proti škůdcům a na rezistenci proti chorobám.

Ke zvýšení symbiotické fixace dusíku u vojtěšky se využívá genetické modifikace bakterií rodu *Sinorhizobium meliloty*. Očkování vojtěšky těmito druhy vedlo ke značnému zlepšení růstu rostlin (Castillo et al., 1999).

3.5.4 Očkování osiva

Obecným cílem inokulace je zvýšit půdní úrodnost introdukcí specifických mikroorganismů. (Šimon et Mikanová, 2009). Smyslem očkování je zajistit dostatek správného typu rhizobia, aby se mohla vytvořit efektivní symbiotická fixace mezi bakterií a rostlinou (Loynachan, 2005). Použití prospěšných bakterií k zemědělským plodinám zvyšuje výnos plodin a může zlepšit i jejich odolnost proti stresovým faktorům, jako je nedostatek vody, živin nebo kontaminace půdy těžkými kovy (Šimon et Mikanová, 2010).

Hlavní problém introdukce mikroorganismů do půdy souvisí s jejich přežitím. Introdukované mikroorganismy přežívají v půdě hůře než mikroorganismy dlouhodobě žijící v půdě. Introdukované mikroorganismy mohou být v půdě vystaveny vlivům, které nebyly ve zjednodušených laboratorních pokusech brány v úvahu (Šimon et Mikanová, 2009).

Praktická inokulace proto předpokládá přípravu vhodné očkovací (inokulační) látky, jejímž základem je vysoký počet vitálních a efektivních mikroorganismů na vhodném nosiči. Samotné přípravě inokulačních preparátů předchází izolace, testace a výběr provozních kmenů rhizobií (Šimon et Mikanová, 2009).

Hlavním cílem selekčních programů hlízkových bakterií je zajistit produkci takového inokula, které bude obsahovat kmen nebo kmeny rhizobií schopné tvořit plně efektivní dusík fixující hlízky na leguminózách, pro které je určeno, a v půdních a klimatických podmínkách, ve kterých jsou dané plodiny pěstovány. (Šimon et Mikanová, 2009).

Vhodné je inokulovat osivo na pozemky, kde se dlouhodobě nepěstovala píce, protože nemusí být vhodná rhizobia v půdě. Následné očkování v dalších letech není

už tak vyžadováno, pokud došlo k dobrému počátečnímu nastartování (Loynachan, 2005).

3.5.5 Kombinace faktorů

Aplikace průmyslových dusíkatých hnojiv potlačuje nitrogenasovou aktivitu v půdě, a tedy fixaci vzdušného dusíku bakteriemi (Šimon et Mikanová, 2010). Pěstitel není schopen ovlivnit počasí, ale může předcházet výživovému stresu, který bývá způsoben především nedostatkem fosforu, draslíku, zinku, železa, molybdenu či kobaltu, správným hnojením, a tak dodržujeme vyrovnané zásoby živin v půdě. (Lindemann et al., 2003). Munns (1970) uvádí, že limitujícím faktorem fixace dusíku je také nedostatek některých minerálních látek (Ca, K, Mg) nebo nadměrně vysoké pH půdy. Obsah dusíku v kořenech je též ovlivněn stavem půdní vody i obsahem živin v půdě, a to zejména fosforem (Carlsson et Huss-Danell., 2003).

Výskyt a aktivita prospěšných půdních bakterií jsou podporovány organickým hnojením, jako je hnůj, kompost, případně zaorávka slámy. Šimon et Mikanová, 2010).

Dále Šimon a Mikanová (2010) uvádějí, že vedle aplikace organických hnojiv napomáhají rozvoji prospěšných půdních bakterií též určitá agrotechnická opatření a způsoby zpracování půdy před setím. Využívají se půdo-ochranné technologie, které mají za následek změnu distribuce uhlíku a dusíku v půdním profilu. Při redukovaném zpracování půdy dochází obvykle v orničním profilu ke kumulaci organických látek, ty se pak stávají stálým zdrojem energie pro prospěšné půdní mikroorganismy.

Pícnina, u které je vyrovnán výživový stres, odpovídá přímo výživě a nepřímo na zvýšenou fixaci dusíku, tzn., čím víc rostlina fixuje, tím víc strádá, protože většinu energie dává bakteriím (Lindemann et al., 2003). Oliveira et al. (2004) prokázali, že v závislosti na rostoucí koncentraci dusíku v půdě klesá aktivita nitrogenázy.

3.6 Inokulační preparát

Výroba inokulačního preparátu je velice důležitý proces, kdy je důležité získat kvalitní kmeny půdních bakterií. Postup získání kvalitního preparátu je popsán níže.

3.6.1 Izolace

K izolaci hlízek kulturních leguminóz se vybírají vyrovnané zdravé porosty na nehnoujených a neočkovaných pozemcích. Provádí se v oblastech, kde se určitý druh leguminóz pěstuje nebo se zde nacházejí přirozená stanoviště planě rostoucích leguminóz. Izolace se provádí na začátku kvetení rostlin, neboť v tomto období jsou rhizobia v hlízkách nejaktivnější (Šimon et Mikanová, 2009).

3.6.2 Technologie výroby inokulačních preparátů

Inokulační preparáty by měly splňovat následující požadavky na kvalitu: inokulační preparát by měl obsahovat rhizobia schopná tvořit hlízky a účinně fixovat dusík na rostlinách, pro které je určen a/nebo rhizobia s prokázanou P-solubilizační aktivitou. Preparát může obsahovat jeden nebo více kmenů rhizobií. Preparát by měl obsahovat minimálně 1×10^8 živých buněk rhizobií na gram nosiče. Inokulační preparát by měl být snadno aplikovatelný a měl by se dobře uchycovat na osivo. (Šimon et Mikanová, 2009). Očkovací látky jsou uváděny na trh v různých formách, nejčastěji v práškové, kapalně a granulované, formě, dále ve formě rašeliny nebo jílu (Stephens et Rask, 1999).

Nejlépe se prokázaly inokulační preparáty vyráběné na bázi vysoce kvalitní jemně mleté sterilní rašeliny. (Šimon et Mikanová, 2009). Sterilní rašelina má výbornou skladovatelnost (Stephens et Rask, 1999). Práškové přípravky jsou většinou použity pro očkování osiva přímo na semeno. Rašelina nebo jíl chrání rhizobia a udržuje jejich životaschopnost, je jejím takovým obecným přenašečem (Loynachan, 2005). Kapalně přípravky mohou být použity přímo na semena nebo umístěna do řádku při setí. Nevýhodou většiny případů je omezená skladovatelnost a vysoké náklady (Stephens et Rask, 1999).

Granulované výrobky mohou být umístěny přímo do řádku hluboko pod osivo nebo vedle osiva. Mají shodné výsledky jako při dosažení s rašelinou. Jejich výhodou je schopnost kontrolovat umístění a aplikační potřebnou dávku (Stephens et Rask, 1999).

Přenašeč očkovací látky by měl rovnoměrně pokrýt semeno a udržet se na něm, než se semeno zaseje do půdy. Důležité je to hlavně u semínek leguminóz (vojtěška, jetel), neboť jsou malá a kluzká. Aby se přilnutí udrželo, je inokulant smíchán s pojivem jako je voda či mléko, které obsahuje příměs melasy, cukru nebo arabské

gumy. Má to podobný účinek jako lepidlo. Očkovací preparáty by se měly nejlépe uchovat v chladu nebo v lednici (Loynachan, 2005).

3.6.3 Aplikace inokulačních preparátů

Semena píce mohou být zakoupena již předočkováná neboli preinokulovaná. To se obvykle provádí pomocí impregnace rhizobií nebo granulováním semen (Loynachan, 2005). Každé semeno může nést omezený počet inokula, tedy počet bakterií. Stephens et Rask (1999) publikují, že semeno leguminózy jetele nese přibližně 10³ rhizobií. Je třeba vybrat kmeny pro různé geografické oblasti, půdy, životní prostředí či regiony. V ideálním případě pro jednotlivé odrůdy daného druhu leguminóz (Stephens et Rask, 1999). Každý výrobce očkovacích přípravků musí ověřit použitého přenašeče pro daný výrobní systém (Loynachan, 2005).

Inokulační preparáty jsou aplikovány buď na osivo, nebo přímo do půdy. Inokulace osiva před setím se používá nejčastěji (Šimon et Mikanová, 2009). Aplikace na semeno může být provedena nátěrem na osivo před zasetím (Loynachan, 2005). Aplikace inokulačního preparátu přímo do půdy je doporučována v případech, kdy je osivo mořeno chemikáliemi toxickými pro rhizobia. (Šimon et Mikanová, 2009). Očkovací látka by se neměla aplikovat na osivo, které je ošetřeno fungicidy či insekticidy, neboť by tyto látky mohly být škodlivé pro přežití rhizobií. (Stephens et Rask, 1999). Aplikace do půdy, přímo do řádku pod semeno, se provádí ve formě rašeliny či jílu nebo tekutou formou. Očkovací preparát musí přijít do kontaktu se semenem nebo kořenovým systémem. Aplikace očkovadla přímo do půdy dává vyšší počet rhizobií, ale je dražší než aplikace očkovadla na semeni (Loynachan, 2005).

Použitý způsob aplikace je velmi důležitý z toho důvodu, aby se bakterie použité v preparátu dostaly do co nejbližšího kontaktu s klíčícím osivem. Jedině tak může probíhat správná funkce bakterií (Šimon et Mikanová, 2012).

Kmeny bakterií pro danou oblast trhu musí být efektivní v tečném rozsahu geografických oblastí a podmínek prostředí. Tato přizpůsobivost je samozřejmě požadavkem. Nejúčinnější kmeny pro dané plodiny, vzhledem ke geografické oblasti, jsou často izolované kmeny z daného regionu (Stephens et Rask, 1999). Na pozemcích, kde se dlouhodobě pěstovaly píce, zůstává v půdě velké množství rhizobií, a tak by byla aplikace rhizobií neefektivní (Loynachan, 2005).

3.6.4 Výhody použití inokulačních preparátů

Používání inokulačních preparátů obsahujících prospěšné půdní bakterie se celosvětově úspěšně rozvíjí, ale ve srovnání s používáním chemických látek v zemědělství jsou stále méně využívány. Neustále jsou vyvíjeny nové formy nosičů, které zajišťují prodlouženou dobu skladování a uživatelskou a cenovou výhodnost (Šimon et Mikanová, 2012). Inokulační preparáty nalézají své uplatnění v konvenčním, ekologickém či organickém zemědělství bez používání minerálních hnojiv (Šimon et Mikanová, 2012).

Aby se docenily efekty na ovlivňování podmínek půdy a rostlin z technologicky genetických rhizobií, je velice vhodné mít kvalitní metodu pro analýzu dusíku jak v rostlině, tak v půdě. Pro analýzu dusíku je důležité analyzovat nadzemní a podzemní biomasu rostliny, abychom získali přesný přehled o celkovém množství fixovaného dusíku rostlinou. V závislosti na druhu rostliny je podíl fixovaného dusíku v kořenech rostliny rozdílný (Carlsson et Huss-Danell, 2003).

3.7 Odůvodnění cíle práce

Získávání dusíku patří mezi jeden z nejdůležitějších faktorů pro produkci rostlin a přínos vzdušného dusíku může snížit potřebu průmyslových hnojiv hlavně u následných plodin (Carlsson et Huss-Danell, 2003). Podle Delic (2010) se efektivita fixace dusíku velice různí. Je důležité najít správnou kombinaci hostitelské rostliny a rodu rhizobia, aby se zajistila efektivita fixace. Jednou z největších překážek pro předvídání dosažení reakce na očkování je dostatek znalostí o cílovém organismu a výrobních podmínkách (Stephens et Rask, 1999). Neexistuje žádný jednoduchý test, aby se dalo říci ještě před zasetím dané rostliny, že je v půdě vhodná rhizobia (Loynachan, 2005). Výrobci musí zajistit, aby pravděpodobnost úspěšného očkování byla maximální, i když konečný uživatel nemůže rozumět zásadám bakteriologie, na kterých je produkt založen. Reakce plodiny na očkování je ve většině případů výsledkem vhodného výběru linie na cílový organizmus. Proto musí být zajištěna kvalita výrobku (Stephens et Rask, 1999).

Mikroorganizmus může optimálně fungovat v laboratorních podmínkách, avšak teprve formulací na cílový organizmus se zjistí, jestli dosáhne stejných výsledků v polních podmínkách (Stephens et Rask, 1999).

Vyzkoušet kombinaci vojtěškových odrůd na dané očkovací preparáty ke zvýšení symbiotické fixace vzdušného dusíku by mělo být zájmem šlechtitelských podniků a firem, které jsou zaměřeny na výrobu inokulačních preparátů. Je třeba se zajímat, jaký vliv toto zkoušení (očkovací preparát a daná odrůda) má na výnos, kvalitu píce a na fixaci dusíku a vyzkoušet vhodnost vojtěškové odrůdy k danému preparátu. Takto sledovaný pokus nebyl ještě zaznamenán.

4. Materiál a metody

4.1 Cíl práce

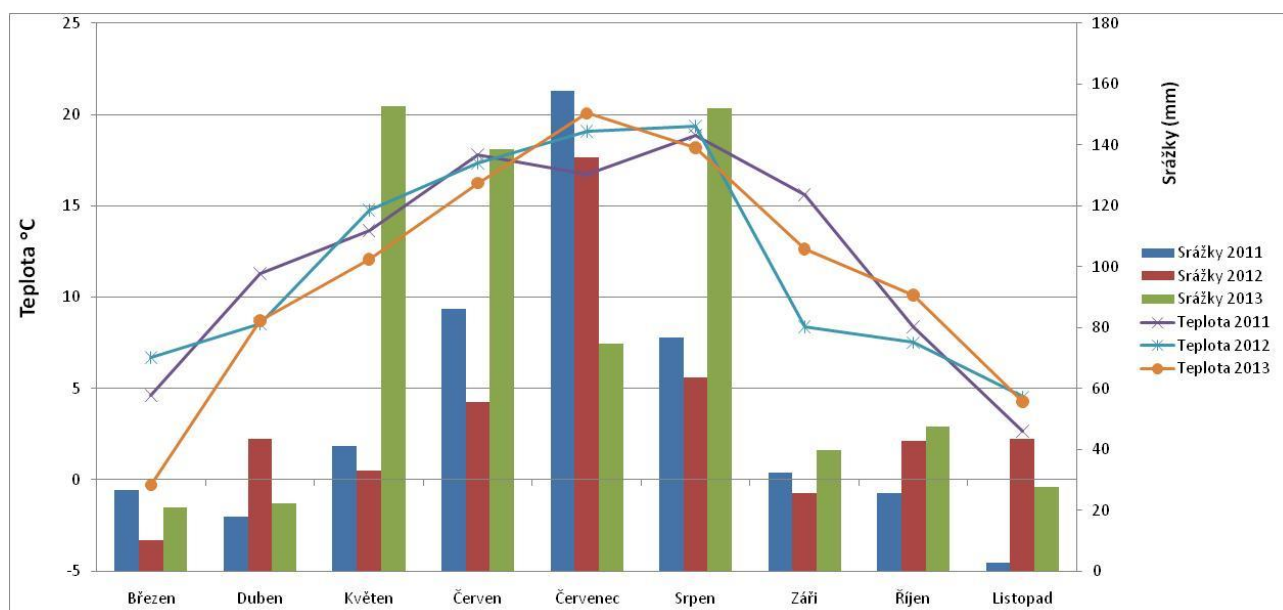
Cílem práce bylo stanovit vliv použití očkovacích preparátů na výnos vojtěšky seté v závislosti na zvolené odrůdě.

4.2 Charakteristika stanoviště

Polní parcelový pokus byl založen na pokusných pozemcích ve výzkumné stanici v Červeném Újezdě, patřící České zemědělské univerzitě v Praze. Stanice v Červeném Újezdě se nalézá ve Středočeském kraji v řepařské zemědělské výrobní oblasti.

Polní pokus se nachází v mírně teplé oblasti s převážně mírnou zimou v nadmořské výšce 405 m. n. m. na hnědozemní půdě. Průměrná roční teplota vzduchu činí 7,7 °C a průměrný úhrn srážek v 50letém normálu je 493 mm srážek. Délka vegetačního období je 150 – 160 dní a průměrná doba slunečního svitu je 1902 hodin v 50letém normálu. Průběh počasí během sledovaného období je znázorněn v grafu 1. Pokus byl realizován v letech 2011, 2012 a 2013.

Graf 1: Průměrný úhrn srážek a průměrné měsíční teploty během vegetačního období 2011, 2012 a 2013. Upraveno z VS Červený Újezd.



4.3 Charakteristika použitého pokusného materiálu

4.3.1 Odrůdy vojtěšky seté

Jarka

Odrůda Jarka je výběr z výchozího materiálu – ŽE III, ORCA, AT 7 a následné křížení. Vyznačuje se vysokým a vzpřímeným růstem, vysokou odolností proti listovým chorobám a velmi vysokou odolností proti cévnímu vadnutí. Je to raná až středně raná odrůda s vysokým a vzpřímeným vzrůstem. Svým habitem tvoří přechod mezi listnatým a stonkovým typem vojtěšky. Nástup jarního růstu a obrůstání po sečích je velmi rychlý. Výnos suché a zelené hmoty je středně vysoký ve všech užitkových letech pěstování. Není náročná na pěstební podmínky. Odrůdu Jarka vyšlechtila Šlechtitelská stanice Želešice. Odrůda je povolena od roku 1995 (www.agrogen.cz).

Oslava

Odrůda Oslava je syntetická odrůda šlechtěna na hospodářské znaky a vyšší symbiotickou fixaci vzdušného dusíku. Komponenty syntetické populace jsou klony 728 (Palava x Zuzana), 730 (Palava x Zuzana), 742 (Hodonínka), 747 (Přerovská) a 757 (Flandria). Rekombinace komponent proběhla v následujících třech generacích. Vyznačuje se jako raná až středně raná odrůda s dobrou odolností proti patogenům cévního vadnutí. Lodyha je střední až dlouhá, trs je rozkladitý až polovzpřímený. Vyšlechtila ji Šlechtitelská stanice Želešice. Odrůda je povolena od roku 2003 (www.agrogen.cz).

4.3.2 Očkovací přípravky

Nitrazon

Očkovací přípravek Nitrazon je nový typ očkovací látky pro zemědělské plodiny (pro vojtěšku, jetel, hrách jarní i ozimý, pelušku, bob, vikev a sóju). Obsahuje vybrané kmeny rhizobií, které symbioticky fixují vzdušný dusík. Výrobce uvádí, že v přípravku je 5×10^8 rhizobií na gram nosiče. Do preparátu jsou přidány bakterie *Azotobacter* sp. 1×10^4 g⁻¹ a *Bacillus megatherium* 1×10^6 g⁻¹, které samostatně fixují vzdušný dusík a uvolňují fosfor navázaný v půdě pro rostliny. Zároveň bakterie

napomáhají rozkladu rostlinných zbytků. Tyto bakterie se živí rozpustnými formami uhlíku ze zbytků rostlin. Ihned po zasetí inokulačního preparátu začnou ukládat vzdušný dusík a podporují rozvoj kořenového systému. Dochází k rozkladu rostlinných zbytků a celkové aktivaci půdy. Bakterie působí v nižší aktivitě i v následujícím roce (www.selgen.cz).

Rizobin

Rizobin je bakteriální přípravek pro inokulaci osiva luskovin a jetelovin. Je dodáván pro polní plodiny vojtěšky, jetele, sóji, lupiny, hrachu, vikve a pelušky. Obsahuje efektní kmeny bakterií Rhizobií získané a kultivované v našich podmínkách. Počet živých buněk rhizobií v preparátu Rhizobin LF je $1 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$. Tyto bakterie vynikají svou vysokou schopností fixovat dusík vysoko nad průměrné schopnosti půdních populací těchto bakterií. Rizobin zlepšuje a ovlivňuje mikrobiální činnost půdy. Je to dostupný zdroj dusíku pro konvenční a ekologické zemědělství (www.rizobin.cz).

4.4 Založení a rozvržení pokusné plochy

Polní parcelový pokus byl založen 2. května 2011 s výsevkem 7 MKS na pozemku, kde se vojtěška nepěstovala minimálně 20 let. Na stanovišti byly použity odrůdy Jarka (standartní fixace dusíku) s výsevkem 24 g na parcelu a Oslava (vyšlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci dusíku) s výsevkem 29 g na parcelu. Pokusné odrůdy byly vysety ve třech variantách a každá varianta se čtyřikrát opakovala. První varianta byla odrůda naočkovaná přípravkem Rizobin. V druhé variantě se jednalo o odrůdu naočkovanou přípravkem Nitrazon. V třetí variantě byla použita neočkovaná odrůda, která byla kontrolní. Pokus byl uspořádán ve znáhodněných blocích ve čtyřech opakováních na každou variantu (viz schéma pokusu). Velikost parcel byla 7,5 x 2,5 m. Během vegetace byl porost čtyřikrát sklizen sečně.

Tab. 2: Jednotlivé varianty pokusu

J	Jarka	O	Oslava
JR	Jarka očkována Rizobinem	OR	Oslava očkována Rizobinem
JN	Jarka očkována Nitrazonem	ON	Oslava očkována Nitrazonem

Tab. 3: Schéma sledovaného pokusu ve výzkumné stanici v Červeném Újezdě

2,5m	2,5m	2,5m	2,5m	2,5m	2,5m	15m
cesta						3m
O	J	OR	JR	ON	JN	7,2m
cesta						3m
JN	ON	J	O	JR	OR	7,2m
cesta						3m
O	J	OR	JR	ON	JN	7,2m
cesta						3m
JR	OR	JN	ON	J	O	7,2m
cesta						3m
						40,8m

4.5 Hodnocené parametry

Z individuálních parcel byly v každé seči současně odebrány reprezentativní vzorky rostlin z plochy 12,5 x 50 cm. U odebraných vzorků byl v laboratoři stanoven počet a maximální délka lodyh. Vzorky byly následně sušeny ve skříňové sušárně po dobu 48 hodin při teplotě 60 °C pro stanovení sušiny. Z hodnot výnosu čerstvé píce byl stanoven výnos v seči v t/ha a celkový roční výnos píce v t/ha.

Ve čtvrté seči byly z odběrových ploch 12,5 x 50 cm odebrány kromě vzorků píce také vzorky kořenů do hloubky 25 cm. Kořeny z každého vzorku byly v laboratoři omyty, spočítány, usušeny a zváženy v čerstvém i usušeném stavu. Vzorky se sušily v sušárně při 60 °C po dobu 24 hodin. Dále byly vzorky píce i kořenů sešrotovány přes síto o velikosti 1 mm pro následné analýzy. Sešrotované vzorky se dále analyzovaly na obsah dusíku na přístroji Dumatherm pro zjištění procentuálního obsahu dusíku v kořenech a obsahu dusíku v píci.

4.5.1 Analýza dusíku dle Dumase

Spalovací metoda dle Dumase je v analytické chemii využívána pro kvantitativní stanovení dusíku. Vzorek se spaluje v atmosféře bohaté na kyslík při vysokých teplotách (cca 900 °C). Tím dochází k uvolnění oxidu uhličitýho, vody a oxidu dusíku. Vzniklé plyny jsou poháněny přes speciální sorpční kolony, které pohlcují oxid uhličitý a vodu. Plyny oxidů dusíku jsou katalyticky redukovány na N₂, který je následně detekován tepelně-vodivostním detektorem. Ze vzniklých vzorků píce a kořenů se zhotovily navážky dle jednotlivých variant do hliníkových kapslí pro analýzu dusíku na přístroji Dumatherm (www.Alsglobal.eu).

4.6 Statistické hodnocení

Výsledky celkových ročních výnosů byly zpracovány třífaktorovou analýzou rozptylu s interakcí (rok, odrůda, varianta). Výnosy v jednotlivých sečích a parametry struktury porostu byly hodnoceny třífaktorovou analýzou v rámci každého roku (seč, odrůda, varianta). Obsah dusíku v píci a kořenech byl zjišťován třífaktorovou analýzou rozptylu (rok, odrůda, varianta). Všechny analýzy byly provedeny v programu Statistika 9.0. .

5. Výsledky

Základní statistické vyhodnocení parametrů struktury, výnosů a obsahu dusíku v píci vojtěšky sledovaného porostu za roky 2012 a 2013 jsou uvedeny níže.

5.1 První užitkový rok 2012

Vliv pořadí seče v prvním užitkovém roce na parametry struktury porostu lze pozorovat v tabulce č. 4. Seč byla faktor, který významně ovlivňoval všechny hodnocené parametry. Statisticky významný rozdíl je mezi výnosy v seči v prvním užitkovém roce, kdy byly provedeny čtyři seče během vegetace. Maximální délka lodyh byla průkazně nejvyšší při první seči, v následných sečích se statisticky průkazně snižovala. Hustota lodyh během vegetace v daných sečích kolísala. Statisticky průkazně nejnižší hustota byla dosažena ve 2. seči. V obsahu dusíku v píci je statisticky průkazně viditelný rozdíl mezi první a druhou sečí.

Tab. 4: Vliv pořadí seče, odrůdy a varianty na výnos v seči, parametry struktury porostu a obsahu dusíku (N) v píci (Červený Újezd, 2012)

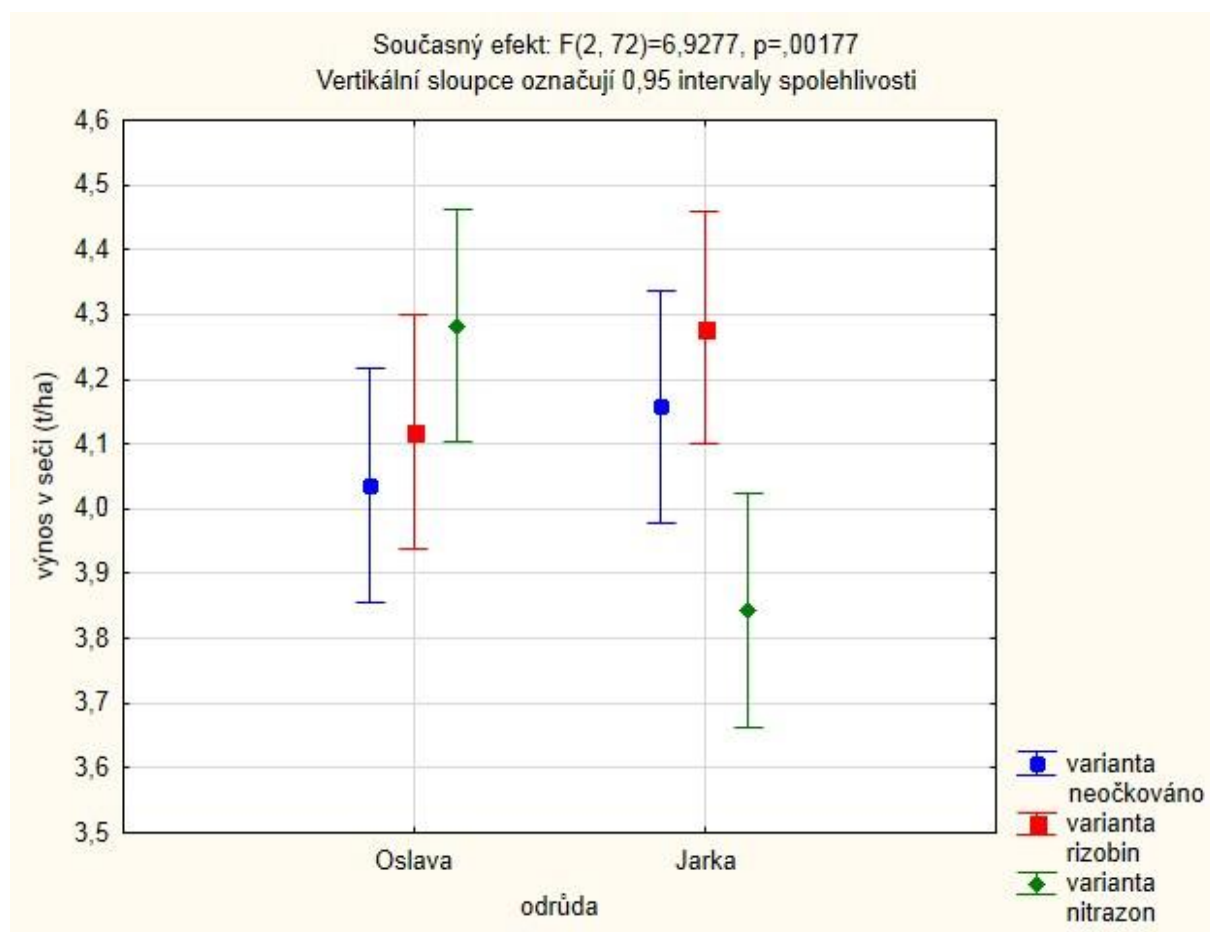
2012		Výnos v seči (t/ha)	Max. délka lodyh (cm)	Hustota lodyh (ks/m ²)	N (%) v píci	N (kg/ha) píci
Seč	1	6,74 ^A	98 ^A	797 ^A	2,49 ^A	168 ^A
	2	4,55 ^B	82 ^B	617 ^B	2,90 ^B	132 ^B
	3	3,35 ^C	75 ^C	718 ^A	-	-
	4	1,84 ^D	37 ^D	797 ^A	-	-
	<i>P</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Odrůda	Jarka	4,09	74	703	2,68	150
	Oslava	4,15	72	749	2,70	150
	<i>P</i>	0,478	0,184	0,053	0,759	0,925
Varianta	kontrola	4,10	73	756	2,66	147
	Rizobin	4,20	73	702	2,63	149
	Nitrazon	4,06	72	719	2,78	153
	<i>P</i>	0,299	0,719	0,166	0,197	0,610

Vliv hodnocených odrůd vojtěšky seté na parametry struktury porostu lze pozorovat v tabulce č. 4. Hodnocené odrůdy Jarka a Oslava neměly statisticky významný vliv na výnos v seči. Odrůdy nevykazovaly významné rozdíly v maximální délce lodyh, pouze u hustoty lodyh byl pozorován trend vyššího počtu lodyh u odrůdy Oslava. Mezi sledovanými odrůdami (Oslava a Jarka) a mezi hodnocenými variantami není zjištěn statisticky průkazný rozdíl v procentuálním obsahu dusíku v píce a v kilogramech dusíku na hektar v píci.

Vliv sledovaných variant vojtěšky seté na parametry struktury porostu lze pozorovat v tabulce č. 4. Mezi sledovanými variantami (kontrola, Rizobin, Nitrazon) vojtěšky seté nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve všech hodnocených parametrech.

Byly vyhodnoceny také vzájemné interakce jednotlivých faktorů, kde se jako průkazná projevila interakce mezi odrůdami vojtěšky a použitými očkovacími preparáty na průměrný výnos sušiny v seči v prvním užitkovém roce, která je znázorněna v grafu č. 2.

Graf 2: Vliv interakce mezi odrůdou vojtěšky a použitým očkovacím preparátem na průměrný výnos sušiny v seči v prvním uživatelském roce (Červený Újezd, 2012)



U odrůdy Oslava šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci je zřejmá pozitivní reakce na oba použité očkovací přípravky, přičemž nejvyšší výnos byl zaznamenán u přípravku Nitrazon. Odrůda Jarka se standardní symbiotickou fixací neprokázala konzistentní reakci na použití očkovacích přípravků. Varianta očkovaná přípravkem Rizobin dosahuje stejné úrovně výnosu v seči jako varianta neočkovaná. Varianta očkovaná přípravkem Nitrazon dosahuje nižších výnosů než předchozí dvě varianty.

5.2 Druhý užitkový rok 2013

Výsledky za druhý užitkový rok byly zpracovány analogicky k roku 2012 a uvedeny v tabulce 5. Z důvodu vynechání rozborů píce na obsah N zde již nejsou uváděny obsahy N a vypočtená produkce N v kg/ha.

Tab. 5. Vliv pořadí seče, odrůdy a varianty na výnos v seči a parametry struktury porostu (Červený Újezd, 2013)

2013		Výnos v seči (t/ha)	Max. délka lodyh (cm)	Hustota lodyh (ks/m ²)
Seč	1	5,55 ^A	80,66 ^A	771 ^A
	2	5,00 ^B	96,37 ^B	716 ^A
	3	4,88 ^B	88,66 ^{AB}	711 ^A
	4	1,51 ^C	27,58 ^C	838 ^A
	<i>P</i>	<0,001	<0,001	0,040
Odrůda	Jarka	4,25	74,81	753
	Oslava	4,22	71,83	765
	<i>P</i>	0,777	0,234	0,724
Varianta	kontrola	4,23	73,59	764
	Rizobin	4,37	74,18	780
	Nitrazon	4,13	72,18	733
	<i>P</i>	0,160	0,796	0,537

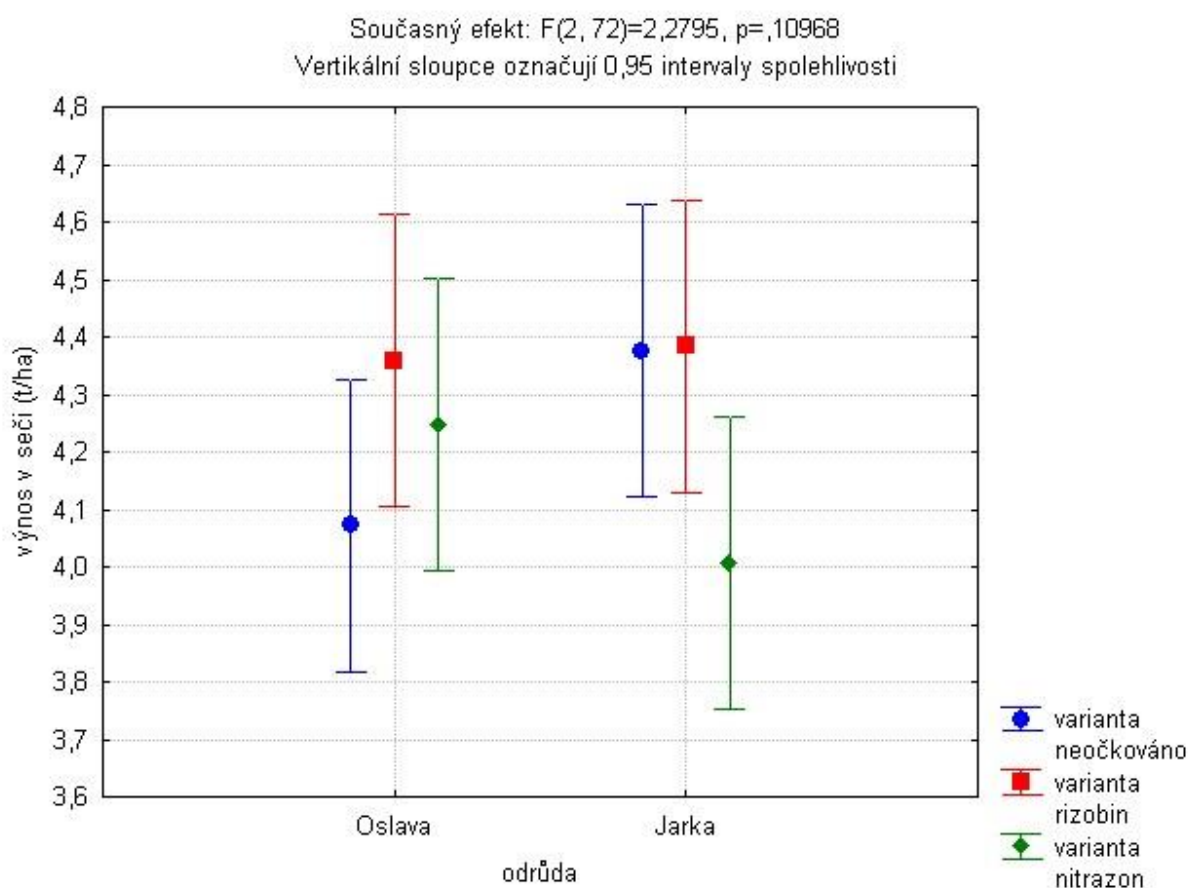
Ve druhém užitkovém roce se projevil statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými sečemi. V první seči byl výnos statisticky průkazně vyšší, avšak během vegetačního období se staticky významně snižoval. Maximální délka lodyh se statisticky průkazně zvyšovala do 2. seče, následně v dalších sečích došlo k jejímu snížení. Hustota lodyh na m² se během jednotlivých sečí výrazně neměnila.

Mezi hodnocenými odrůdami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve výnosu v seči, v maximální délce lodyh ani v hustotě lodyh na m².

U sledovaných variant nebyl statisticky významný rozdíl ve výnosu v seči. Maximální délka lodyh mezi variantami nebyla statisticky průkazná. Rozdíl v hustotě lodyh mezi jednotlivými variantami nebyl významný.

Při hodnocení interakcí mezi jednotlivými faktory nebyl zaznamenán žádný průkazný efekt. Pro porovnatelnost s předchozím rokem je zde uvedena interakce mezi použitými odrůdami a jednotlivými variantami očkování na výnos píce v druhém užitkovém roce (graf č. 3).

Graf 3: Vliv interakce mezi odrůdou vojtěšky a použitým očkovacím preparátem na průměrný výnos sušiny v seči v druhém užitkovém roce 2013 (Červený Újezd, 2013)



Výsledky z grafu č. 3 v druhém užitkovém roce jsou statisticky neprůkazné ($P = 0,110$), ale ve shodě s předchozím rokem odrůda Oslava vykázala pozitivní výnosový efekt na použité inokulační preparáty, zatímco u odrůdy Jarka byly nejvyšší průměrné výnosy u neočkované varianty a při použití Rizobinu. V druhém užitkovém roce vykázal přípravek Rizobin obecně lepší efekt u obou odrůd.

Tab. 6: Vliv ročníku, odrůdy a varianty na sledované parametry (celkový roční výnos (t/ha) v sušině, procentuální obsah dusíku – N v kořenech a obsah dusíku – N v kořenech v g/m². (Červený Újezd, 2012/2013)

2013		Celkový roční výnos píce (t/ha)	N kořeny (%)	N kořeny (g/m ²)
Rok	2012	16,478	2,066 ^B	9,324 ^B
	2013	16,962	1,819 ^A	6,707 ^A
	<i>P</i>	0,257	<0,001	<0,001
Odrůda	Jarka	16,697	1,935	7,559
	Oslava	16,743	1,949	8,472
	<i>P</i>	0,913	0,641	0,136
Varianta	kontrola	16,643	1,936	8,226
	Rizobin	17,139	1,923	8,091
	Nitrazon	16,377	1,969	7,729
	<i>P</i>	0,333	0,445	0,783

Mezi sledovanými lety 2012 a 2013 není statisticky významný rozdíl v celkovém ročním výnosu. V procentuálním obsahu dusíku v kořenech je zaznamenán statisticky průkazný rozdíl mezi rokem 2012 a 2013. Vyšší obsah dusíku byl průkazný v prvním vegetačním období v roce 2012. V obsahu dusíku v kořenech v g/m² byl také zaznamenán rozdíl mezi sledovanými lety 2012 a 2013. V roce 2012 byl statisticky průkazně vyšší obsah dusíku v kořenech než v následujícím roce.

Vliv odrůdy na celkový roční výnos píce nebyl statisticky významný. Významný rozdíl v procentuálním obsahu dusíku v kořenech nebyl mezi sledovanými odrůdami zaznamenán. V obsahu dusíku v kořenech v g/m² mezi odrůdou Oslavou a Jarkou není statisticky významný rozdíl. U odrůdy Oslava můžeme vidět vyšší nárůst dusíku v kořenech v g/m² oproti odrůdě Jarka.

Sledované varianty očkování osiva neměly významný vliv na celkový roční výnos píce. V procentuálním obsahu dusíku v kořenech mezi jednotlivými variantami nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl. Jednotlivé varianty neprokázaly mezi sebou významnou odlišnost v obsahu dusíku v kořenech v g/m².

Celkový roční výnos píce nebyl statisticky průkazně ovlivněn rokem, odrůdou ani variantou očkování osiva. Obsah dusíku v kořenech i celková akumulace N v kořenech v g/m² byly významně ovlivněny pouze ročníkem, kde vyšší hodnoty byly zaznamenány v roce 2012.

6. Diskuze

Vztah mezi očkovacím preparátem a jednotlivými odrůdami vojtěšky seté a vliv na výnos a kvalitu píce v užitkových letech hodnotilo prozatím málo autorů. Cílem této práce bylo zjistit významné interakce mezi sledovanými odrůdami a použitými očkovacími preparáty na výnos v seči ve dvou užitkových letech 2012 a 2013.

6.1 Struktura porostu a výnosy v prvním užitkovém roce

V prvním užitkovém roce se sledovaly u hodnocených odrůd Jarka a Oslava vybrané parametry uvedené v kapitole výsledky, tabulka č. 4.

Vliv pořadí seče významně ovlivňoval hodnocené parametry struktury porostu. Během vegetačního období byly provedeny čtyři seče. Mezi jednotlivými sečemi je viditelný statisticky průkazný rozdíl mezi výnosy v seči. Hakl et al. (2011) uvádí, že s rostoucím pořadím seče během vegetace se výnos postupně snižuje. To se potvrdilo i v této práci, kdy nejvyšší výnos byl zaznamenán v první seči a poté dochází k postupnému poklesu. Na dynamiku růstu nadzemní biomasy mají také vliv ekologické faktory jako je půda, vláh a teplota (Klesnil et al., 1965).

Maximální délka lodyh byla průkazně průkazně nejvyšší v první seči při délce 98 cm, v následných sečích se snižovala, přičemž ve čtvrté seči dosahovala 37cm. Podobný trend zaznamenal i Hakl et al. (2010), kdy se zvyšujícím stářím porostu se snižovala délka lodyh. Délka lodyh je především ovlivněna vegetační fází vojtěšky v době sklizně (Klesnil et al., 1973).

Hustota lodyh během vegetace v daných sečích kolísala. Statisticky průkazně nejnižší hustoty lodyh bylo dosaženo ve 2. seči o hustotě 617 ks/m². Hakl et al. (2011) uvádí, že hustotu lodyh ovlivňuje stáří a stupeň vývinu porostu. Můžeme se domnívat, že to rovněž souvisí i s vláhovým a teplotním poměrem v dané oblasti.

Hodnocený porost vojtěšky dosahoval standardní hustoty lodyh, délky lodyh i výnosů píce v porovnání s běžnými porosty vojtěšky seté. Klesnil et al. (1973) popisuje porost vojtěšky seté tak, kdy v zapojeném porostu lodyhy dosahují délky 60 - 150 cm, 5 - 20 lodyh a 4 – 8 větví, vytváří podle hustoty porostu a odrůdy, ale záleží i na vegetační fázi sledovaného porostu.

Statisticky průkazně viditelný je obsah dusíku v píci mezi první a druhou sečí. Obsah dusíku úzce souvisí s výnosem píce. Zatímco výnos píce byl při první seči

vyšší, obsah dusíku byl nižší. Zde může být i souvislost s aktivitou fixace vzdušného dusíku pomocí hlízkových bakterií na začátku vegetace. Se zvyšující teplotou dochází ke stresu na rostlinu a aktivita hlízkových bakterií se snižuje (Lindemann et al., 2003).

Pro rok založení 2011 Mašková et al. (2013) uvádí výsledky analýzy na koncentraci prvků (N, P, K a Ca) v nadzemní biomase hodnoceného porostu vojtěšky seté. Protože zde nebyly v obsahu všech prvků zaznamenány významné rozdíly mezi hodnocenými odrůdami a ani variantami, v následujícím roce 2012 již nebyly tyto rozborů uskutečněny a byla analyzována pouze koncentrace dusíku v první a druhé seči.

Hodnocené odrůdy Jarka a Oslava neměly statisticky významný vliv na parametry struktury porostu (výnos v seči, maximální délka lodyh, hustota lodyh). U odrůdy Oslava byl pozorován trend vyššího počtu lodyh. To může být ovlivněno šlechtěním odrůdy Oslava na hospodářské znaky. U sledovaných odrůd (Jarka a Oslava) a mezi hodnocenými variantami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v procentuálním obsahu dusíku v píce a v kilogramech dusíku na hektar v píce. Hrubá (2003) z poloprovozních pokusů uvádí, že pokud volíme optimální stanoviště, pak je rozdíl mezi výnosem jednotlivých odrůd malý a statisticky neprůkazný. Úrodné podmínky stanoviště podrobně popisuje Mašková et al. (2013) v prvním roce založení porostu. Mezi sledovanými variantami (kontrola, Rizobin, Nitrazon) vojtěšky seté nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve všech hodnocených parametrech. Byl zjištěn vliv interakce mezi odrůdami vojtěšky a použitými očkovacími preparáty na průměrný výnos sušiny v seči. Toho si lze všimnout v grafu č. 2. Odrůda Oslava prokázala pozitivní reakce na očkovací preparáty Nitrazon a Rizobin. Průkazně vyšší průměrný výnos v seči byl zaznamenán při použití přípravku Nitrazon. U nádobového pokusu, který probíhal v roce 2010 ve skleníku ČZU Praha, byl sledován pozitivní účinek u odrůdy Oslava za použití přípravku Nitrazon (Mašková et al., 2010). U odrůdy Jarka se standardní symbiotickou fixací vzdušného dusíku se neprokázala zvýšená reakce na použití očkovacích přípravků. Přípravek Nitrazon měl spíše determinující efekt na dosažení výnosů než neočkováná varianta Jarky. Vzhledem k viditelnějšímu vlivu očkovacího preparátu u odrůd, které jsou šlechtěny na vyšší symbiotickou fixaci, lze zvažovat použití očkovacích preparátů právě u nich. Stephens et Rask (1999) uvádí, že je důležité pro předvídání dosažení reakce na očkování mít dostatek znalostí o cílovém organismu a daných výrobních podmínkách (Stephens et Rask., 1999).

6.2 Struktura porostu a výnosy v druhém užitkovém roce

V druhém užitkovém roce se sledovaly u hodnocených odrůd Jarka a Oslava vybrané parametry uvedené v kapitole výsledky, tabulka č. 5.

Byl zaznamenán statisticky významný rozdíl ve výnosech v seči mezi jednotlivými sečemi. Jednotlivé seče, které se podílejí na celkovém výnosu, jsou v souladu s výsledky, které uvádějí Lissbrant et al. (2009).

Maximální délka lodyh se statisticky průkazně zvyšovala do 2. seče, následně v dalších sečích došlo k jejímu snížení. Klesnil et al. (1973) uvádí, že délku lodyh ovlivňuje vegetační fáze vojtěšky v době sklizně.

Hustota lodyh na m^2 se během jednotlivých sečí významně neměnila. Podobné výsledky můžeme pozorovat v prvním užitkovém roce. Rozdílnost v hustotě lodyh je pravděpodobně také způsobena proměnlivými vegetačními faktory v prostředí. Hakl et al. (2010) uvádí, že se zvyšujícím se stářím porostu neboli stupněm vývinu rostlin v porostu se mění hustota porostu a délka lodyh.

Mezi hodnocenými odrůdami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve výnosu v seči, v maximální délce lodyh ani v hustotě lodyh na m^2 . K těmto výsledkům jsme také dospěli v prvním užitkovém roce. Jak již Hrubá (2003) uvedla, při pěstování vojtěšky na stanovišti s optimálními podmínkami je rozdíl mezi výnosem u jednotlivých odrůd statisticky neprůkazný. Podle výsledků můžeme usuzovat, že pokusné stanoviště Červený újezd má optimální půdní podmínky.

U sledovaných variant nebyl statisticky významný rozdíl ve výnosu v seči. Též maximální délka a rozdíl v hustotě lodyh mezi jednotlivými variantami nebyly statisticky průkazné. S těmito výsledky se shodují výsledky z prvního užitkového roku. Mašková et al. (2011) uvádí, kdy v roce založení sledovaného porostu nebyl prokázán pozitivní vliv inokulace.

Ve druhém užitkovém roce nebyla zaznamenána statisticky významná interakce ($P = 0,110$) mezi jednotlivými faktory, které jsou znázorněny v grafu č. 3. Tato interakce byla v prvním užitkovém roce statisticky významná u odrůdy Oslava za použití přípravku Nitrazon, kdy byl sledován průkazně vyšší průměrný výnos v seči. I ve druhém užitkovém roce odrůda Oslava prokázala malý pozitivní výnosový efekt na použité inokulační preparáty, a to především za použití přípravku Nitrazon. Odrůda Jarka měla nejvyšší průměrné výnosy u neočkované varianty a při použití Rizobinu.

Z výsledků z roku založení, které uvádí Mašková et al. (2011) vyplývá pozitivní interakce mezi očkovacím preparátem a odrudou vojtěšky. Barrana et Bromfielda (1997) se domnívají dle svého výzkumu, že fixaci vzdušného dusíku lze ovlivnit i vhodným výběrem odrůdy vojtěšky k danému očkovacímu preparátu/kmeni hlízkových bakterií.

6.3 Celkové roční výnosy a obsah dusíku v kořenech

Mezi rokem 2012 a 2013 byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl v procentuálním obsahu dusíku v kořenech. Vyšší procentuální obsah dusíku a obsah dusíku v kořenech v g/m^2 byl statisticky průkaznější v prvním vegetačním období v roce 2012 než v následujícím roce.

Ve sledovaných parametrech nebyl zaznamenán průkazný rozdíl mezi hodnocenými odrůdami v procentuálním obsahu dusíku v kořenech. Mezi odrůdami Jarka a Oslava nebyl statisticky významný obsah dusíku v kořenech v g/m^2 . U odrůdy Oslava můžeme sledovat trend vyššího nárůstu dusíku v kořenech g/m^2 oproti odrůdě Jarka. Odrůdy, které jsou šlechtěny na vyšší symbiotickou fixaci, prokazují vyšší obsah dusíku v kořenech (Chloupek et al., 1992).

Hodnocené očkované varianty osiva neměly významný vliv na celkový roční výnos píce v procentuálním obsahu dusíku v kořenech a v obsahu dusíku v kořenech v g/m^2 . Očkované varianty neprokázaly mezi sebou významnou odlišnost, a to ani oproti neočkované kontrole.

Celkový roční výnos píce nebyl statisticky průkazně ovlivněn rokem, odrůdou ani variantou očkování osiva. Hrubá (2003) uvádí, že když je vojtěška pěstována na optimálním stanovišti se středně těžkou půdou s hlubokým propustným podložím, rozdíl ve výnosu u jednotlivých odrůd je statisticky neprůkazný.

V roce založení sledovaného pokusu (2011) byl vliv očkování u většiny hodnocených parametrů neprůkazný. U odrůdy Oslava byly statisticky významné výsledky u koncentrace dusíku v kořenech (Mašková et al., 2011).

Lze tedy usuzovat, že v důsledku optimálních stanovištních podmínek nebyla statisticky neprůkazně ovlivněna rozdílnost mezi odrůdami i variantami.

6.4 Efektivnost použití očkovacích preparátů

V roce založení (Mašková et al., 2011) ani v obou užitkových letech nebyl zaznamenán významný přínos použití očkovacích preparátů na výnos a kvalitu píce u vojtěšky seté. Úrodné půdní podmínky byly zřejmě příčinou nevýznamného efektu očkovacích preparátů.

Hakl et al. (2012) se domnívají, že příčinou je zejména vyšší obsah přijatelných živin pro rostliny v půdě. S rostoucí koncentrací dusíku v půdě klesá aktivita nitrogenázy (Oliveira et al., 2004) tzn., v půdách s vysokým obsahem dusíku vojtěška netvoří hlízky, dokud se obsah dusíku v půdě nesníží (Anchao, 1995) (Oliverira et al., 2004). Munns (1970), rovněž zjistil, důvodem inhibice fixace vzdušného dusíku je vysoký obsah přítomného dusíku v půdě nebo aplikace minerálních dusíkatých hnojiv. To potvrzují i Tsai et al. (1993), kteří také zaznamenali sníženou aktivitu biologické fixace vzdušného dusíku kvůli přítomnosti dusíkatých hnojiv. Správně provedené očkování osiva i vysoká kvalita očkovacího preparátu nemusí tedy vždy prokazatelně vést ke zvýšení fixace a tím ke zvýšení výnosu. Lupwayia et al. (1999) Loynachan (2005) uvádí, že neexistuje žádný jednoduchý test pro zjištění výskytu vhodného rhizobia v půdě ještě před zasetím dané plodiny. Očkování osiva je pravděpodobně efektivnější na půdách s nižším obsahem přijatelných živin, avšak musí být splněny podmínky pro úspěšnou fixaci. Klesnil et al. (1973) uvádí, že vojtěška je citlivá na poměr vody a vzduchu v půdě na její fyzikální, chemické a mechanické vlastnosti půdy. Kdy tedy stanovištní podmínky zejména fyzikální vlastnosti půdy (teplota, půdní vlhkost, zásobenost živinami a pH půdy) ovlivňují vznik a vývoj hlízek na kořenech vojtěšky (Šimon et Mikanová, 2009). Můžeme také podpořit rozvoj a aktivitu půdních bakterií nepřímým způsobem hospodaření. Šimon et Mikanová (2012) doporučují pestrý osevní postup se zařazením leguminóz, používání organických hnojiv, půdoochranné způsoby zpracování půdy, včetně zapravení posklizňových zbytků a využití meziplodin jako mulče.

Významná interakce mezi odrůdou a očkovacím preparátem v roce 2012 podporuje domněnku, že odrůdy mohou mít různou reakci na očkovací preparáty. Během pokusu se projevila pozitivní reakce za použití očkovacích preparátů s odrůdou vojtěšky, která je šlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci. Zároveň Stephens et Rask (1999) upozorňují, že výrobci očkovacích preparátů by měli zajistit maximální možnost úspěšného očkování. Je to výsledek vhodného výběru linie

bakterií na cílový organismus Stephens et Rask (1999). Podle Delic (2010) se efektivita fixace dusíku velice různí a je důležité najít správnou kombinaci rhizobia a hostitelské rostliny, aby se zajistila efektní fixace vzdušného dusíku. V dnešní době, kdy je na českém trhu velký výběr z odrůd vojtěšky seté, je vhodné vypořádat významný vliv očkovacích preparátů k daným odrůdám. Proto by mělo být v širším zájmu v tomto výzkumu pokračovat a sledovat, jak se projevuje vliv očkovacího preparátu na sledovaných odrůdách vojtěšky seté v různých lokalitách.

7. Závěr

V této diplomové práci jsem se zabývala vlivem nových očkovacích preparátů na výnos a kvalitu píce u českých odrůd vojtěšky seté v daných podmínkách. Předpokladem bylo zjištění vlivu použitých očkovacích preparátů na sledované odrůdy vojtěšky. Z výsledků vyplývá:

- Oba očkovací preparáty v daných experimentálních podmínkách neměly pozitivní vliv na výnos ani na kvalitu píce v obou užitkových letech s porovnáním se sledovanou kontrolou.
- Z výsledků lze tedy předpokládat, že na pozemcích s vysokým obsahem přijatelných živin nemá očkování osiva vojtěšky efektivní účinek.
- Ukazuje se, že i na úrodných půdách existuje významná vazba mezi použitou odrůdou a očkovacím preparátem. Odrůda Oslava, která je šlechtěna na vyšší symbiotickou fixaci, poskytla v prvním užitkovém roce vyšší průměrný výnos v seči u obou očkovacích preparátů, a to zejména u preparátu Nitrazon.
- Pro efektivní použití očkovacích preparátů při zakládání porostů vojtěšky je třeba zohlednit různé stanovištní podmínky a preferovat spíše odrůdy šlechtěné na vyšší symbiotickou fixaci dusíku.
- Bylo by zajímavé v tomto výzkumu nadále pokračovat a na jeho základě pak doporučovat očkovací preparát ke konkrétní použité odrůdě.

8. Seznam použité literatury

- Barran, L. R., Bromfield, E. P.S. 1997. Lucerne – Nitrogen fixation and transfer. In Frame, J., Charlton, J. F. L., Laidlaw, A. S. 1998. Temperate Forage Legumes. CAB International. Oxon. p. 327.
- Brewin, N. J. 1991. Development of the legume root nodule. Ann. Rev. Cell Biol. 7. 191–226.
- Carlson, G., Huss-Danell, K. 2003. Nitrogen fixation in perennial forage legumes in the field. Plant Soil. 253. 353–372.
- Cassab, G. I. 1998. Plant cell wall proteins. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 49. p. 281–309.
- Castillo, M., Flores, M., Mavingul, P., Martínez-Romero, E., Palacios, R., Hernández, G. 1999. Increase in Alfalfa Nodulation, Nitrogen Fixation, and Plant Growth by Specific DNA Amplification in *Sinorhizobium meliloti*. Applied and Environmental Microbiology. 2716–2722.
- Catoira, R., Galera, C., de Billy, F., Penmetsa, R. V., Journet, E. P., Maillet, F., Rosenberg, C., Cook, D., Gough, C., Denarie, J. 2000. Four genes of *Medicago truncatula* controlling components of a nod factor transduction pathway. Plant. Cell. 12. p. 1647–1666.
- Catoira, R., Timmers A. C. J., Maillet, F., Galera, C., Penmetsa, R. V., Cook, D., Denarie, J., Gough, C. 2001. The HCL gene of *Medicago truncatula* controls *Rhizobium*-induced root hair curling. Development 128. p. 1507-1518.
- de Oliveira, W. S., Oliveira, P. P A., Corsi, M., Duarte, F., R., S., Tsai, S., M. 2004. Alfalfa yield and quality as function of nitrogen fertilization and symbiosis with *Sinorhizobium meliloti*. Sci. Agric. 61 (4). 433–438.
- Delic, D., Stajkovic, O., Radovic, J., Stanojkovic, A., Kuzmanovic, D., Rasulic, N., Milićic, B. 2010. Genotypic differences in symbiotic N₂ fixation of some alfalfa (*Medicago sativa* L.) genotypes. In: Huyghe Ch (ed.): Sustainable use of genetic

diversity in forage and turf breeding. 1st Ed. Springer Netherlands. 79–84. Doi: 10.1007/978-90-481-8706-5_9.

Diouf, D., Diop, T. A., Ndoye, I. 2002. Actinorhizal, mycorrhizal and rhizobial symbioses: how much do we know?. African Journal of Biotechnology Vol. 2 (1). 1–7.

Gade, D. J. 2004. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 68. 280–300.

Hakl J., Šantrůček J., Babinec J. 2002. Novošlechtění hybridních vojtěšek. Farmář. 8. 21–22.

Hakl, J., Kalista, J., Šantrůček, J. 2005. Vojtěška srpkovitá – zdroj přizpůsobivosti našich odrůd. Úroda. 53. (4). 14 –15. ISSN 0139-6013

Hakl, J., Martínek, J., Šantrůček, J., Krajíc, L., Hlavičková, D. 2009a. Změny u osiv českých novošlechtění vojtěšek v průběhu pěti let skladování. In: Osivo a sadba. IX. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. s. 72-75. ISBN: 9788021318915.

Hakl, J., Mášková, K., Šantrůček, J. 2010. Vliv stáří porostu vojtěšky na dynamiku růstu v první seči. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2010. Česká zemědělská univerzita v Praze. s. 30–35.

Hakl, J., Mášková, K., Šantrůček, J. 2012. Vliv očkování osiva vojtěšky seté na výnosy píce v prvním užitkovém roce. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2012. Česká zemědělská univerzita v Praze. s. 17–21.

Hakl, J., Mášková, K., Šantrůček, J., Buřková, N. 2011. Dynamika růstu vojtěšky v první a druhé seči v závislosti na stáří porostu. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2011. Česká zemědělská univerzita v Praze. s. 18–23.

Hakl, J., Šantrůček, J., Fuksa, P., Krajíc, L. 2009b. Podíl listů v píci vojtěšky seté v závislosti na pořadí seče, fázi růstu a struktuře porostu. Výzkum v chovu skotu. 51. (2). 19–23.

- Hakl, J., Šantrůček, J., Fuksa, P., Krajíc, L. 2009c. Podíl listů v pícei vojtěšky seté závislosti na pořadí seče, fázi růstu a struktuře porostu. Výzkum v chovu skotu. LI. (2). 19–23.
- Hakl, J., Šantrůček, J., Kalista, J., 2006. Vliv podílu listů a lodyh v pícei vojtěšky seté na obsah dusíkatých látek. Úroda. 53. Tématická příloha víceleté pícniny. 4-5.
- Heidstra, R., Geurts, R., Franssen, H., Spaink, H. P., Van Kammen, A., Bisseling, T. 1994. Root hair deformation activity of nodulation factors and their fate on *Vicia sativa*. Plant. Physiol. 105. 787–797
- Hrabě, F., Cagaš, B., Cítarová, E., Červinka, J., Čunderlíková, Z., Dvořáček, J., Gorecký, J., Hejduk, S., Houdek, I., Kalač, P., Klimeš, F., Kobes, M., Kohoutek, A., Pozdíšek, J., Přikryl, J., Rotrekl, J., Skládanka, J., Smrž, J., Stach, J., Svobodová, M., Šůr, D., Tišliar, E., Volíček, Z. 2004. Trávy a jetelovino trávy v zemědělské praxi. Olomouc. Petr Baštan. 121 s.
- Hrubá, M. 2003. Aby byla vojtěška výnosná a vytrvalá. Úroda. 11. 7-9.
- Chloupek, O. 2008. Genetická diverzita. Šlechtění a semenářství. Academia. Praha. 312 s. ISBN 978-80-200-1566-2
- Chloupek, O., Babinec, J., Malá, M. 1992. Breeding of lucerne for higher symbiotic nitrogen fixation and testing in hydroponics with limited mineral nitrogen. Bodenkultur 43. s. 109-113.
- Klesnil, A., Velich, J. 1965. Botanická charakteristika a základní biologické vlastnosti vojtěšky. In. Klesnil, A., Velich, J. : Vojtěška, Praha, s. 14-35, ISBN 07-093-65
- Klesnil, A., Benda, J., Halva, E., Petřík, M., Štrafeka, J., Turek, F., Velebil, M., Velich, J. 1978. Intenzivní výroba píce. 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 392 s.
- Klesnil, A., Regal, V., Prajzler. 1973. Pícninářství - I. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 172 s.
- Klesnil, A., Regal, V., Štráfekda, J., Turek, F., Velich, J. 1982. Pícninářství I. Vysoká škola zemědělská. Praha. 319 s.

- Kopřiva, J., Kmoníček, V., Černohous, M., Klesnil, A. 1979. Agrotechnika pěstování vojtěšky na píci. Podnik racionalizace řízení a výpočetní techniky MZVŽ ČSR. Nové Město nad Cidlinou. 28 s.
- Kudrna, K. 1979. Zemědělské soustavy. 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 720 s.
- Kuchtík, F., Teskl, M., Valeš, J. 2002. Speciální pěstování rostlin konvenční systémy + ekologické principy. CREDIT. Praha. 295 s. ISBN: 80-86392-00-7
- Lindemann, W. C., Glover, C. R. Nitrogen Fixation by Legumes. [online]. College of Agriculture. New Mexico State University. May 2003. [cit. 2014-01-02]. Dostupné z <http://aces.nmsu.edu/pubs/_a/A129/>.
- Lissbrant, S., Stratton, S., Cunningham, S. M., Brouder, S. M., Volenec, J. J. 2009. Impact of Long-Term Phosphorus and Potassium Fertilization on Alfalfa Nutritive Value-Yield Relationships. Crop Sci. 49. 1116–1124.
- Loynachan, T. Nitrogen Fixation by Forage Legumes. [online]. Department of Agronomy. Iowa State University. May 2005. [cit. 2014-01-03]. Dostupné z <<http://www.public.iastate.edu/~teloynac/354n2fix.pdf>>.
- Lupwayi, N. Z., Olsen, P. E., Sande, E. S., Keyser, H. H. 2000. inoculant quality and its evaluation. Field Crops Research. 65. 259–270.
- Mášková, K., Hakl, J., Šantrůček J. 2010. Vliv očkování osiva vojtěšky seté na aktivitu nitrogenázy v kořenovém systému. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2010. Česká zemědělská univerzita v Praze. s. 70–73.
- Mášková, K., Hakl, J., Šantrůček J. 2011. Vliv očkování osiva vojtěšky seté na akumulaci dusíku v roce založení. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2011. Česká zemědělská univerzita v Praze. s. 44–48.
- Mášková, K., Hakl, J., Šantrůček, J., Jirmanová, J. 2013. The effect of lucerne seed inoculation on yield and quality of two different varieties. Scientia agriculturae bohemica. 44. (3). 127–132.

- Munns, D. N. 1970. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. V. Calcium and Ph requirements during infection. *Plant Soil*. 32. 90–102.
- Oliveira, W.S., Oliveira, P.P.A., Corsi, M., Duarte, F.R.S., Tsai, S.M. 2004. Alfalfa yield and quality as function of nitrogen fertilization and symbiosis with *Sinorhizobium meliloti*. *Scientia Agricola*. 61. 433–438.
- Parniske, M. 2004. Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Curr. Opin Plant. Biol.* 7. 414–421.
- Peterson, P. R., Sheaffer, C. C., Hall, M. W. 1992. Drought effects of perennial forage legume yield and duality. *Agronomy Journal*. 84. 774–779.
- Rotrekl, J., Babinec, J. 2006. Je obtížné efektivně pěstovat vojtěšku. *Agro*. 7. 55 – 57.
- Shesley, R., Grimes, D. W., McClennan, W. D., Summers, C. G., Marble, V. 1974. Influence of wheel traffic on yield and stand longevity of alfalfa. *California Agriculture*. 28. 6–8
- Small, E. 2011. Alfalfa and relatives: evolution and classification of *Medicago*. NRC Research Press. Ottawa. Canada. p. 727. ISBN: 9780660199795.
- Stephens, J. H. G., Rask, H. M. 1999. Inoculant production and formulation. *Field Crops* . 65. (2000). 249–258.
- Šantrůček, J. 2007. Vojtěška setá. In. *Encyklopedie pěstování víceletých píceň na orné půdě*. Česká zemědělská univerzita. s. 13 - 24
- Šantrůček, J., Svobodová, M., Veselá, M. 2003. *Encyklopedie pěstování víceletých píceň na orné půdě*. 2. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 60 s. ISBN: 80-7271-132-6
- Šimon, T., Mikanová, O. 2009. Principy a nové směry selekcí hlízkových bakterií pro výrobu inokulačních preparátů. *Výzkumný ústav rostlinné výroby. v.v.i.* s. 5 – 6. ISBN 978-80-7427-013-0.

- Šimon, T., Mikanová, O. 2010. Využití a podpora bakterií rodu *Azotobacter* pro výživu rostlin. Výzkumný ústav rostlinné výroby. v.v.i. s. 5. ISBN 978-80-7427-040-6.
- Šimon, T., Mikanová, O. 2012. Metodika vývoje a výroby inokulačních preparátů na bázi propěšných půdních bakterií Výzkumný ústav rostlinné výroby. v.v.i. s. 5-6. ISBN 978-80-7427-115-1
- Škoda, V. (eds.). (1998). Obecná produkce rostlinná. ČZU. Praha. 190 s. ISBN: 80-213-0450-2
- Tietjen, B. K., Zeibig, S. 2002. Biogeochemische Kreisläufe II: Stickstoff. Universität Osnabrück. 19 s.
- Vaněk, V., Balík J., Pavlíková, D., Tlustoš, P. 2002. Výživa a hnojení polních a zahradních plodin. Praha. Profi Press. 132 s.
- Velich, J., Petřík, M., Regal, V., Štráfelda, J., Turek, F. 1991. Pícninářství. 2. Vysoká škola zemědělská Praha v Editpressu. Praha. 204 s. ISBN: 80-213-0106-6
- Velich, J., Petřík, M., Regal, V., Štráfelda, J., Turek, F. 1994. Pícninářství. Vysoká škola zemědělská. Praha. s. 9–28.
- Vercher, Y., Carrasco, P., Carbonell, J. 1989. Biochemical and histochemical detection of endoproteolytic activities involved in ovary senescence or fruit development in *Pisum sativum*. *Physiol. Plant.* 76. 405–411.
- Vorlíček, Z., 2004. Charakteristika význačných jetelovin a trav. In: Hrabě, F., (ed.). Trávy a jetelotrávy v zemědělské praxi. Vydavatelství ing. Petr Baštan. Olomouc. s. 13-15. ISBN: 80-903275-1-6

Internetové zdroje:

Agrogen, 2014. Odrůdy vojtěšky. Agrogen [online]. Březen 2009 [cit. 2013-10-11]. Dostupné z <<http://www.agrogen.cz/inpage/vojteska-seta/>>.

ÚKZÚZ, 2014. Seznam odrůd zapsaných ve Státní odrůdové knize k 1.6. 2013. ÚKZÚZ [online]. [cit. 2013-10-09]. Dostupné z <<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudah/odrudy-registrovane-v-cr/seznam-odrudy/>>.

Český statistický úřad, 2014. Plocha osevů k 31.5. 2013. Český statistický úřad [online]. [cit. 2014-02-8]. Dostupné z <http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabparam.jsp?voa=tabulka&cislatab=ZEM0020UU&&kapitola_id=11>.

Bio1152.nicerweb. Bacteroids in a soybean root nodule. Bio1152.nicerweb [online]. [cit. 2014-02-25]. Dostupné z <<http://bio1152.nicerweb.com/Locked/media/ch37/bacteroids.html>>.

Alsglobal. Dumasova metoda. Alsglobal [online]. [cit. 2014-03-2]. Dostupné z <http://www.alsglobal.eu/docs/food/CZ_food_20120520_Labmail_1_2012_Dumas.pdf>.

Selgen. Pomocné přípravky nitrazon-n [online]. [cit. 2013-10-10]. Dostupné z <<http://selgen.cz/pomocne-pripravky/nitrazon-n/>>.

Agro-profi s.r.o.. Rizobin. Rizobin [online]. [cit. 2013-10-10]. Dostupné z <www.rizobin.cz>.

9. Samostatné přílohy

Seznam příloh

Příloha 1: fotodokumentace pokusů

Obrázek 2: Pokusná parcela ve výzkumné stanici Červený Újezd



Obrázek 3: Pokusná parcela ve výzkumné stanici Červený Újezd



Obrázek 4: Odběr reprezentativních vzorků píce



Obrázek 6: Odběr kořenů ve čtvrté seči



Obrázek 7: Odběr kořenů ve čtvrté seči



Obrázek 7: Analýza dusíku na přístroji Dumatherm

