

# Vliv bioefektorů na výnosové parametry rostlin se zaměřením na zvýšení příjmu fosforu z půdy

---

Autoreferát doktorské disertační práce

---

Ing. Zlata Holečková

Praha 2018



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Ing. Zlata Holečková**

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

**Vliv bioefektorů na výnosové parametry rostlin se zaměřením na zvýšení příjmu fosforu  
z půdy**

The effect of bioeffectors on plant yield parameters focusing on the increase of phosphorus  
uptake from a soil

autoreferát doktorské disertační práce

Studijní program: Fytotechnika

Studijní obor: Obecná produkce rostlinná

Školitel: **prof. Ing. Jiří Balík. CSc., dr. h. c.**  
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Konzultant: **Ing. Martin Kulhánek. Ph.D.**  
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Oponenti: Ing. Jan Haberle, CSc. (VÚRV, Praha)  
prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc. (JU v Českých Budějovicích)  
doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D. (Mendelu v Brně)

Obhajoba doktorské disertační práce se koná dne: 25.4.2018  
na: Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

S doktorskou disertační prací je možno se seznámit na děkanátě FAPPZ ČZU v Praze.

**Praha 2018**

# Obsah

1. SUMMARY .....	1
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE - BIOEFEKTORY .....	2
2.1. Houbové bioefektory .....	2
2.1.1. <i>Trichoderma</i> sp.....	2
2.1.2. <i>Trichoderma harzianum</i> .....	3
2.1.3. <i>Penicillium bilaii</i> .....	4
2.2. Bakteriální bioefektory .....	5
2.2.1. <i>Pseudomonas</i> sp., popřípadě kombinace s jinými organismy.....	5
2.2.2. <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	6
2.2.3. <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> , popřípadě kombinace s jinými organismy .....	7
2.2.4. <i>Bacillus subtilis</i> .....	8
2.3. Bioefektory na bázi extraktů z rostlin .....	10
2.3.1. <i>Ascophyllum nodosum</i> .....	10
3. HYPOTÉZY .....	11
4. CÍLE .....	11
5. METODIKA PRÁCE .....	12
5.1. Nádobové a polní pokusy .....	12
5.1.1. Nádobový pokus 2013 (pokus 1).....	13
5.1.2. Nádobový pokus 2014 (pokus 2 a 3).....	14
5.1.3. Polní pokusy 2014 (pokus 4 a 5) .....	15
5.1.4. Screening experiment 2015 (pokus 6) .....	16
5.1.5. Polní pokus 2015 (pokus 7) .....	17
5.1.6. Polní pokus 2016 (pokusy 8 a 9) .....	18
5.1.7. Nádobový pokus 2017 (pokus 10).....	19
5.2. Analytická stanovení .....	20
5.2.1. Souhrn postupu prací v rámci všech pokusů .....	21
5.3. Seznam používaných zkratk v praktické části práce .....	22
6. VÝSLEDKY A DISKUZE .....	24
7. ZÁVĚR .....	30
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	31
SEZNAM PUBLIKACÍ K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE.....	41

# 1. SUMMARY

In past decades have agriculture and crop production almost completely been dependent on mineral fertilizers, and hence on natural sources of nutrients which are scarce and limited. As a result, pressure there is the need to develop new alternative ways to improve bioavailability of nutrients from applied fertilizers. One of many alternative ways is testing application of products containing live and active microorganisms in plant production. These commercially produced preparations, so-called bioeffectors (BE), contain two main components: live microorganisms (bacteria or fungi) or/and active natural compounds (plant and herbal extracts, dried seaweeds and soil and compost extracts). Application of bioeffectors could be one possible way that should: i) improve resistance to diseases and pathogens, ii) growth of roots and above-ground biomass and iii) improve the nutrient uptake by plants.

The aim of carried out research was to estimate the influence of bioeffectors application on plant growth parameters and nutrient uptake of maize and wheat under the pot and field experimental conditions. These bioeffectors were applied independently or in a combination with fertilizers (rock phosphate, triple superphosphate, sewage sludge or solid fraction of digestate).

The statistically significant effect of the bioeffectors on plant height was only found out in the pot experiment with wheat. Positive influence on wheat height was demonstrated in the application of bioeffector BE2 (Proradix) at the treatments without added P-fertilizers and at the beginning of vegetation only. Furthermore, the weight of fresh above-ground biomass, the root weight of plants and the yield of dry matter was summarized to find out if this application of bioeffectors had a positive influence on any of these monitored parameters. The harvested above-ground mass of plants was evaluated according to the content of the macro- and selected micro-nutrients and their uptakes. Statistically significant effect results were found out at pot experiments only. The application of bioeffectors has significantly increased N (Proradix), Mn (Proradix) in non-fertilizer treatment and S in combination with sewage sludge (Proradix); P, Ca, S, Cu, Mn and B (RhizoVital 42 + Muci), P and Fe (Muci) in combination with a solid fraction of digestate in maize above-ground biomass and B (LamVita) in wheat above-ground biomass a rock phosphate. The acid phosphatase activity was evaluated within the experiment as well. In this case however, the application of bioeffectors did not cause statistically significant differences between treatments.

Although BEs, based on many published studies, seems to be promising way to save the nonrenewable resources and increase plant yields and quality, in our work was the positive effect of BEs proven only seldom usually only at the low significance level. The possible reasons are further described in thesis.

## 2. LITERÁRNÍ REŠERŠE - BIOEFEKTORY

V posledních letech, metody biologické ochrany a využití mikroorganismů přitahují pozornost výzkumu, jako slibná alternativa k chemické kontrole. Biologická kontrola s použitím antagonistických mikroorganismů se ukázala jako životaschopná alternativa. Ačkoli používání pesticidů je tradiční metoda, jejich vedlejší environmentální účinky a postupná odolnost patogenu vůči účinné látce stimulují hledání alternativních strategií hubení patogenů. Jednou z alternativ je využití rodů *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* a *Bacillus* pro jejich antagonistické působení. Antagonistické bakteriální izoláty obsahují antibiotika, která inhibují zóny růstu patogena. Rozvoj tzv. mikrobiálních biokontrolních činidel, v této práci tzv. bioefektorů, stoupá vzhledem k možnému využití těchto látek v ekologickém zemědělství (El-Gremi et al., 2017). V současné době je značná pozornost věnována rovněž potenciálnímu vlivu bioefektorů na mobilizaci hůře dostupných živin, růst kořenů rostlin, popř. na podporu pozitivně působících mikroorganismů přirozeně se vyskytujících v půdě (Neumann, 2012). Z těchto důvodů byl v letech 2013 – 2017 realizován projekt Bioefector, řešící danou problematiku založenou na spolupráci evropských univerzit (12), institutů (2) a distributorů (7). V následující části je proto uveden výběr mikroorganismů, podílejících se na mobilizaci P v půdě se zaměřením na mikroorganismy studované v disertační práci.

### 2.1. Houbové bioefektory

Bioefektory mikrobiálního původu lze rozdělit na dvě hlavní skupiny, podle toho, jakou účinnou složku obsahují: houbovou a bakteriální. V minulosti již bylo uskutečněno mnoho studií, kde byl pozorován vliv aplikace různých druhů hub na rostlinu, proto na konci této části (2.1.), v tabulce 1. jsou uvedeny některé z nich.

#### 2.1.1. *Trichoderma* sp.

*Trichoderma* spp. je volně žijící vláknitá houba vyskytující se téměř ve všech půdách a na různých stanovištích. Rod *Trichoderma* zahrnuje druhy, které jsou v současné době používány jako bioefektory (Hermosa et al., 2012; Dominguez et al., 2016). Houby z rodu *Trichoderma* mají dlouhotrvající a různorodé účinky na rostliny. Tyto houby jsou známé díky produkci několika enzymů a antibiotik. Tomuto druhu jsou přičítány mnohé fyziologické, antimykotické či insekticidní účinky. Působí mimo jiné proti širokému spektru rostlinných patogenů. *Trichoderma* spp. kolonizuje kořeny a parazituje na patogenu, ze kterého získává živiny. Tyto houby podporují rychlost růstu a vývoj rostlin, rozpouštění živin v půdě

a následný příjem živin (Ferrigo et al., 2014; El-Gremi et al., 2017). Dále také zvyšují odolnost vůči abiotickým či biotickým stresům, příjem a využití živin, produktivitu plodin (Howell, 2003; Harman et al., 2004a). Dennis a Webster (1971) uvádějí, že houby rodu *Trichoderma* spp. mají charakteristickou vůni a některé izolované látky z těchto hub produkují těkavé složky, které působí inhibičně na růst jiných hub. Např. acetaldehyd byl identifikován jako inhibiční metabolit *Trichodermy viride*. Ke zvýšení růstu rostlin, a tedy i kořenů, dochází v důsledku jeho silné antipatogenní aktivity, biosyntézou hormonů, zlepšením příjmu živin z půdy, vývojem kořenů, zvýšením rychlosti metabolismu sacharidů a zvýšením fotosyntézy (El-Gremi et al., 2017). Růst podporuje také produkce enzymů. Hlavní hydrolytické enzymy vylučované touto houbou jsou proteázy, chitinázy a endochitinázy (Do Vale et al., 2012). Všechny tyto enzymy působí vzájemně, synergicky a komplementárně na chitin a na degradaci buněčné stěny (Duo-Chuan, 2006; Do Vale et al., 2012).

### **2.1.2. *Trichoderma harzianum***

*T. harzianum* je mykoparazitická vláknitá houba, která produkuje a vylučuje celou řadu extracelulárních hydrolytických enzymů degradujících buněčné stěny (Do Vale et al., 2012). *Trichoderma* má schopnost kolonizovat kořeny rostlin v různých typech půdy a pH, a tím podporovat také růst rostlin či stimulovat systémové obranné reakce u kukuřice (Harman et al., 2004b; Ferrigo et al., 2014). Tento kmen je nejpopsanějším a nejvíce se vyskytujícím kmenem *Trichodermy* na světě. První studie probíhaly od roku 1980 a byly provedeny Gary Harmanem z Cornellovy univerzity ve Spojených státech (Raja, 2007). Jedním z účinků aplikace kmenu T22 je zvýšení růstu rostlin, a to i v rostlinách za stresových podmínek. Ke zvýšení růstu dochází nepřímo v důsledku jeho silné antipatogenní aktivity, a přímo prostřednictvím: 1) indukce biosyntézy hormonů, 2) zlepšením solubilizace a příjmu živin z půdy, 3) vývojem kořenů, 4) zvýšením rychlosti metabolismu sacharidů, a 5) zvýšením fotosyntézy (El-Gremi et al., 2017). Houba roste v širokém rozmezí teplot (10 až 34 °C), při hodnotě pH 4 až 8,5. Hlavní hydrolytické enzymy vylučované touto houbou jsou proteázy, chitinázy a endochitinázy (Do Vale et al., 2012). Tato houba je také hlavní složkou v několika komerčně vyráběných biofungicidích. Biofungicid je určen pro aplikaci na list, na osivo a do půdy. V půdě se využívá k ošetření a pro potlačení různých chorob, které jsou způsobeny patogeny, jako je *Botrytis*, *Fusarium* a *Penicillium* spp. Tato skupina fungicidů má být využita zejména v boji proti škůdcům, pro zlepšení zdraví rostlin a monitorování životního prostředí (Samuels et al., 2014; Gomes et al., 2015).

Harman et al. (2004b) pozorovali účinky kmene T22 na kořenový systém, nadzemní část, velikost a množství kořenových vlásků u kukuřice. Sazenice z ošetřených semen měly větší kořeny a výhonky než sazenice nenačkované. Kořenové systémy u rostlin, které vyrostly ze semen ošetřených touto houbou, byly téměř dvakrát delší, než u kontrolních rostlin. Naočkování zvýšilo také růst kořenových vlásků a hlavních kořenů. Celková plocha a objem kořenů v přítomnosti kmene T22 byly přibližně dvakrát větší než u kontrolních rostlin.

### **2.1.3. *Penicillium bilaii***

Mikroorganismus *Penicillium bilaii* je houba, která žije ve spojení s kořeny rostlin, a bylo prokázáno, že zvyšuje rozpustnost a absorpci fosforu u některých plodin (Karamanos et al., 2010; Gomez-Munos et al., 2017). Některé druhy *Penicillium* mohou uvolňovat fixovaný fosfor (P) v půdě a zpřístupňovat je rostoucím rostlinám. Ve srovnání s jinými živinami je P nejméně mobilní a je dostupný rostlinám ve většině půd. P-solubilizující houby hrají důležitou roli v celosvětovém cyklu. *P. bilaii* se používá jako očkovací inokulant pro zlepšení účinnosti P u různých plodin, jako je např. pšenice, kukuřice, řepka, fazole, sója, luskoviny. Tato půdní houba je schopna rozpustit minerální fosfáty a zvýšit příjem fosfátů (Nakahara et al., 2004; Richardson et al., 2011). Na solubilizaci P se podílejí tři hlavní mechanismy: acidifikace půdy, uvolňování anionů organických kyselin a uvolňování fosfomonoesterázy a fytázy (Gomez-Munoz et al., 2017). Cunningham a Kuiack (1992) prokázali, že hlavními kyselými metabolity produkovanými *P. bilaii* jsou kyselina šťavelová a kyselina citronová. Díky těmto produkovaným organickým kyselinám může *P. bilaii* zvýšit dostupnost fosfátu do rostliny.

Gomez-Munoz et al. (2017) provedli rhizoboxové pokusy s kukuřicí, kdy byla testovací rostlina pěstována po dobu 27 dnů. V tomto pokusu byl inokulován *P. bilaii*, kmen ATCC 20851 na zrno samostatně nebo v kombinaci s kalem z odpadních vod. Během počátečních fází růstu zvýšilo očkování semen *P. bilii* výšku kukuřice. Na konci pokusu však tento účinek ustal. Růst kořene byl zvýšený u naočkovaného osiva *P. bilaii* nebo u inokulace v kombinaci s kalem. Aplikace samostatného kalu byla méně účinná. Kolonizační studie provedené při sklizni ukázaly, že *P. bilaii* nebylo možno detekovat v rhizosféře kukuřice, ale zůstal na místě očkování. Na konci tohoto pokusu inokulace *P. bilaii* neprokázala žádný účinek na výšku výhonku ani na nadzemní biomasu. Inokulace splaškových kalů s *P. bilaii* nevedla ke zvýšení příjmu fosforu, a tak se ukázala být méně účinná než inokulace semen. V této studii vyšší růst kořenů nevedl k vyššímu příjmu P, pravděpodobně kvůli silnému nedostatku živin v půdě.

Tab. 1: Bioefektory jako houby, které podporují růst rostlin a rostlinnou produkci.

Houba	Pokusné podmínky	Vliv na rostlinu	Zdroje
<i>Trichoderma</i> spp.	Laboratorní podmínky	Zvýšení růstu a produkce semen sóji	Paradiso et al. 2017
	Laboratorní podmínky	Zvýšení růstu u <i>Vigna unguiculata</i>	Chagas et al. 2016
<i>Trichoderma harzianum</i>	Nádobový pokus	Zvýšené klíčení a růst semenáčků pšenice	El-Gremi et al. 2017
	Skleníkové a laboratorní podmínky	Zvýšení výnosu rajčat Zvýšení délky nadzemní a kořen. části, sušiny a výnosu semen <i>Cajanus cajan</i>	Buysens et al. 2016
	Nádobový pokus	Zvýšení růstu u <i>Brassica juncea</i>	Gupta et al. 2016
	Nádobový pokus	Zvýšení délky kořenů, růstu rostlin a sušiny u <i>Brassica nigra</i>	Ahmad et al. 2015
<i>Penicillium bilaii</i>	Rhizoboxový pokus	Zvýšení délky kořenů kukuřice	Gomez-Munoz et al. 2017
	Polní podmínky	Zvýšení výnosu zrna pšenice	Ram et al. 2015
	Polní podmínky	Zvýšení délky kořenů a obsahu P v kořenech hrachu	Vessey a Heisinger 2001
	Polní podmínky	Zvýšení výnosu vojtěšky	Beckie et al. 1998

(Holečková et al., 2017).

## 2.2. Bakteriální bioefektory

Také v případě bakterií bylo již v minulosti uskutečněno mnoho studií, kde byl pozorován vliv aplikace různých druhů bakterií na rostlinu, a tak na konci této části (2.2.), v tabulce 2. jsou uvedeny některé z nich.

### 2.2.1. *Pseudomonas* sp., popřípadě kombinace s jinými organismy

*Pseudomonas* sp. je všudypřítomná bakterie žijící v zemědělských půdách, dobře přizpůsobená růstu v rhizosféře. Bakterie z rodu *Pseudomonas* jsou vhodné jako biokontrolní činidlo podporující růst, vývoj a výnos mnoha druhů plodin (Travaglia et al., 2015; Vallabhaneni, 2016). Tyto bakterie se využívají jako bioefektor, které společně s minerálními hnojivy může sloužit jako účinný přístup k zvyšujícím se nárokům rostlin na živiny. Tyto mikroorganismy mohou zvýšit dostupnost deficientních nebo imobilních živin v půdě po rozpuštění jejich minerálních forem. Například *Pseudomonas putida* může podporovat růst



rostlin solubilizací P, biologickou fixací dusíku, zvýšením dostupnosti stopových prvků, jako jsou Fe a Zn, a tvorbou regulátorů růstu rostlin. Použití *P. putida* zlepšilo růst a výnos různých plodin, jako jsou fazole, hrach, rýže, rajčata a pšenice. Proto bylo použití těchto bakterií navrženo jako udržitelné řešení pro zlepšení rostlinné produkce. Účinek aplikace *P. putida* buď samostatně, nebo v kombinaci s přísadkou fosforu zlepšil růst rostlin, příjem živin (N, P, K) a antioxidační aktivitu (Israr et al., 2016).

Na univerzitě v KwaZulu-Natal v Pietermaritzburgu byly provedeny laboratorní, skleníkové a polní pokusy v sezónách 2010 - 2012, kdy byly studovány účinky osmi kmenů diazotrofních bakterií na růst a výnos kukuřice. Kukuřičná semena byla ošetřena *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp. (kmeny B5, A3, A6, A61), *Burkholderia ambifaria*, *Enterobacter cloacae* nebo *Pantoea ananatis*, jejichž cílem bylo stimulovat růst rostlin a udržovat nebo zvyšovat výnosy i při snižování dávky hnojení N. Všechny diazotrofní bakterie zvýšily klíčení zrn kukuřice a *Pseudomonas* sp. (B5) a *B. megaterium* výrazně zvýšily délku nadzemní části rostlin. *Pseudomonas* sp. (B5) a *Pseudomonas* sp. (A3) výrazně zvýšily délku kořenů. Ošetření zrn s vybranými diazotrofními bakteriemi vedlo ke zvýšení jejich klíčivosti, ale ve srovnání s neošetřenou kontrolou nezpůsobily žádné významné zvýšení výnosu zrna, sušiny, výšky rostliny či obsahu chlorofylu. To mohlo být kvůli vysoké konkurenci původní půdní mikroflóry, jelikož úspěch mikrobiálního očkování závisí na kolonizaci a konkurenční schopnosti aplikovaných mikroorganismů. Kořenová exudace, kolonizace kořenů jinými bakteriemi a zdraví půdy mohou také ovlivnit účinnost bakteriálního očkování (Kifle a Laing, 2016). Ferreira et al. (2013), Liu et al. (2015), uvádějí pozitivní účinek inokulace zrn s diazotrofními bakteriemi na sušinu a výnos kukuřice.

### **2.2.2. *Bacillus amyloliquefaciens***

*Bacillus amyloliquefaciens* je gram-pozitivní, aerobní bakterie, produkující endospóry (Chowdhury et al., 2015; Zhang et al., 2016) a látky podporující růst rostlin a potlačení chorob přenášených půdou v zemědělství. Tato bakterie podporuje růst rostlin, založený především na produkci sekundárních metabolitů potlačujících konkurenční mikrobiální patogeny (bakterie, plísně, viry či hlístice) a choroby vyskytující se v rhizosféře rostlin. Dále také podporuje rozvoj kořenů a zlepšuje klíčení semen, kolonizuje kořeny rostlin a dokáže stimulovat růst svého hostitele. Použití těchto bakterií nabízí velký potenciál pro zvýšení výnosu a snížení chorob rostlin způsobených četnými mikroorganismy (Blom et al., 2012; Talboys et al., 2014; Lagerlöf et al., 2015). *B. amyloliquefaciens* produkuje mnoho metabolitů, jako např. enzymy (chitinázy, deaminázy, fytázy, peroxidázy a proteázy, fosfatázy, celulózy), bílkoviny (kasein, elastin), želatinu, škrob, dusitan, eskulin a arbutin,

adenin, guanin, hypoxanthin, pektin, testosteron, tyrosin, a mnoho typů antibiotik (např. bacillomycin, fengycin, difficidin) a dalších látek (Priest et al., 1987; Chowdhury et al., 2015; Lagerlöf et al., 2015; El-Gremi et al., 2017). Díky produkci mnoha metabolitů působí *B. amyloliquefaciens* antifungálně, antibakteriálně nebo antinematocidně.

Vzhledem k těmto vlastnostem se stále častěji *B. amyloliquefaciens* používá jako prostředek biologické ochrany v zemědělství. Bakterie také snižují vliv abiotických stresových podmínek v rostlině, jako je sucho, zasolenost nebo nedostatek živin v půdě (Kröber et al., 2014; Lagerlöf et al., 2015). Chen et al. (2007), Blom et al. (2012), He et al. (2013) uvádějí, že *B. amyloliquefaciens* je známý svou schopností podporovat růst rostlin produkcí indolyl-3-octové kyseliny (IAA) a giberelinů. Dále bylo zjištěno, že kyselina mléčná je hlavní složkou kořenových výměšků kukuřice (Baudoin et al., 2003), soji (Yang et al., 2012), lupiny (Egle et al., 2003), rýže (Aulakh et al., 2001), a že tato kyselina, sacharidy (Liang et al., 2016) a další kořenové výměšky slouží především jako zdroj uhlíku a energie pro *B. amyloliquefaciens*.

He et al. (2013) se zabývali ve své studii vlivem očkování *B. amyloliquefaciens* na růst rostliny rýže za stresových podmínek způsobených zasolením po dobu 30 dní. Tato studie vycházela z předpokladu, že použití mikroorganismů poskytuje alternativní technologii pro zlepšení schopnosti tolerance vůči stresu v rostlinách. Výsledky laboratorních pokusů ukázaly, že u naočkovaných rostlin došlo v porovnání s kontrolními rostlinami, k lepšímu růstu nadzemní části rostlin, ale také části kořenové. Analýzy této studie mimo jiné prokázaly, že přítomnost deaminázy v bakteriích zmírňuje účinek solí na chlorofyl, a tak podpora růstu rostlin ve stresových podmínkách způsobených salinitou byla z velké části připisována činnosti deaminázy, kterou bakterie produkují.

### **2.2.3. *Paenibacillus mucilaginosus*, popřípadě kombinace s jinými organismy**

*Paenibacillus mucilaginosus* je bakterie, která se již od roku 1990 široce využívá v zemědělství jako bioefektor pro jeho schopnost mineralizace fosforu, draslíku a také pro schopnost fixace dusíku. Tato bakterie je součástí biogeochemického cyklu draslíku, fosforu a jiných prvků. Je schopna degradovat nerozpustné půdní minerály s uvolněním živin (draslíku a ve vodě rozpustného fosforu), užitečných pro rostliny. *P. mucilaginosus* se ale také využívá během procesu čištění odpadních vod (Ma et al., 2012; Lu et al., 2014; Tang et al., 2014). Některé kmeny mají schopnosti antagonistické nebo naopak podporují růst rostlin. Na základě uvedených poznatků byly přípravky obsahující tuto bakterii úspěšně použity při pěstování tabáku, rajčat a podzemnice olejné (Lu et al., 2014).

Wang et al. (2016) zkoumali účinky kombinovaného naočkování arbuskulární mykorhizní houbou (*Rhizophagus intraradices*) s rhizobakteriemi podporujícími růst rostlin (*P. mucilaginosus*) na růst sazenic citrusů za podmínek nedostatku fosforu. Pokus byl proveden pro srovnání růstu, morfologie kořene a dalších fyziologických proměnných u sazenic citronečníku trojlistého (*Poncirus trifoliata*, L.), které byly naočkovány *R. intraradices* nebo *P. mucilaginosus* nebo oběma mikroorganismy současně. Délka kořenů se značně prodloužila po dvojitém naočkování. Naopak, po naočkování rostlin pouze *R. intraradices* se délka kořene výrazně snížila. U sazenic, které byly inokulované kombinací *R. intraradices* a *P. mucilaginosus*, došlo ke zvýšení koncentrace chlorofylu v listu a zvýšené kořenové aktivitě ve srovnání s těmi, které buď nebyly naočkovány vůbec, nebo byly naočkovány pouze jedním z nich. Kombinované očkování zvýšilo výšku rostlin, průměr stonku, sušinu nadzemní i kořenové části rostlin. Celkové koncentrace N a P nebo odběr živin v klíčících rostlinách byly podstatně vyšší u jednodruhového i kombinovaného naočkování.

#### **2.2.4. *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* je všudypřítomná gram-pozitivní bakterie běžně se vyskytující ve vodě, půdě, vzduchu a zbytcích rozkládajících se rostlin. Avšak, primární zastoupení těchto bakterií se nachází v půdě (Kunst et al., 1997; Tam et al., 2006). Bakterie produkuje endospóry, které jí umožňují snášet a překonat extrémní teplotní a suché období. *B. subtilis* produkuje řadu proteáz a dalších enzymů, které mu umožňují degradovat řadu přírodních substrátů, což přispívá ke koloběhu živin. Tato bakterie je považována za benigní organismus, neboť nemá vlastnosti, které způsobují onemocnění a nepůsobí patogenně či toxicky na člověka, zvířata nebo rostliny (Kolektiv autorů, 1997; Kunst et al., 1997). Claus a Berkeley (1986) uvádějí, že *B. subtilis* není považován za rostlinného patogena. Nicméně, existuje několik publikací, které spojují *B. subtilis* s výskytem některých chorob u rostlin. Bergeyova příručka systematické bakteriologie uvádí, že *B. subtilis* dokáže rozložit pektin a polysacharidy rostlinných pletiv, a že tento mikroorganismus může způsobit měkkou hnilobu na bramborových hlízách. Avšak, tento fakt není průkazně podložen a podrobnější informace nebyly získány. Katz a Demain (1977), Korzybski et al. (1978) uvádějí, že *B. subtilis* produkuje široké spektrum antibakteriálních a antifungálních sloučenin, např. antibiotika, jako je difficidin a oxydifficidin, které mají účinnost proti širokému spektru aerobních a anaerobních bakterií. López-Valdez et al. (2011), Ma et al. (2015) uvádějí, že tato bakterie je široce využívanou v zemědělství k podpoře růstu rostlin a může být slibným přístupem k ochraně rostlin před chorobami.

Brutti et al. (2015) provedli studii, kde využili rhizobakterie podporující růst rostlin při produkci rajčat. Před sadbou byly mikroorganismy naočkovány do substrátu. Sazenice rajčat byly pěstovány za použití dvou různých substrátů. První substrát byl složen ze 70 % rašeliny a 30 % perlitu. Druhý substrát byl složen z 20 % rašeliny, 20 % perlitu a 60 % kompostu. Očkování bylo provedeno mikroorganismy: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* nebo přípravkem Bioroot, což je komerční produkt obsahující *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *Trichoderma harzianum*, kvasnice, řasy a *Nocardia*. Naočkování zvýšilo plochu listů, sušinu nadzemní části rostlin i kořene, objem kořenů a kořenové větvení ve srovnání s kontrolní variantou bez očkování, a proto autoři doporučují očkování jako alternativu využitelnou ke snížení závislosti pěstitelů rajčat na minerálních hnojivech.

Tab. 2: Bioefektory jako bakterie, které podporují růst rostlin a rostlinnou produkci.

Bakterie	Pokusné podmínky	Vliv na rostlinu	Zdroje
<i>Pseudomonas</i> spp.	Laboratorní, skleníkové a polní podmínky	Zvýšené klíčení, délky nadzemní a kořenové části, výnosu kukuřice	Kifle a Laing, 2016
	Polní podmínky	Zvýšení výnosu zrna a množství slámy u ječmene	Fröhlich et al. 2012
	Nádobové a polní podmínky	Zvýšené klíčení, růstové parametry a výnos kukuřice	Nezarat a Gholami 2009, Gholami et al. 2009
	Laboratorní podmínky	Stimulace růstu u rostlin rajčat	Gravel et al. 2007
<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	Laboratorní podmínky	Zvýšený růst nadzemní a kořenové části rýže	He et al. 2013
<i>Bacillus subtilis</i>	Polní podmínky	Zvýšení absorpce makro a mikroživin, růstu rajčat	Altuhaish et al. 2014
	Polní podmínky	Zvýšení hmotnosti rostlin v čerstvém i suchém stavu <i>Brassica oleracea</i>	Turan et al. 2014
<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>	Nádobový pokus	Zlepšení růstu řízků <i>Poncirus trifoliata</i>	Wang et al. 2016

(upraveno dle Holečková et al., 2017).

## 2.3. Bioefektory na bázi extraktů z rostlin

Jako biokontrolní činidlo lze také kromě živých mikroorganismů (bakterie, houby) využít také tzv. aktivní přírodní sloučeniny (výtažky z rostlin). Pro tento druh extraktů jsou využívány např. *Sapindus mukorossi*, *Quillaja saponaria* a nejčastěji řasa *Ascophyllum nodosum*, která byla aplikována v pokusech v rámci této disertační práce, a která bude v následující části podrobněji popsána.

### 2.3.1. *Ascophyllum nodosum*

*Ascophyllum nodosum* jsou hnědé mořské řasy, které patří do skupiny *Phaeophyceae* a jsou bohatým zdrojem fenolických sloučenin s antioxidačními a antimikrobiálními vlastnostmi (Kadam et al., 2015b). Hnědé řasy jsou bohatým zdrojem biologicky aktivních sloučenin, jako jsou polysacharidy, peptidy, omega-3 mastné kyseliny, karotenoidy, fenolické látky, vitamíny a minerály. Laminarin je polysacharid zastoupený 0 - 35 % v sušině řas (Kadam et al., 2015a; Michalak et al., 2016). Řasy obsahují vysoké procento popelovin, dále bílkoviny, antioxidanty, minerální látky a anorganické soli absorbované z mořské vody (Rioux et al., 2007). Z pohledu zemědělství jsou považovány za alternativní organická hnojiva, novou generaci konkurenčních hnojiv a růstových stimulátorů oproti běžným agrochemikáliím (Kadam et al., 2015a; Elansary et al., 2016). Extrakty z mořských řas *A. nodosum* jsou určeny pro specifické rostlinné orgány - listy a kořeny. Extrakty mají pozitivní účinky při aplikaci do půdy, protože redukuje množství škodlivých bakterií, plísní, hmyzu a parazitů (Craigie, 2011). Dále Rayirath et al. (2009) publikují, že výtažek z hnědých mořských řas *A. nodosum* zvyšuje odolnost rostlin proti vlivům (stresovým faktorům) okolního prostředí, jako je sucho, zasolení a mráz. Podle Elansary et al. (2016) aplikace *A. nodosum* zlepšilo růst polních plodin, ovocných plodin a zelenin. Tyto studie rovněž uvádějí lepší růst, obsah chlorofylu, výnos ovoce, obsah sacharidu a odolnost vůči listovým a půdním patogenům.

Sen et al. (2015) aplikovali *A. nodosum* (granule nebo postřik) v polních pokusech s pšenicí v kombinaci s plošnou aplikací N, P, K hnojiv. Aplikace *A. nodosum* zvýšila výnos sušiny, výnos slámy a zrna, obsah N v zrna a slámě oproti kontrolní variantě, kde byla aplikována pouze hnojiva. Vyšší obsah bílkovin v zrna byl u variant, kde byla *A. nodosum* aplikována formou postřiku, a nejvyšší obsah přístupných živin N, P, K pro rostlinu byl stanoven u kontrolní varianty. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u variant, kde byl extrakt aplikován formou postřiku. Postřik extraktu z mořských řas stimuloval metabolické procesy v listu a podporoval rychlost fotosyntézy.

### **3. HYPOTÉZY**

Po aplikaci bioefektorů do půdy předpokládáme vyšší mobilizaci fosforu z hůře dostupných forem v půdě, a tím i zvýšení výnosů, obsahu P v nadzemní hmotě rostlin i jeho odběru zejména na stanovištích, kde je fosfor limitujícím prvkem.

Aplikace bioefektorů ovlivní i dostupnost dalších makro- a mikroprvků. To povede k jejich zvýšenému obsahu v nadzemní hmotě rostlin i k jejich zvýšenému odběru.

V ekologickém zemědělství je možno používat pouze fosforečná hnojiva s obtížně přístupným P - mleté fosfáty. Proto lze předpokládat velmi pomalé uvolňování P z těchto hnojiv. Aplikace bioefektorů spolu s těmito P-hnojivy povede k rychlejšímu uvolňování P, a tím i k lepší výživě a vyššímu odběru P rostlinou, na stanovištích s jeho nedostatkem.

Po lokální injektážní aplikaci N-hnojiva metodou CULTAN, vznikne stabilní N-depo v půdě. Rostlinné kořeny porostou směrem k depu. Při aplikaci BE mezi osivo a depo dojde při prorůstání kořenů směrem k depu k jejich snadnější inokulaci.

Většina studií zabývajících se bioefektory spočívá ve výsledcích laboratorních testů, popřípadě nádobových pokusů. V polních pokusech lze však předpokládat odlišné, méně průkazné výsledky.

### **4. CÍLE**

Cílem této disertační práce je posoudit vliv aplikace bioefektorů samotných nebo v kombinaci s P-hnojivy při pěstování rostlin (kukuřice, pšenice) a jejich vliv na výnos, růstové parametry nadzemní a kořenové části rostlin, odběr vybraných prvků rostlinou a obsah prvků v nadzemní hmotě rostlin, a to v rámci nádobových a polních pokusů.

## 5. METODIKA PRÁCE

Komerčně vyráběné bioefektory s podrobněji popsányými účinnými složkami uvedenými v kapitole 2, byly použity v praktické části této disertační práce. Bioefektory byly aplikovány samostatně nebo v kombinaci s hnojivem a bylo sledováno několik růstových parametrů (výška rostlin, hmotnost čerstvé nadzemní biomasy, hmotnost kořenového systému, výnos sušiny, obsahy makro- a vybraných mikroprvků a jejich odběry).

V rámci praktické části této disertační práce bylo provedeno celkem 10 pokusů (nádobové a polní). Pokusy byly zakládány v letech 2013 - 2017 na několika stanovištích. V nádobových pokusech byly využity různé půdy (viz níže.). Jednotlivá stanoviště se od sebe lišila půdními a klimatickými podmínkami, které jsou uvedeny v tabulkách 3a. a 3b. V této části jsou podrobně popsány veškeré pokusy, které byly v rámci této práce uskutečněny, přičemž je na konci této kapitoly uveden seznam zkratk plynoucích z metodické části. Většina pokusů pokusy byla založena podle společných metodik projektu Bioefektor.

### 5.1. Nádobové a polní pokusy

V deseti pokusech bylo aplikováno celkově 12 komerčně vyráběných bioefektorů a jeden tzv. neaktivní bioefektor - voda, jehož účelem bylo srovnání vlhkosti, a tak i vytvoření relevantní kontroly. Bioefektory byly aplikovány samostatně nebo v kombinaci s hnojivem (mletý fosfát, trojitý superfosfát, čistírenský kal, tuhá frakce digestátu). U pokusů 1-9 byla jako testovací rostlina použita kukuřice (*Zea mays*, L.), u pokusu 10 byla použita pšenice jarní (*Triticum aestivum*, L.). Seznam všech použitých bioefektorů včetně jejich jejich označení, účinných látek a výrobců je uveden v kapitole 5.3. v seznamu zkratk.

Tab. 3a: Půdně-klimatické charakteristiky pokusných stanovišť

	Humpolec A	Humpolec B	Humpolec C	Bubnov
<b>Souřadnice stanoviště</b>	49°33'14'' s.š.; 15°21'00'' v.d.	49°33'14'' s.š.; 15°21'24'' v.d.	49°33'20'' s.š.; 15°21'11'' v.d.	50°08'39'' s.š.; 16°30'53'' v.d.
<b>Průměrná roční teplota (°C)</b>	7,0	7,0	7,0	8,1
<b>Průměrné roční srážky (mm)</b>	665	665	665	675
<b>Nadmořská výška (m.n m.)</b>	525	525	525	590
<b>Půdní typ</b>	kambizem	kambizem	kambizem	kambizem
<b>Půdní druh</b>	písčito-hlinitá	písčito-hlinitá	písčito-hlinitá	hlinito-písčitá
<b>pH<sub>CaCl2</sub></b>	5,7	5,1	5,7	5,2
<b>Obsah P<sub>Mehlich3</sub> (mg/kg)</b>	80 (vyhovující obsah)	77 (nízký obsah)	71 (nízký obsah)	22 (nízký obsah)

Tab. 3b: Půdně-klimatické charakteristiky pokusných stanovišť

	Lukavec A	Lukavec B	Lípa	Cítov
<b>Souřadnice stanoviště</b>	49°34'17'' s.š.; 14°59'20'' v.d.	49°34'20'' s.š.; 14°59'18'' v.d.	49°33'43'' s.š.; 15°32'10'' v.d.	50°23'01'' s.š.; 14°25'98'' v.d.
<b>Průměrná roční teplota (°C)</b>	7,7	7,7	7,7	7,7
<b>Průměrné roční srážky (mm)</b>	666	666	632	632
<b>Nadmořská výška (m.n m.)</b>	610	610	505	505
<b>Půdní typ</b>	kambizem	kambizem	kambizem	černozem
<b>Půdní druh</b>	hlinito-písčítá	hlinito-písčítá	hlinito-písčítá	hlinitá
<b>pH<sub>CaCl2</sub></b>	5,4	4,8	5,9	7,7
<b>Obsah P<sub>Mehlich3</sub> (mg/kg)</b>	120 (vysoký obsah)	75 (nízký obsah)	72 (nízký obsah)	14,4 (nízký obsah)

### 5.1.1. Nádobový pokus 2013 (pokus 1)

Součástí experimentní části bylo založení nádobového pokusu 6.6.2013, kdy bylo do nádob o objemu 5 litrů zaseto vždy 5 zrn kukuřice (*Zea mays*, odrůdy Colisée). Půda byla získána ze stanoviště v Humpolci (pokusná stanice VÚRV, Humpolec), ze stejného pozemku, ze kterého byla odebrána půda také v následujícím roce. Podrobnější popis stanoviště, včetně souřadnic odběru zemin, je uveden v tabulce 3a (Humpolec A). Substrát byl dle metodiky projektu sestaven z půdy (kambizem) a křemenného písku v poměru 2:1 (3225 g půdy + 1665 g písku), čímž došlo ke snížení obsahu P (Mehlich 3) na velmi nízký (49 mg P/kg). Každá varianta byla realizována v pěti opakováních. Schéma pokusu je uvedeno v tabulce 4.

Tab. 4: Schéma nádobového pokusu 2013.

č.v.	Označení varianty	N	P (g/nádoba)	K	BE1 (ktj/nádoba)	BE3
1.	BE0 + NK	0,5	-	0,85	-	-
2.	BE1 + NK	0,5	-	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-
3.	BE3 + NK	0,5	-	0,85	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>
4.	BE0 + JSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	-
5.	BE1 + JSP + NK	0,5	0,25	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-
6.	BE3 + JSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>
7.	BE0 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	-
8.	BE1 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-
9.	BE3 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>

BE0 – voda, BE1 – Trianum P, BE3 – RhizoVital 42, JSP – jednoduchý superfosfát, TSP – trojitý superfosfát, ktj - kolonie tvořící jednotky



Po dvou týdnech pěstování byly rostliny kukuřice vyjednoceny na finální počet tří rostlin na nádobu. Ke všem variantám byla aplikována stejná dávka N (0,5 g N/nádoba) a K (0,85 g K/nádoba). Dusík byl dodán ve formě dusičnanu vápenatého (DV) a draslík v podobě K-hnojiva Patentkali (Ptk) při založení pokusu.

### 5.1.2. Nádobový pokus 2014 (pokus 2 a 3)

Také v roce 2014 byl založen nádobový pokus, konkrétně 30.4.2014. Do nádob o objemu 5 litrů bylo zaseto vždy 5 zrn kukuřice (*Zea mays*, odrůdy *Colisée*). Půda byla získána ze stanovišť Humpolec A a Lukavec A (pokusná stanice VÚRV, Humpolec). Podrobnější popis stanošť, včetně souřadnic odběru zemin pro pokus, je uveden v tabulkách 3a. a 3b.

Substrát byl stejně jako v předchozím roce, namíchan z půdy (kambizem) a křemenného písku v poměru 2:1. Každá varianta byla realizována v pěti opakováních. Po dvou týdnech pěstování byly rostliny kukuřice vyjednoceny na finální počet tří rostlin na nádobu. Ke všem variantám byla aplikována stejná dávka N (0,5 g N/nádoba) a K (0,85 g K/nádoba). Dusík byl dodán ve formě dusičnanu vápenatého (DV) a draslík v podobě K-hnojiva Patentkali (Ptk). V pokusu byly testovány tři bioefektory v kombinaci se dvěma P-hnojivy (0,25 g P/nádoba). Jako bioefektory byly použity: BE0 - voda (stejný objem vody, jako bioefektorového roztoku), BE1 - Trianium P, BE2 - Proradix a BE3 - RhizoVital 42.

Tab. 5: Schéma nádobového pokusu 2014 pro stanoviště Humpolec A i Lukavec A.

č.v.	Označení varianty	N	P (g/nádoba)	K	BE1	BE2 (ktj/nádoba)	BE3
1.	BE0 + NK	0,5	-	0,85	-	-	-
2.	BE1 + NK	0,5	-	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-	-
3.	BE2 + NK	0,5	-	0,85	-	9,08 x 10 <sup>9</sup>	-
4.	BE3 + NK	0,5	-	0,85	-	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>
5.	BE0 + MF + NK	0,5	0,25	0,85	-	-	-
6.	BE1 + MF + NK	0,5	0,25	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-	-
7.	BE2 + MF + NK	0,5	0,25	0,85	-	9,08 x 10 <sup>9</sup>	-
8.	BE3 + MF + NK	0,5	0,25	0,85	-	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>
9.	BE0 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	-	-
10.	BE1 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	1,12 x 10 <sup>8</sup>	-	-
11.	BE2 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	9,08 x 10 <sup>9</sup>	-
12.	BE3 + TSP + NK	0,5	0,25	0,85	-	-	8,75 x 10 <sup>8</sup>

BE0 – voda, BE1 – Trianium P, BE2 – Proradix, BE3 – RhizoVital 42, MF – mletý fosfát, TSP – trojitý super fosfát

Bioefektory byly aplikovány lokálně pipetou, 5 ml ke každému zrn (25 ml/nádoba). Výše uvedené bioefektory byly testovány v kombinaci hnojivy: mletý fosfát (MF) a trojitý superfosfát (TSP), kterými byla dodána stejná dávka P. Všechny varianty (tabulka 5) byly srovnávány s kontrolními, složenými z neaktivního bioefektoru (vody) a uvedených P hnojiv, včetně neaktivního bioefektoru s P nehnojenou variantou.

### 5.1.3. Polní pokusy 2014 (pokus 4 a 5)

Ve stejných oblastech (Humpolec B a Lukavec B, pokusná stanice VÚRV), kde byla odebrána půda pro nádobový pokus, byly provedeny také polní pokusy. V tabulce 3a a 3b. je uvedena charakteristika výše uvedených stanovišť, včetně jejich souřadnic. Polní pokusy byly založeny 23.4.2014 na stanovišti v Humpolci a 25.4.2014 na stanovišti Lukavec. Schéma bylo obdobné pokusům nádobovým (schéma v tabulce 6). Testovanou rostlinou byla rovněž kukuřice (*Zea mays*, odrůdy Colisée) a její výsevek byl 95 tis. zrn na hektar. V tomto polním pokusu byl rovněž hodnocen vliv aplikace bioefektoru v kombinaci s P-hnojivý. Během polního pokusu byly na parcelky o výměře 31,5 m<sup>2</sup> aplikovány dva bioefektory: BE2 - Proradix a BE3 - RhizoVital 42. Bioefektory byly aplikovány buď samostatně, nebo v kombinaci s mletým fosfátem (MF), popřípadě s trojitým superfosfátem (TSP), s dávkou P 26 kg/ha v obou hnojivech. Pokusy byly hnojeny jednotně dusíkem (120 kg N/ha v LAV) a draslíkem (50 kg K/ha v Ptk) při setí. Pro účely polního pokusu byly založeny stejné kontrolní varianty jako u nádobového pokusu.

Tab. 6: Schéma polního pokusu 2014, s aplikacemi bioefektorů a hnojiv.

č.v.	Označení varianty	Aplikace	BE2 (kg/ha) BE3 (l/ha)	N	P (kg/ha)	K
1.	Nulová kontrola	0	0	120	0	50
2.	Kontrola (BE0)	plošná	0	120	0	50
3.	MF	plošná	0	120	26	50
4.	TSP	plošná	0	120	26	50
5.	BE2 + MF	plošná	22,7	120	26	50
6.	BE2 + TSP	plošná	22,7	120	26	50
7.	BE2 + MF	lokální	2,27	120	26	50
8.	BE2 + TSP	lokální	2,27	120	26	50
9.	BE3 + MF	plošná	2	120	26	50
10.	BE3 + TSP	plošná	2	120	26	50
11.	BE3 + MF	lokální	1,5	120	26	50
12.	BE3 + TSP	lokální	1,5	120	26	50

BE0 – voda, BE2 – Proradix, BE3 – RhizoVital 42, MF – mletý fosfát, TSP – trojitý super fosfát

Bioefektory byly aplikovány dvěma způsoby. Prvním způsobem byla plošná aplikace 9 litrů roztoku bioefektoru na parcelu: 22,7 kg/ha Proradixu a 2 l/ha RhizoVitalu (dávka na parcelu byla ředěna v 9 litrech vody). Plošná aplikace byla provedena bezprostředně po výsevu. Proradix  $6,6 \times 10^{10}$  ktj/parcela, RhizoVital  $2,5 \times 10^{10}$  ktj/parcela. Druhým způsobem byla lokální aplikace injektážním aplikátorem GFI 3A (Maschinen und Antriebstechnik GmbH, Güstrow, Německo), který aplikuje roztok do hloubky cca 10 cm. Touto technikou bylo aplikováno 10x nižší množství Proradixu 2,27 kg/ha a nižší dávka 1,5 l/ha RhizoVitalu. Lokální aplikace byla provedena ve fázi 5. rozvinutého listu. Všechna hnojiva byla zapravena

do půdy před setím, do hloubky 10 cm. Polní pokus byl sklizen 18.9.2014 na stanovišti v Humpolci a 21.9.2014 na stanovišti v Lukavci.

#### 5.1.4. Screening experiment 2015 (pokus 6)

Vzhledem k neprůkazným účinkům bioefektorů byl v květnu 2015 založen rozsáhlejší nádobový pokus, při kterém bylo testováno 11 bioefektorů. Pokus byl realizován ve vegetační hale v období 24.5. - 10.6.2015, a testovací rostlinou byla kukuřice (*Zea mays*, L., odrůda Colisée). Kukuřice byla pěstovaná v 0,5 kg na vzduchu usušené zemině odebrané ze stanoviště Bubnov (okres Žamberk). Podrobnější informace o lokalitě s velmi nízkým obsahem P, kde byla půda odebrána, se nacházejí v tabulce 3a. Do každé nádoby byla zaseta 4 zrna kukuřice a 30.4.2015 byly rostliny vyjednoceny dvě rostliny na nádobu.

Dávky bioefektorů byly použity dle pokynu výrobce a byly aplikovány v kombinaci s hnojivem (čistírenský kal - ČK, tuhá frakce digestátu - TFD a mletý fosfát - MF). Tyto varianty byly hodnoceny proti kontrolním variantám, bez hnojiva. Schéma pokusu je uvedeno níže, v tabulce 7.

Tab. 7: Schéma zkušebního nádobového pokusu v roce 2015.

č.v.	Označení BE	Varianta	BE0	ČK	TFD	MF
1.	BE0	Kontrola	✓	✓	✓	✓
2.	BE2	Proradix	✓	✓	✓	✓
3.	BE3	RhizoVital 42	✓	✓	✓	✓
4.	BE4	RhizoVital 45	✓	✓	✓	✓
5.	BE5	Muci	✓	✓	✓	✓
6.	BE6	RhizoVital 42 + Muci	✓	✓	✓	✓
7.	BE7	Super Fifty	✓	✓	✓	✓
8.	BE8	NemaTec	✓	✓	✓	✓
9.	BE9	LamVita	✓	✓	✓	✓
10.	BE10	Biological Fertilizer OD	✓	✓	✓	✓
11.	BE11	OMG ( <i>Trichoderma</i> )	✓	✓	✓	✓
12.	BE12	CombiFect A ( <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>B. subtilis</i> + Zn + Mn)	✓	x	x	✓

BE0 – voda, ČK – čistírenský kal, TFD – tuhá frakce digestátu, MF – mletý fosfát, ✓ - testovaná kombinace, x – nezahrnutá kombinace

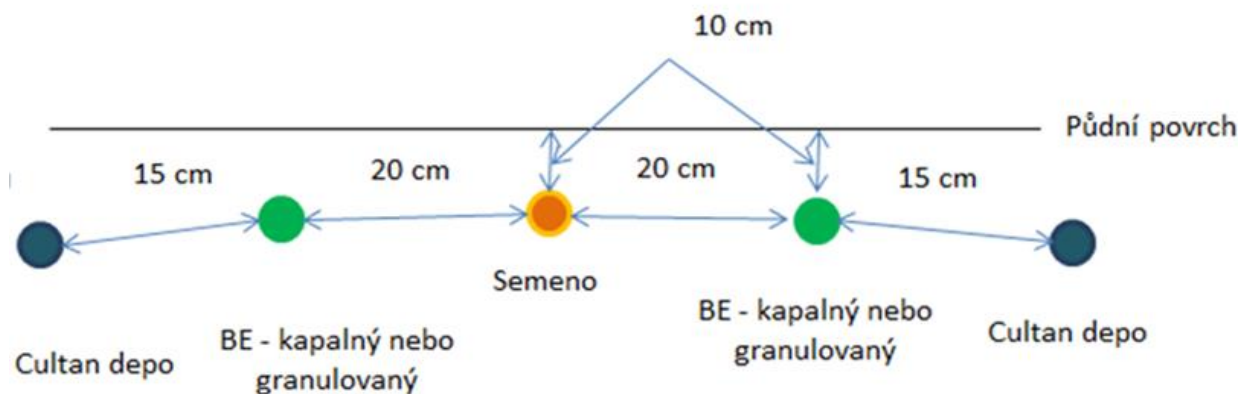
Každá varianta byla provedena ve čtyřech opakováních. Ke všem variantám bylo aplikováno stejné množství dusíku ve formě roztoku dusičnanu amonného (0,05 g N/nádobu). Dávka fosforu v dodaných hnojivech byla vypočtena vždy na 0,015 g P na 0,5 kg zemině, tj. na nádobu. Dávka dusíku a fosforu činila součet přidávaných hnojiv a roztoků. Ke kontrole fosforu přidáván nebyl. Jednocení ze čtyř rostlin na dvě proběhlo 30.4.2015. Sklizeň pokusu se konala 10.6.2015. Rostliny byly usušeny, namlety a použity pro další analýzy.

### 5.1.5. Polní pokus 2015 (pokus 7)

Pokus probíhal od 18.5.2015 do 11.9. na stanovišti v Humpolci (pokusná stanice VÚRV, v.v.i.). Podrobnější popis pokusného stanoviště je uveden v tabulce 3a (Humpolec B) Testovací rostlinou byla kukuřice (*Zea mays*, L. odrůdy Colisée). Založeno bylo 14 variant (tabulka 8) ve čtyřech opakováních, přičemž výměra jednotlivých parcelk byla 31,5 m<sup>2</sup>. Během polního pokusu byly na parcelky aplikovány dva bioefektory: BE2 - Proradix a BE3 - RhizoVital 42. Jednotlivé varianty jsou podrobně popsány níže.

Hlavním cílem polního pokusu bylo ověřit strategii aplikace bioefektorů pro úsporu nákladů. Bioefektory byly vždy aplikovány v pásech (hloubka 10 cm) do řádků vedle semen (obrázek 1).

Obr. 1: Princip lokální aplikace metodou.



V pokusu byly použity dvě formy bioefektorů: 1) kapalina (BE2/BE3 kap), kde aplikační dávka byla 9 litrů roztoku na parcelu nebo 2) granulovaná forma (BE2/BE3 gran), kde byly granule vyrobeny postříkem zásobního roztoku PDX/RV na pemzu 0 - 3 mm. Konečná dávka BE2 byla vždy 2,27 kg/ha a BE3 1,5 l/ha. Bioefektory byly aplikovány 4 dny po zasetí kukuřice a byly kombinovány se třemi způsoby hnojení dusíkem: 1) 80 kg N/ha 3 dny před výsevem + 60 kg N/ha u 2-3 rozvinutých listů (N1), 2) lokální aplikace 140 kg N/ha pomocí strategie CULTAN ve fázi 2-3 rozvinutého listu (obrázek 7; lokální N) a 3) 80 kg N/ha ve fázi 2-3 rozvinutého listu + 60 kg N/ha (N2). Dusík byl dodán plošně ve formě ledku amonného s vápencem (LAV) a lokální aplikací, metodou CULTAN ve formě dusičnanu amonného s močovinou (DAM).

Cílem metody CULTAN je tvorba zásobárny, neboli tzv. "depa" dusíku v půdě za použití vysokotlakého vstříkávání. Kořeny rostlin obrůstají kolem depa a odčerpávají z něj dusík,

čímž postupně snižují toxicitu amoniaku, a mohou tak postupně proniknout hlouběji. V důsledku toho je příjem N kontinuální a rostliny mají zásobu N k dispozici po celou dobu vegetace, což šetří náklady ve srovnání s běžně používanou opakovanou aplikací N (Sommer, 2005).

Tab. 8: Schéma polního pokusu 2015, s aplikacemi bioefektorů a hnojiv.

č.v.	Označení varianty	BE aplikace	BE2 (kg/ha)/ BE3 (l/ha)	N (kg/ha)	N aplikace
1.	Kontrolní varianta	-	0	0	-
2.	N1	-	0	80 + 60 + 0	plošná
3.	N2	-	0	0 + 80 + 60	plošná
4.	Lokální N	-	0	0 + 140 + 0	lokální
5.	N1 + BE2 kap	lokální	2,27	80 + 60 + 0	plošná
6.	N1 + BE3 kap	lokální	1,5	80 + 60 + 0	plošná
7.	N1 + BE2 gran	lokální	2,27	80 + 60 + 0	plošná
8.	N1 + BE3 gran	lokální	1,5	80 + 60 + 0	plošná
9.	Lokální N + BE2 kap	lokální	2,27	0 + 140 + 0	lokální
10.	Lokální N + BE3 kap	lokální	1,5	0 + 140 + 0	lokální
11.	Lokální N + BE2 gran	lokální	2,27	0 + 140 + 0	lokální
12.	Lokální N + BE3 gran	lokální	1,5	0 + 140 + 0	lokální
13.	N2 + BE2 kap	lokální	2,27	0 + 80 + 60	plošná
14.	N2 + BE3 kap	lokální	1,5	0 + 80 + 60	plošná

N1 - 80 kg N/ha 3 dny před setím + 60 kg N/ha ve fázi rozvinutého 2-3 listu, N2 - 80 kg N/ha ve fázi rozvinutého 2-3 listu + 60 kg N/ha, BE2 - Proradix, BE3 – RhizoVital, kap – kapalná forma, gran – granulovaná forma

### 5.1.6. Polní pokus 2016 (pokusy 8 a 9)

V roce 2016 byly založeny polní pokusy s kukuřicí (odruža Kartagos). Jednotlivé pokusy byly založeny na stanovišti v Lípě (9.5.2016, ÚKZÚZ, Brno) a v Humpolci C (10.5.2016, VÚRV, v.v.i., Praha-Ruzyně). Podrobnější popis pokusných stanovišť je uveden v tabulce 3a a 3b.

Celý pokus zahrnuje 13 variant a každá varianta byla založena ve čtyřech opakováních. Velikost jedné parcelky byla 30 m<sup>2</sup> (3 x 10 m, 4 řádky na parcelku) a schéma pokusu je uvedeno tabulce 9. Aplikace bioefektorů a hnojiv je popsána níže. Celá dávka dusíku byla vypočítána na 190 kg N/ha. Na základě obsahu půdního N<sub>min</sub> (29,3 kg/ha) bylo aplikováno pouze 161 kg N/ha minerálních hnojiv. Dusičnan vápenatý (DV) byl použit z regionálních zdrojů a síran amonný s inhibitorem nitrifikace DMPP NovaTec (SA). Celková dávka dusičnanu vápenatého byla rozdělena na dvě dílčí (107 kg N/ha před výsevem a 54 kg N/ha ve stádiu pátého vyvinutého listu). První (větší) dávka byla aplikována krátce před setím jako zdroj dostupného N pro klíčící rostliny. Druhá dávka byla aplikována během vegetace, aby

byl zajištěn přísun N během vegetace. Celková dávka síranu amonného byla aplikována 9.5.2016 nebo 10.5.2016, krátce před výsevem.

Příjem amonné formy N rostlinami či mikroorganismy a její přeměna na formu amidickou vede k vyloučení H<sup>+</sup> iontů organismy do rhizosféry. Z tohoto důvodu může dojít ke zlepšení solubilizace Ca-fosfátů jako vedlejšího efektu (Neumann a Römheld, 2002).

Tab. 9: Schéma polního pokusu 2016, s aplikací bioefektorů a hnojiv.

č.v.	Označení varianty	BE	N-hnojivo	N (kg/ha)	P-hnojivo	P (kg/ha)
1.	0 + 0 + 0	0	0	0	0	0
2.	0 + DV + 0	0	DV	107+54	0	0
3.	0 + SA + 0	0	SA	161	0	0
4.	0 + DV + MF	0	DV	107+54	MF	130
5.	0 + SA + MF	0	SA	161	MF	130
6.	0 + DV + TSP	0	DV	107+54	TSP	130
7.	0 + SA + TSP	0	SA	161	TSP	130
8.	BE2 + DV + MF	plošně	DV	107+54	MF	130
9.	BE2 + SA + MF	plošně	SA	161	MF	130
10.	BE5 + DV + MF	plošně	DV	107+54	MF	130
11.	BE5 + SA + MF	plošně	SA	161	MF	130
12.	BE13 + DV + MF	plošně	DV	107+54	MF	130
13.	BE13 + SA + MF	plošně	SA	161	MF	130

DV - dusičnan vápenatý, SA - síran amonný s inhibítorem nitrifikace, MF - mletý fosfát, TSP - trojitý superfosfát, BE2 - Proradix, BE5 - MUCI, BE13 - CombiFect A

Fosfor byl aplikován jako granulovaný fosfát - Granuphos 18 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (7,9 % P - LANDOR, Birsfelden, Švýcarsko) v dávce 130 kg P/ha, a to 9.5. nebo 10.5.2016, krátce před výsevem kukuřice. Jako kontrolní varianta byl aplikován trojitý superfosfát (21% P) při stejné aplikační dávce a době. V pokusu byly aplikovány tři bioefektory: BE2 - Proradix, BE5 - Muci a BE12 - CombiFect A. Příprava a aplikace bioefektorů byla následující: Proradix - 65 g na parcelu (30 m<sup>2</sup>), CombiFect A - 3 g na parcelu, a Muci - 450 ml na parcelu, byly aplikovány vždy ředěné v 10 l vody na parcelu. Bioefektory a hnojiva byly zapraveny do půdy (10 cm hloubka) s výsevem.

Hodnocené parametry byly: výška rostlin po 10 týdnech vegetace (19.7.2016), výnos nadzemní biomasy silážní kukuřice ve stádiu mléčné zralosti 13.9.2016 (Lípa) a 14.9.2016 (Humpolec), obsah vybraných makro a mikroprvků v nadzemní biomase. Příjem makro a mikroživin byl počítán z výnosu sušiny kukuřice a obsahu živin v nadzemní biomase.

### 5.1.7. Nádobový pokus 2017 (pokus 10)

V roce 2017 byl založen nádobový pokus s pšenicí jarní (*Triticum aestivum* L., odrůda *Granny*), která byla zasetá 12.4.2017 do hloubky 2,5 cm při množství 25 zrn na nádobu. Objem nádob byl 5 litrů, a celková hmotnost sušiny substrátu měla 5 kg. Substrát pro

testovanou rostlinu byl připraven smícháním zeminy a křemenného písku v poměru 2:1. Zemina byla odebrána na stanovišti Cítov (okr. Mělník). Podrobnější informace o stanovišti, kde byla odebrána půda do pokusu, jsou uvedeny v tabulce 3b.

Celý experiment obsahuje 9 variant (tabulka 10) v šesti opakováních. Do všech nádob byl v době zakládání pokusu ve stejné dávce aplikován dusík (1,5 g N/nádoba) ve formě dusičnanu amonného (DA). A dále bylo do vybraných variant aplikováno P-hnojivo (0,25 g P/nádoba) ve formě mletého fosfátu (MF) nebo trojitého superfosfátu (TSP - 21% P, Unicom, Čáslav). Podrobnější popis jednotlivých variant je znázorněn v tabulce 15. Každá varianta měla 6 opakování. Po zasetí rostlin byly lokálně aplikovány do hloubky 10 cm bioefektory: BE2 - Proradix v dávce 135 mg/nádoba a BE13 - CombiFect B v dávce 200 mg/nádoba. Po 9 dnech byly všechny nádoby vyjednoceny na 20 rostlin na nádobu a 6x během vegetace byla provedena randomizace. Pokus byl sklizen 4.7.2017.

Tab. 10: Schéma nádobového pokusu 2017.

č.v.	Označení varianty	N-hnojivo	Množství N g/nádoba	P-hnojivo	Množství P g/nádoba	BE
1.	BE0 + DA + 0	DA	1,5	0	0	0
2.	BE0 + DA + MF	DA	1,5	MF	0,25	0
3.	BE0 + DA + TSP	DA	1,5	TSP	0,25	0
4.	BE2 + DA + 0	DA	1,5	0	0	BE2
5.	BE2 + DA + MF	DA	1,5	MF	0,25	BE2
6.	BE2 + DA + TSP	DA	1,5	TSP	0,25	BE2
7.	BE13 + DA + 0	DA	1,5	0	0	BE13
8.	BE13 + DA + MF	DA	1,5	MF	0,25	BE13
9.	BE13 + DA + TSP	DA	1,5	TSP	0,25	BE13

DA - dusičnan amonný, MF - mletý fosfát, TSP - trojitý superfosfát, BE0 - voda, BE2 - Proradix, BE13 - CombiFect B

## 5.2. Analytická stanovení

Z uvedených pokusů byly průběžně odebírány vzorky půdy a rostlinného materiálu, které byly následně analyzovány na obsah vybraných prvků.

U vstupních vzorků i u vzorků odebraných během vegetace i po sklizni byly uskutečněny následující analýzy:

- Vodný výluh - stanovení obsahu P v půdním roztoku (Luscombe et al., 1979).
- Mehlich 3 - metoda normovaná v ČR pro stanovení přístupného P, K, Ca a Mg v zemědělských půdách (Mehlich, 1984).

V neposlední řadě byly monitorovány výnosové ukazatele sledovaných plodin, případné rozdíly v zaplevelení, podíly sušiny rostlin z jednotlivých variant, celkové obsahy vybraných

živin v nadzemní hmotě a kořenech rostlin dle Mader et al. (1998). V pokusu č. 10 byla rovněž stanovena aktivita kyselý fosfatázy v půdě dle Tabatabai a Bremner (1969).

V níže uvedené tabulce 11 je uveden souhrn analýz a procesů, které byly provedeny během všech uskutečněných pokusů.

Tab. 11: Souhrn prací na pokusech

Pokus	Rok	Mehlich 3*	Hmotnost nadzem. části	Hmotnost kořen. části	Suchý rozklad	Výška rostlin	Fosfatáza
Pokus 1	2013	✓	✓	✓	✓	✓	
Pokus 2	2014	✓	✓	✓	✓	✓	
Pokus 3	2014	✓	✓		✓		
Pokus 4	2014	✓	✓		✓		
Pokus 5	2015	✓	✓	✓	✓	✓	
Pokus 6	2015	✓	✓		✓		
Pokus 7	2015	✓	✓		✓		
Pokus 8	2016	✓	✓		✓		
Pokus 9	2016	✓	✓		✓		
Pokus 10	2017	✓	✓	✓	✓	✓	✓

\* metoda byla použita pouze u vstupních odběrů pro stanovení obsahu prvků

### 5.2.1. Souhrn postupu prací v rámci všech pokusů

V průběhu všech nádobových pokusů bylo během vegetace hodnoceno několik parametrů (tabulka 11). Po založení porostu byla sledována deficiencie živin, zejména P a napadení porostu chorobami a škůdci. V průběhu každého **nádobového** pokusu byla pravidelně prováděna randomizace a před sklizněmi pokusů byla měřena výška všech rostlin. Během pokusů byly v pravidelných intervalech všechny nádoby váženy a zalévány stejným objemem vody.

Po sklizni pokusů byla oddělena nadzemní část od kořenové části a obě části byly zváženy, jak v čerstvém stavu, tak po vysušení. Po vysušení byly rostlinné vzorky namlety a použity pro následné analýzy. Z dosažených výsledků byl hodnocen obsah vybraných živin i jejich odběr rostlinami.

V průběhu všech **polních** pokusů bylo hodnoceno napadení porostu chorobami a škůdci. Během sklizně bylo sklizeno 20 rostlin, které byly následně zváženy pro výpočet hektarového výnosu rostlin. Dále byly vybrány tři rostliny, které byly nadrceny, usušeny, namlety a tyto vzorky byly použity pro následné analýzy. Podobně jako u nádobových pokusů byl i zde hodnocen obsah vybraných živin i jejich odběr rostlinami.



### 5.3. Seznam používaných zkratk v praktické části práce

- VÚRV - Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i (Praha – Ruzyně, Česká republika)  
ÚKZÚZ - Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (Brno, Česká republika)  
DV - dusičnan vápenatý (15 % N, Lovochemie, Lovosice, Česká republika)  
LAV - ledek amonný s vápencem (27 % N, Lovochemie, Lovosice, Česká republika)  
DAM 390 - dusičnan amonný s močovinou (30 % N, Lovochemie, Lovosice, Česká republika)  
DA - dusičnan amonný (34 % N, Merck, Praha, Česká republika)  
SA - síran amonný s inhibitorem nitrifikace DMPP NovaTec (21% N, COMPO EXPERT, Münster, Německo)  
Ptk - Patentkali (24,6 % K, 6 % Mg, Kali und Salz GmbH, Kassel, Německo)  
MF - mletý fosfát (7,9 % P, Sebald Zement GmbH, Pommelsbrunn, Německo, od r. 2016 LANDOR, Birsfelden, Švýcarsko)  
JSP - jednoduchý superfosfát (7,5 % P, LANDOR, Birsfelden, Švýcarsko)  
TSP - trojitý superfosfát (21 % P, Agropodnik Hradec Králové, Česká republika)  
ČK - čistírenský kal (ČOV, Praha, Česká republika)  
TFD - tuhá frakce digestátu (ZD Krásná Hora, Krásná Hora n. Vltavou, Česká republika)  
ktj - kolonie tvořící jednotku  
BE0 - voda (tzv. neaktivní bioefektor)  
BE1 - Trianum P (*Trichoderma harzianum*, kmen T-22, Koppert Biological Systems, Berkel en Rodenrijs, Nizozemsko), 1,0 x 10<sup>9</sup> ktj/gram  
BE2 - Proradix (*Pseudomonas* sp., kmen DSMZ 13134, Sourcon Padena GmbH & Co.KG, Tübingen, Německo), 6,6 x 10<sup>10</sup> ktj/gram  
BE3 - RhizoVital 42 (*Bacillus amyloliquefaciens*, kmen FZB42, ABiTEP, Berlín, Německo), 2,5 x 10<sup>10</sup> ktj/gram  
BE4 - RhizoVital 45 (*B. amyloliquefaciens*, kmen FZB45, ABiTEP GmbH, Berlín, Německo)\*  
BE5 - Muci (*Paenibacillus mucilaginosus*, ABiTEP GmbH, Berlín, Německo)\*  
BE6 - RhizoVital 42 + Muci (*B. amyloliquefaciens* FZB42 + *Paenibacillus mucilaginosus*, ABiTEP GmbH, Berlín, Německo)\*  
BE7 - Super Fifty (*Ascophyllum nodosum*, BioAtlantis Ltd., Tralee, Irsko)\*  
BE8 - NemaTec (Výtažek z *Laminaria* ssp., BioAtlantis Ltd., Tralee, Irsko)\*  
BE9 - LamVita (Výtažek z *Laminaria* ssp., BioAtlantis Ltd., Tralee, Irsko)\*

BE10 - Biological Fertilizer OD (*Penicilium bilalii*, Bayer CropScience, Malchow, Německo)\*

BE11 - Trichoderma OMG (*Trichoderma harzianum*, kmen OMG-08, Anhalt University of Applied Sciences, Bernburg, Německo)\*

BE12 - CombiFect A (*Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + Zn + Mn, Anhalt University of Applied Sciences, Bernburg, Německo)\*

BE13 - CombiFect B (*Trichoderma* OMG 16 + *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42, Anhalt University of Applied Sciences, Bernburg, Německo)\*

\* ktj nebo koncentrace účinné látky výrobcem neuvedeny

## 6. VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci této práce bylo provedeno celkem 10 pokusů, z čehož 5 pokusů bylo nádobových a 5 polních, založených na stanovištích s rozdílným obsahem živin. Průkazný pozitivní vliv aplikace bioefektorů byl však potvrzen jen výjimečně. Pozorováno bylo několik růstových parametrů a obsah vybraných živin a jejich odběr nadzemní hmotou rostlin.

Průkazný vliv bioefektorů na **výšku rostlin** kukuřice nebyl v *pokusech 1 - 9* pozorován. V roce 2017 (*pokus 10*) byl poprvé založen nádobový pokus s pšenicí. Pouze v rámci tohoto pokusu byl prokázán pozitivní vliv aplikace bioefektoru BE2 (Proradix) na fosforem nehnojených variantách, a to jen na počátku vegetace. Ke konci vegetace došlo k vyrovnání výšky rostlin. U nádobových i některých polních pokusů byl prokázán pouze pozitivní vliv aplikace TSP. To potvrdilo fakt, že fosfor byl na sledovaných stanovištích limitující živinou pro růst rostlin.

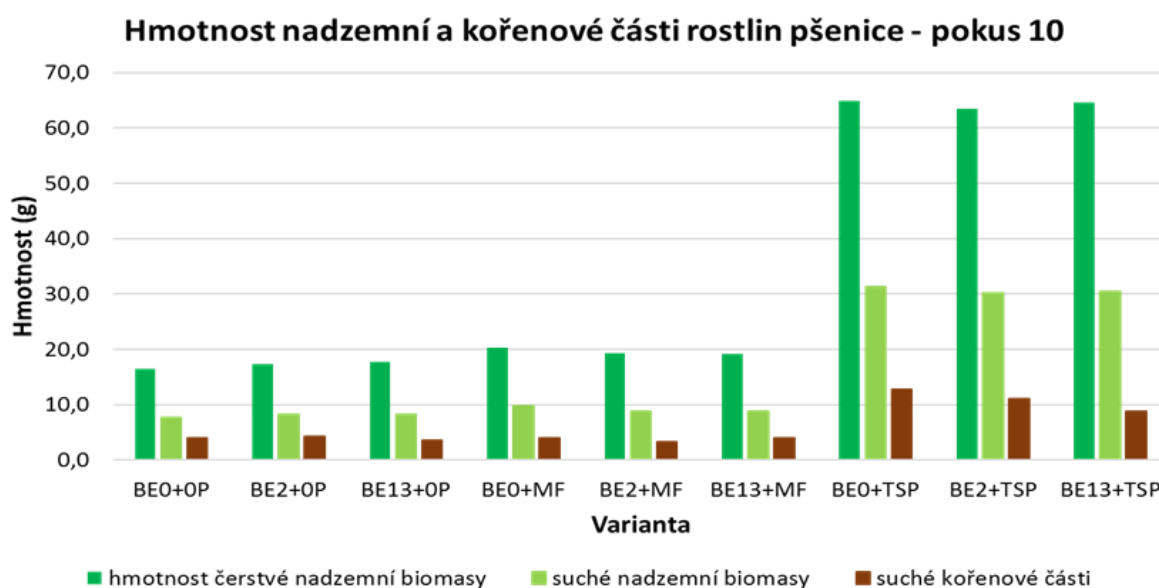
Chen et al. (2007), Lagerlöf et al. (2015) a další autoři píší o pozitivním vlivu bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* na růst nadzemní biomasy i kořenů rostlin. V našich nádobových a polních pokusech byl potvrzen pozitivní vliv aplikace P-hnojiva, zejména TSP, nikoliv však aplikace samotné bakterie.

Při hodnocení **hmotnosti čerstvé nadzemní biomasy** rostlin (kukuřice/pšenice) lze souhrně konstatovat fakt, že aplikace bioefektorů neměla pozitivní vliv na hmotnost nadzemní biomasy rostlin, ani na výnos, a to v rámci nádobových i polních pokusů.

**Hmotnost kořenového systému** byla hodnocena pouze u nádobových pokusů, kdy bylo dosaženo obdobných výsledků, jako u hmotnosti čerstvé nadzemní biomasy rostlin. Z výsledků byl znatelný pouze pozitivní vliv aplikace trojitého superfosfátu na hmotnost kořenové části rostlin, nikoliv však vliv aplikace bioefektorů. Názorný příklad je uveden v grafu 1.

Yusran et al. (2009) uvádějí, že po aplikaci přípravku Proradix a RhizoVital (jednotlivě nebo v kombinaci) do půdy došlo u nádobového pokusu s rajčaty k významnému zlepšení stavu kořenů rostlin. Tuto skutečnost se našich pokusech nepodařilo prokázat.

Graf 1: Hmotnost nadzemní a kořenové části rostlin pšenice (*pokus 10*).



Dále byl hodnocen **výnos sušiny** nadzemní hmoty kukuřice/pšenice. Pozitivní vliv aplikace bioefektorů na výnos sušiny nebyl prokázán v žádném z provedených nádobových nebo polních pokusů. V nádobových pokusech byl nejvyšší výnos sušiny stanoven u variant, kde byl aplikován trojitý superfosfát. Obdobně byl u rozsáhlejšího nádobového *pokusu 6* zjištěn pouze pozitivní vliv tuhé frakce digestátu na výnos sušiny.

V nadzemní hmotě rostlin po sklizni pokusů byly hodnoceny **obsahy makro-** (N, P, K, Ca, Mg, S) **a vybraných mikroprvků** (Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, B) **a jejich odběry**. Průkazné výsledky byly zjištěny pouze u nádobových pokusů.

Kumar et al. (2015) provedli nádobový pokus, během něhož pozorovali vliv inokulace kajanu indického (*Cajanus cajan*, L.) bakterií *Pseudomonas fluorescens*. Pro tuto studii bylo izolováno 75 fluorescenčních kmenů bakterií z rodu *Pseudomonas* z různých agroekosystémů v Indii. Izolovaný kmen P17 vykazoval značnou podporu růstu rostlin a zvýšený příjem živin. Naočkování mělo pozitivní vliv na délku kořenů, sušinu, obsah chlorofylu, sacharidů, na příjem dusíku, vápníku, železa a manganu. Pozitivní vliv aplikace bioefektorů na obsah živin v nadzemní hmotě rostlin nebo jejich odběr rostlinou se nám potvrdil jen výjimečně. Častější pozitivní vliv byl sledován v závislosti na aplikaci hnojiv.

V případě *pokusu 2* byl zaznamenán negativní vliv na obsah vápníku v nadzemní hmotě u variant BE1 + TSP a BE2 + MF. Jediný průkazně pozitivní vliv byl zjištěn u dusíku, a to u BE2 na fosforem nehnojené variantě (tabulka 13).

Tab. 13: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě kukuřice (*pokus 2*).

č.v.	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn
	mg/kg									
1	5296 <sup>ab</sup>	1031 <sup>a</sup>	12729 <sup>a</sup>	2219 <sup>b</sup>	1259 <sup>a</sup>	529 <sup>a</sup>	57,34 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	29,2 <sup>a</sup>
2	5164 <sup>ab</sup>	1033 <sup>a</sup>	12339 <sup>a</sup>	1446 <sup>ab</sup>	1043 <sup>a</sup>	470 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>	1,22 <sup>a</sup>	11,2 <sup>a</sup>	24,9 <sup>a</sup>
3	6678 <sup>b</sup>	1260 <sup>a</sup>	12127 <sup>a</sup>	1676 <sup>ab</sup>	1215 <sup>a</sup>	497 <sup>a</sup>	32,7 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	12,5 <sup>a</sup>	32,3 <sup>a</sup>
4	5115 <sup>ab</sup>	1038 <sup>a</sup>	13815 <sup>a</sup>	1438 <sup>ab</sup>	1032 <sup>a</sup>	458 <sup>a</sup>	54,5 <sup>a</sup>	1,24 <sup>a</sup>	11,7 <sup>a</sup>	29,3 <sup>a</sup>
5	4894 <sup>ab</sup>	1033 <sup>a</sup>	11485 <sup>a</sup>	1840 <sup>ab</sup>	1197 <sup>a</sup>	457 <sup>a</sup>	50,8 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	10,3 <sup>a</sup>	32,8 <sup>a</sup>
6	4010 <sup>a</sup>	1011 <sup>a</sup>	11344 <sup>a</sup>	1406 <sup>ab</sup>	930 <sup>a</sup>	405 <sup>a</sup>	30,6 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	9,2 <sup>a</sup>	24,7 <sup>a</sup>
7	5404 <sup>ab</sup>	1257 <sup>a</sup>	11862 <sup>a</sup>	1201 <sup>a</sup>	944 <sup>a</sup>	424 <sup>a</sup>	39,8 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	10,6 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>
8	4836 <sup>ab</sup>	1072 <sup>a</sup>	10781 <sup>a</sup>	1534 <sup>ab</sup>	1052 <sup>a</sup>	469 <sup>a</sup>	54,9 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	26,8 <sup>a</sup>
9	3583 <sup>a</sup>	1277 <sup>a</sup>	10258 <sup>a</sup>	1293 <sup>ab</sup>	913 <sup>a</sup>	444 <sup>a</sup>	39,5 <sup>a</sup>	0,84 <sup>a</sup>	8,7 <sup>a</sup>	28,8 <sup>a</sup>
10	4388 <sup>a</sup>	1270 <sup>a</sup>	10811 <sup>a</sup>	1062 <sup>a</sup>	822 <sup>a</sup>	405 <sup>a</sup>	21,7 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	7,9 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>
11	4418 <sup>a</sup>	1293 <sup>a</sup>	10478 <sup>a</sup>	1331 <sup>ab</sup>	951 <sup>a</sup>	471 <sup>a</sup>	26,5 <sup>a</sup>	0,97 <sup>a</sup>	9,0 <sup>a</sup>	29,4 <sup>a</sup>
12	4808 <sup>ab</sup>	1247 <sup>a</sup>	12536 <sup>a</sup>	1392 <sup>ab</sup>	988 <sup>a</sup>	413 <sup>a</sup>	32,6 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>	9,2 <sup>a</sup>	32,1 <sup>a</sup>
F-test	6,81	1,73	2,73	4,81	3,28	2,16	1,26	3,68	1,70	1,41
p ≤ *	0,01	n.s.	n.s.	0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

\* hladina významnosti

U screening experimentu (*pokus 6*). Byl zaznamenán průkazně vyšší obsah manganu v nadzemní hmotě rostlin po aplikaci BE2 do nehnouené půdy (tabulka 14).

Tab. 14: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě kukuřice u nehnouených variant (*pokus 6*).

č.v.	P	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	mg/kg								
1	1767 <sup>a</sup>	8276 <sup>a</sup>	3175 <sup>a</sup>	570 <sup>a</sup>	97 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	31,4 <sup>a</sup>	74,2 <sup>ab</sup>	15,7 <sup>a</sup>
2	1579 <sup>a</sup>	6704 <sup>a</sup>	2625 <sup>a</sup>	504 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>	5,48 <sup>a</sup>	25,3 <sup>a</sup>	85,3 <sup>b</sup>	13,5 <sup>a</sup>
3	1701 <sup>a</sup>	7349 <sup>a</sup>	2953 <sup>a</sup>	557 <sup>a</sup>	69 <sup>a</sup>	5,73 <sup>a</sup>	26,6 <sup>a</sup>	79,9 <sup>ab</sup>	14,7 <sup>a</sup>
4	1689 <sup>a</sup>	8536 <sup>a</sup>	3395 <sup>a</sup>	593 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	5,79 <sup>a</sup>	31,9 <sup>a</sup>	78,9 <sup>ab</sup>	16,0 <sup>a</sup>
5	1682 <sup>a</sup>	7496 <sup>a</sup>	3103 <sup>a</sup>	490 <sup>a</sup>	137 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a</sup>	24,6 <sup>a</sup>	81,4 <sup>ab</sup>	12,9 <sup>a</sup>
6	1447 <sup>a</sup>	7896 <sup>a</sup>	2903 <sup>a</sup>	559 <sup>a</sup>	128 <sup>a</sup>	4,16 <sup>a</sup>	22,0 <sup>a</sup>	74,5 <sup>ab</sup>	19,3 <sup>a</sup>
7	1651 <sup>a</sup>	8205 <sup>a</sup>	3155 <sup>a</sup>	659 <sup>a</sup>	68 <sup>a</sup>	5,25 <sup>a</sup>	26,8 <sup>a</sup>	77,4 <sup>ab</sup>	14,8 <sup>a</sup>
8	1536 <sup>a</sup>	7793 <sup>a</sup>	3138 <sup>a</sup>	614 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	5,15 <sup>a</sup>	27,1 <sup>a</sup>	77,5 <sup>ab</sup>	14,3 <sup>a</sup>
9	1688 <sup>a</sup>	7881 <sup>a</sup>	3051 <sup>a</sup>	677 <sup>a</sup>	73 <sup>a</sup>	5,71 <sup>a</sup>	29,5 <sup>a</sup>	76,3 <sup>ab</sup>	14,6 <sup>a</sup>
10	1606 <sup>a</sup>	7298 <sup>a</sup>	2862 <sup>a</sup>	453 <sup>a</sup>	66 <sup>a</sup>	4,99 <sup>a</sup>	24,0 <sup>a</sup>	58,9 <sup>ab</sup>	15,5 <sup>a</sup>
11	1795 <sup>a</sup>	7046 <sup>a</sup>	2861 <sup>a</sup>	499 <sup>a</sup>	59 <sup>a</sup>	5,29 <sup>a</sup>	27,4 <sup>a</sup>	55,5 <sup>a</sup>	13,6 <sup>a</sup>
12	1546 <sup>a</sup>	7307 <sup>a</sup>	2844 <sup>a</sup>	527 <sup>a</sup>	58 <sup>a</sup>	4,84 <sup>a</sup>	25,2 <sup>a</sup>	53,4 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>
F - test	1,16	2,30	2,23	2,97	1,98	1,99	2,37	6,52	0,66
p ≤ *	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.

\* hladina významnosti

V kombinaci s čistírenskými kaly vedla aplikace BE2 ke zvýšení obsahu síry (tabulka 15).

Tab. 15: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě kukuřice u variant s čistírenským kalem (*pokus 6*).

č.v.	P	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg/kg									
1	1498 <sup>a</sup>	5101 <sup>a</sup>	2285 <sup>a</sup>	705 <sup>ab</sup>	77 <sup>a</sup>	3,82 <sup>a</sup>	18,6 <sup>a</sup>	52,0 <sup>a</sup>	11,9 <sup>a</sup>
2	1823 <sup>a</sup>	5990 <sup>a</sup>	2655 <sup>a</sup>	899 <sup>b</sup>	90 <sup>a</sup>	4,82 <sup>a</sup>	22,6 <sup>a</sup>	57,6 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>
3	1738 <sup>a</sup>	5433 <sup>a</sup>	2482 <sup>a</sup>	809 <sup>ab</sup>	74 <sup>a</sup>	4,45 <sup>a</sup>	23,7 <sup>a</sup>	58,0 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>
4	1761 <sup>a</sup>	5649 <sup>a</sup>	2576 <sup>a</sup>	854 <sup>ab</sup>	62 <sup>a</sup>	4,10 <sup>a</sup>	18,5 <sup>a</sup>	57,1 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>
5	1903 <sup>a</sup>	5802 <sup>a</sup>	2573 <sup>a</sup>	815 <sup>ab</sup>	80 <sup>a</sup>	3,85 <sup>a</sup>	22,2 <sup>a</sup>	57,5 <sup>a</sup>	13,4 <sup>a</sup>
6	1641 <sup>a</sup>	5769 <sup>a</sup>	2413 <sup>a</sup>	730 <sup>ab</sup>	54 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>	14,5 <sup>a</sup>	51,4 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>
7	1724 <sup>a</sup>	5517 <sup>a</sup>	2617 <sup>a</sup>	715 <sup>ab</sup>	60 <sup>a</sup>	4,33 <sup>a</sup>	18,2 <sup>a</sup>	52,4 <sup>a</sup>	16,0 <sup>a</sup>
8	1658 <sup>a</sup>	6286 <sup>a</sup>	3076 <sup>a</sup>	684 <sup>ab</sup>	57 <sup>a</sup>	4,07 <sup>a</sup>	20,4 <sup>a</sup>	53,9 <sup>a</sup>	11,0 <sup>a</sup>
9	1525 <sup>a</sup>	5497 <sup>a</sup>	2652 <sup>a</sup>	671 <sup>ab</sup>	63 <sup>a</sup>	3,87 <sup>a</sup>	21,8 <sup>a</sup>	50,4 <sup>a</sup>	8,9 <sup>a</sup>
10	1552 <sup>a</sup>	5891 <sup>a</sup>	2866 <sup>a</sup>	618 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	3,93 <sup>a</sup>	20,7 <sup>a</sup>	61,2 <sup>a</sup>	12,1 <sup>a</sup>
11	1789 <sup>a</sup>	6233 <sup>a</sup>	2979 <sup>a</sup>	732 <sup>ab</sup>	75 <sup>a</sup>	4,74 <sup>a</sup>	24,0 <sup>a</sup>	58,9 <sup>a</sup>	14,1 <sup>a</sup>
<b>F-test</b>	1,93	1,75	3,65	4,72	2,67	2,05	3,00	2,21	1,28
<b>p≤*</b>	n.s.	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

\* hladina významnosti

Nejvíce rozdílů bylo naměřeno při testování bioefektorů v kombinaci s tuhou frakcí digestátu. Zde byl prokázán pozitivní vliv aplikace BE6 na obsah P, Ca, S, Cu, Mn a B v nadzemní hmotě rostlin a aplikace BE5 na obsah P a Fe (tabulka 16).

Tab. 16: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě kukuřice u variant s aplikovanou tuhou frakcí digestátu (*pokus 6*).

č.v.	P	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg/kg									
1	1455 <sup>a</sup>	3317 <sup>a</sup>	1320 <sup>a</sup>	463 <sup>ab</sup>	89 <sup>ab</sup>	2,11 <sup>a</sup>	11,11 <sup>a</sup>	35,6 <sup>ab</sup>	7,56 <sup>a</sup>
2	1498 <sup>a</sup>	3667 <sup>ab</sup>	1432 <sup>a</sup>	494 <sup>ab</sup>	68 <sup>ab</sup>	2,28 <sup>a</sup>	9,63 <sup>a</sup>	38,9 <sup>ab</sup>	7,78 <sup>a</sup>
3	1481 <sup>a</sup>	3755 <sup>ab</sup>	1541 <sup>a</sup>	454 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	2,45 <sup>ab</sup>	9,77 <sup>a</sup>	40,8 <sup>ac</sup>	7,25 <sup>a</sup>
4	1556 <sup>a</sup>	3961 <sup>ab</sup>	1658 <sup>a</sup>	539 <sup>ab</sup>	45 <sup>a</sup>	2,54 <sup>ab</sup>	11,25 <sup>a</sup>	40,3 <sup>ac</sup>	8,52 <sup>a</sup>
5	2111 <sup>b</sup>	4286 <sup>bc</sup>	1674 <sup>a</sup>	580 <sup>ab</sup>	110 <sup>b</sup>	2,58 <sup>ab</sup>	14,19 <sup>a</sup>	50,7 <sup>cd</sup>	9,34 <sup>ab</sup>
6	2319 <sup>b</sup>	4810 <sup>c</sup>	1692 <sup>a</sup>	622 <sup>b</sup>	55 <sup>a</sup>	2,95 <sup>b</sup>	14,05 <sup>a</sup>	53,3 <sup>d</sup>	16,13 <sup>b</sup>
7	1419 <sup>a</sup>	3327 <sup>a</sup>	1428 <sup>a</sup>	526 <sup>ab</sup>	49 <sup>a</sup>	2,41 <sup>ab</sup>	9,65 <sup>a</sup>	32,6 <sup>ab</sup>	7,78 <sup>a</sup>
8	1517 <sup>a</sup>	3756 <sup>ab</sup>	1647 <sup>a</sup>	542 <sup>ab</sup>	46 <sup>a</sup>	2,54 <sup>ab</sup>	9,72 <sup>a</sup>	36,1 <sup>ab</sup>	7,14 <sup>a</sup>
9	1427 <sup>a</sup>	3555 <sup>ab</sup>	1416 <sup>a</sup>	566 <sup>ab</sup>	63 <sup>ab</sup>	2,62 <sup>ab</sup>	8,90 <sup>a</sup>	31,7 <sup>ab</sup>	7,97 <sup>a</sup>
10	1475 <sup>a</sup>	3582 <sup>ab</sup>	1506 <sup>a</sup>	515 <sup>ab</sup>	57 <sup>a</sup>	2,27 <sup>a</sup>	10,12 <sup>a</sup>	36,1 <sup>ab</sup>	8,51 <sup>a</sup>
11	1353 <sup>a</sup>	3245 <sup>a</sup>	1423 <sup>a</sup>	525 <sup>ab</sup>	54 <sup>a</sup>	2,29 <sup>a</sup>	9,18 <sup>a</sup>	28,9 <sup>b</sup>	4,31 <sup>a</sup>
<b>F</b>	26,64	16,84	3,76	4,28	7,78	6,15	4,41	22,32	7,10
<b>p≤*</b>	0,05	0,05	n.s.	0,05	0,05	0,05	n.s.	0,05	0,05

\* hladina významnosti

Aplikace BE9 v kombinaci s mletým fosfátem vedla ke zvýšeným obsahům bóru v nadzemní hmotě (tabulka 17).

Tab. 17: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě kukuřice u variant s aplikovaným mletým fosfátem (*pokus 6*).

č.v.	P	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg/kg									
1	1563 <sup>a</sup>	6074 <sup>a</sup>	2663 <sup>a</sup>	568 <sup>a</sup>	112 <sup>a</sup>	5,07 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>	62 <sup>a</sup>	13,7 <sup>ab</sup>
2	1549 <sup>a</sup>	6403 <sup>a</sup>	2825 <sup>a</sup>	501 <sup>a</sup>	104 <sup>a</sup>	4,48 <sup>a</sup>	26,1 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>	15,4 <sup>ab</sup>
3	1593 <sup>a</sup>	6554 <sup>a</sup>	2929 <sup>a</sup>	492 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	26,3 <sup>a</sup>	62 <sup>a</sup>	15,1 <sup>ab</sup>
4	1648 <sup>a</sup>	6611 <sup>a</sup>	2845 <sup>a</sup>	583 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>	4,85 <sup>a</sup>	26,9 <sup>a</sup>	64 <sup>a</sup>	15,5 <sup>ab</sup>
5	1494 <sup>a</sup>	5389 <sup>a</sup>	2495 <sup>a</sup>	461 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	4,08 <sup>a</sup>	19,8 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	13,6 <sup>ab</sup>
6	1248 <sup>a</sup>	4246 <sup>a</sup>	1968 <sup>a</sup>	435 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>	15,1 <sup>a</sup>	49 <sup>a</sup>	9,6 <sup>ab</sup>
7	1561 <sup>a</sup>	5887 <sup>a</sup>	2628 <sup>a</sup>	587 <sup>a</sup>	54 <sup>a</sup>	4,90 <sup>a</sup>	22,9 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	15,0 <sup>ab</sup>
8	1587 <sup>a</sup>	5927 <sup>a</sup>	2858 <sup>a</sup>	519 <sup>a</sup>	51 <sup>a</sup>	5,15 <sup>a</sup>	23,4 <sup>a</sup>	68 <sup>a</sup>	12,6 <sup>ab</sup>
9	1533 <sup>a</sup>	5713 <sup>a</sup>	2589 <sup>a</sup>	573 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	4,84 <sup>a</sup>	24,7 <sup>a</sup>	68 <sup>a</sup>	16,7 <sup>b</sup>
10	1642 <sup>a</sup>	6522 <sup>a</sup>	2947 <sup>a</sup>	569 <sup>a</sup>	55 <sup>a</sup>	5,32 <sup>a</sup>	27,0 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	14,0 <sup>ab</sup>
11	1335 <sup>a</sup>	4448 <sup>a</sup>	2254 <sup>a</sup>	416 <sup>a</sup>	51 <sup>a</sup>	3,90 <sup>a</sup>	20,9 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
12	1709 <sup>a</sup>	6691 <sup>a</sup>	3027 <sup>a</sup>	594 <sup>a</sup>	64 <sup>a</sup>	5,08 <sup>a</sup>	28,3 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>	13,7 <sup>ab</sup>
<b>F-test</b>	0,74	2,55	1,75	1,64	4,64	1,41	1,91	2,24	3,68
<b>p≤*</b>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,05

\* hladina významnosti

V *pokusu 10* (odběr rostlin během vegetace) s pšenicí jarní byl prokázán pozitivní vliv bioefektorů pouze v případě zinku, kdy byly nejvyšší hodnoty zaznamenány u BE12 na fosforem nehnojené variantě (tabulka 18).

Tab. 18: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě pšenice během vegetace (*pokus 10*).

č.v.	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg/kg										
1	750 <sup>a</sup>	16984 <sup>b</sup>	6320 <sup>a</sup>	1294 <sup>a</sup>	454 <sup>ab</sup>	86,4 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>	16,7 <sup>ab</sup>	34,3 <sup>a</sup>	10,32 <sup>a</sup>
2	728 <sup>a</sup>	18135 <sup>b</sup>	6708 <sup>a</sup>	1461 <sup>a</sup>	1309 <sup>c</sup>	52,6 <sup>a</sup>	1,93 <sup>a</sup>	16,1 <sup>ab</sup>	33,0 <sup>a</sup>	6,99 <sup>a</sup>
3	1396 <sup>b</sup>	7405 <sup>a</sup>	7635 <sup>a</sup>	1343 <sup>a</sup>	298 <sup>ab</sup>	45,6 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	13,4 <sup>c</sup>	19,9 <sup>a</sup>	7,97 <sup>a</sup>
4	762 <sup>a</sup>	16462 <sup>b</sup>	7591 <sup>a</sup>	1352 <sup>a</sup>	432 <sup>ab</sup>	46,6 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	16,0 <sup>abc</sup>	26,9 <sup>a</sup>	7,65 <sup>a</sup>
5	708 <sup>a</sup>	17654 <sup>b</sup>	8016 <sup>a</sup>	1514 <sup>a</sup>	1355 <sup>c</sup>	56,3 <sup>a</sup>	1,94 <sup>a</sup>	16,3 <sup>abc</sup>	33,5 <sup>a</sup>	8,10 <sup>a</sup>
6	1462 <sup>b</sup>	7871 <sup>a</sup>	7349 <sup>a</sup>	1313 <sup>a</sup>	276 <sup>a</sup>	42,1 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a</sup>	14,3 <sup>ac</sup>	24,9 <sup>a</sup>	5,28 <sup>a</sup>
7	747 <sup>a</sup>	16631 <sup>b</sup>	6924 <sup>a</sup>	1323 <sup>a</sup>	435 <sup>ab</sup>	49,7 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	17,0 <sup>b</sup>	25,0 <sup>a</sup>	7,64 <sup>a</sup>
8	746 <sup>a</sup>	18060 <sup>b</sup>	6919 <sup>a</sup>	1440 <sup>a</sup>	1376 <sup>c</sup>	56,8 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	15,7 <sup>abc</sup>	29,7 <sup>a</sup>	4,74 <sup>a</sup>
9	1375 <sup>b</sup>	7754 <sup>a</sup>	7557 <sup>a</sup>	1362 <sup>a</sup>	311 <sup>ab</sup>	48,7 <sup>a</sup>	1,85 <sup>a</sup>	14,4 <sup>abc</sup>	20,0 <sup>a</sup>	6,75 <sup>a</sup>
<b>F-test</b>	96,37	112,70	1,59	3,96	295,90	0,69	1,76	7,81	2,34	3,02
<b>p≤*</b>	0,05	0,05	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.

\* hladina významnosti

Více rozdílů bylo prokázáno až v rostlinách odebraných v době voskové zralosti. Pozitivní vliv BE2 v kombinaci s MF byl prokázán u síry a u BE13 na fosforem nehnojené variantě v případě zinku (tabulka 19).

Tab. 19: Obsahy vybraných prvků v nadzemní hmotě pšenice po sklizni (pokus 10).

č.v.	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
mg/kg										
1	624 <sup>a</sup>	15045 <sup>a</sup>	9069 <sup>a</sup>	1493 <sup>ab</sup>	347 <sup>abc</sup>	49,9 <sup>a</sup>	1,97 <sup>a</sup>	14,6 <sup>a</sup>	35,9 <sup>a</sup>	18,9 <sup>a</sup>
2	550 <sup>a</sup>	14765 <sup>a</sup>	10873 <sup>ab</sup>	1878 <sup>a</sup>	1166 <sup>d</sup>	65,4 <sup>a</sup>	2,22 <sup>a</sup>	13,5 <sup>abc</sup>	36,4 <sup>a</sup>	24,7 <sup>a</sup>
3	904 <sup>b</sup>	8789 <sup>b</sup>	13138 <sup>b</sup>	1834 <sup>a</sup>	275 <sup>abc</sup>	37,4 <sup>a</sup>	2,24 <sup>a</sup>	10,8 <sup>b</sup>	21,0 <sup>a</sup>	21,5 <sup>a</sup>
4	593 <sup>a</sup>	14670 <sup>a</sup>	10205 <sup>ab</sup>	1619 <sup>ab</sup>	380 <sup>ac</sup>	55,5 <sup>a</sup>	2,28 <sup>a</sup>	14,4 <sup>ac</sup>	35,8 <sup>a</sup>	15,9 <sup>a</sup>
5	513 <sup>a</sup>	14663 <sup>a</sup>	9803 <sup>ab</sup>	1756 <sup>ab</sup>	1214 <sup>d</sup>	56,7 <sup>a</sup>	2,15 <sup>a</sup>	13,8 <sup>abc</sup>	31,5 <sup>a</sup>	15,8 <sup>a</sup>
6	1222 <sup>c</sup>	7788 <sup>b</sup>	7617 <sup>a</sup>	1321 <sup>b</sup>	210 <sup>a</sup>	36,4 <sup>a</sup>	1,64 <sup>a</sup>	12,9 <sup>abc</sup>	23,0 <sup>a</sup>	15,6 <sup>a</sup>
7	623 <sup>a</sup>	14931 <sup>a</sup>	10298 <sup>ab</sup>	1610 <sup>ab</sup>	428 <sup>c</sup>	38,8 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	15,3 <sup>a</sup>	27,8 <sup>a</sup>	16,2 <sup>a</sup>
8	591 <sup>a</sup>	15446 <sup>a</sup>	8918 <sup>a</sup>	1589 <sup>ab</sup>	1100 <sup>d</sup>	43,8 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	13,2 <sup>abc</sup>	27,5 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>
9	928 <sup>b</sup>	8531 <sup>b</sup>	10269 <sup>ab</sup>	1537 <sup>ab</sup>	256 <sup>ab</sup>	42,8 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	11,2 <sup>bc</sup>	20,7 <sup>a</sup>	17,3 <sup>a</sup>
<b>F-test</b>	36,32	70,47	5,92	4,54	250,5	1,84	2,142	7,29	1,63	2,70
<b>p≤*</b>	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	n.s.	n.s.	0,05	n.s.	n.s.

\* hladina významnosti

V tomto pokusu byla hodnocena i aktivita kyselé fosfatázy. Zde však aplikace BE nezpůsobila průkazné rozdíly mezi variantami.

Další podrobnější výsledky z nádobového pokusu jsou publikovány v článku Influence of Bioeffectors Application on Maize Growth, Yields and Nutrient Uptake, a výstup z polních pokusů je publikován v článku Use of Active Microorganisms of *Pseudomonas* genus during Cultivation of Maize in Field Conditions. Více informací o bioefektorech a vlivu jejich aplikace jsou blíže popsány v člancích Microorganisms in Plant Protection a Use of Active Microorganisms in Crop Production.



## 7. ZÁVĚR

V rámci této disertační práce byla založena řada nádobových i polních pokusů s bioefektory. Cílem této disertační práce bylo posoudit vliv aplikace bioefektorů samotných nebo v kombinaci P-hnojivy při pěstování rostlin (kukuřice a pšenice) a jejich vliv na výnos, růstové parametry nadzemní a kořenové části rostlin, odběr vybraných prvků rostlinou a obsah prvků v nadzemní hmotě rostlin, a to v rámci nádobových a polních pokusů. Zpočátku byly bioefektory testovány pouze v půdách s nízkým nebo vyhovujícím obsahem P, bez ohledu na další půdní vlastnosti. Vzhledem k řadě neprůkazných výsledků byl v pozdějších fázích práce výběr půd uzpůsoben tak, aby co nejvíce odpovídaly podmínkám, kde byly testované mikroorganismy izolovány. V rámci všech pokusů byl sledován zejména vliv aplikace bioefektorů na růstové parametry rostliny a příjem vybraných živin (zejména P) rostlinou. Během některých pokusů však byla pozorována a hodnocena i řada dalších parametrů.

Ačkoli autoři publikací zaměřených na bioefektory ve většině případů popisují jejich průkazně pozitivní vliv, v rámci této disertační práce se průkazně pozitivní výsledky vyskytly jen zřídka. Podobně tomu bylo i u výsledků 21 zahraničních partnerů projektu Biofactor, v rámci kterého byla práce řešena. Pozitivní výsledky uváděné v literatuře pocházejí obvykle z krátkodobých laboratorních testů, kdy je využit jiný pěstební substrát, nežli půda. Popis pozitivního vlivu bioefektorů uvedený v mnoha studiích lze přičítat snažší publikovatelnosti průkazně pozitivních výsledků a tlaku firem produkujících tyto výrobky.

Většina autorů, kteří popisují pozitivní působení bioefektorů, publikuje výsledky získané z pokusů, které byly uskutečněné ve zcela řízených laboratorních podmínkách (Buysens et al. 2016; Chagas et al. 2016; Paradiso et al. 2017), nebo v částečně řízených podmínkách nádobových pokusů (Gupta et al. 2016; Wang et al. 2016; El-Gremi et al. 2017). V těchto podmínkách mohou přípravky a jejich účinné látky (mikroorganismy) působit odlišně, nežli v podmínkách polních, a proto je třeba se na tuto oblast ještě více zaměřit. V polních podmínkách dochází pravděpodobně po aplikaci bioefektorů ke konkurenčnímu vztahu mezi účinnou složkou použitých preparátů a půdními, přirozeně se vyskytujícími mikroorganismy na daném stanovišti.

Z tohoto důvodu je pozitivní vliv aplikace bioefektorů v rostlinné produkci nedostatečně podložen a popsán. Je také pravděpodobné, že díky snadnější publikovatelnosti pozitivních výsledků studií dochází k celkovému nadhodnocení potenciální účinnosti bioefektorů.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., John, R., Egamberdieva, D., Guzel, S. 2015. Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*. 6. 868.

Altuhaish, A., Hamim, Tjahjoleksono, A. 2014. Biofertilizer effects in combination with different drying system and storage period on growth and production of tomato plant under field conditions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 26 (8). 716-722.

Aulakh M. S., Wassmann R., Bueno C., Kreuzwieser J., Rennenberg H. 2001. Characterization of root exudates at different growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Biology*. 3 (2). 139-148.

Baudoin, E., Benizri, E., Guckert, A. 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*. 35 (9). 1183-1192.

Beckie, H. J., Schlechte, D., Moulin, A. P., Gleddie, S. C., Pulkinen, D. A. 1998. Response of alfalfa to inoculation with *Penicillium bilaii* (Provide). *Canadian Journal of Plant Science*. 78 (1). 91-102.

Blom, J., Rueckert, Ch., Niu, B., Wang, Q., Borriss, R. 2012. The Complete Genome of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* CAU B946 Contains a Gene Cluster for Nonribosomal Synthesis of Iturin A. *Journal of Bacteriology*. American Society for Microbiology. 194 (7). 1845-1846.

Brutti, L., Alvarado, P., Rojas, T., Martensson, A. 2015. Tomato seedling development is improved by a substrate inoculated with a combination of rhizobacteria and fungi. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*. 65 (2). 170-176.

Buysens, C., Cesar, V., Ferrais, F., de Boulois, H. D., Declerck, S. 2016. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum*

increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. *Applied Soil Ecology*. 105. 137-143.

Chagas, L. F. B., De Castro, H. G., Colonia, B. S. O., De Carvalho, M. R., Miller, L. D., Chagas, A. F. 2016. Efficiency of *Trichoderma* spp. as a growth promoter of cowpea (*Vigna unguiculata*) and analysis of phosphate solubilization and indole acetic acid synthesis. *Brazilian Journal of Botany*. 39 (2). 437-445.

Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., Morgenstern, B., Voss, B., Hess, R. W., Reva, O., Junge, H., Voigt, B., Jungblut, R. P., Vater, J., Süßmuth, R., Liesegang, H., Strittmatter, A., Gottschalk, G., Borriss, R. 2007. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nature Biotechnology*. 25 (9). 1007-1014.

Chowdhury S. P., Hartmann A., Gao X. W., Borriss R. 2015. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Frontiers in Microbiology*. 6. 780.

Claus, D., Berkeley, R. C. W. 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1872. In: Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., Holt, J. G. (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins. Baltimore. p. 1105-1139. ISBN: 0-683-07893-3.

Craigie, J. S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*. 23 (3). 371-393.

Cunningham, J. E., Kuiack, C. 1992. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaiae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 58 (5). 1451-1458.

Dennis, C., Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions. The British Mycological Society*. Cambridge University Press. 57 (1). 41-48.

Do Vale, L. H. F., Gómez-Mendoza, D. P., Kim, M. S., Pandey, A., Ricart, C. A. O., Filho, E. X. F., Sousa, M. V. 2012. Secretome analysis of the fungus *Trichoderma harzianum* grown on cellulose. *Proteomics*. 12 (17). 2716-2728.

Dominguez, S., Rubio, M. B., Cardoza, R. E., Gutierrez, S., Nicolas, C., Bettioli, W., Hermosa, R., Monte, E. 2016. Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase *amdS* gene. *Frontiers in Microbiology*. 7. 1182.

Duo-Chuan L. 2006. Review of fungal chitinases. *Mycopathologia*. 161 (6). 345-360.

Egle K., Romer W., Keller H. 2003. Exudation of low molecular weight organic acids by *Lupinus albus* L., *Lupinus angustifolius* L. and *Lupinus luteus* L. as affected by phosphorus supply. *Agronomie*. 23 (5-6). 511-518.

El-Gremi, S. M., Draz, I. S., Youssef, W. A. E. 2017. Biological control of pathogens associated with kernel black point disease of wheat, *Crop Protection*. 91. 13-19.

Elansary, H. O., Skalicka-Wozniak, K., King, I. W. 2016. Enhancing stress growth traits as well as phytochemical and antioxidant contents of *Spiraea* and *Pittosporum* under seaweed extract treatments. *Plant Physiology and Biochemistry*. 105. 310-320.

Ferreira, A., Pires, R., Rabelo, P., Oliveira, R., Luz, J., Brito, C. 2013. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian cerrado under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology*. 72. 103-108.

Ferrigo, D., Raiola, A., Rasera, R., Causin, R. 2014. *Trichoderma harzianum* seed treatment controls *Fusarium verticillioides* colonization and fumonisin contamination in maize under field conditions. *Crop Protection*. 65. 51-56.

Fröhlich, A., Buddrus-Schiemann, K., Durner, J., Hartmann, A., von Rad, U. 2012. Response of barley to root colonization by *Pseudomonas* sp. DSMZ 13134 under laboratory, greenhouse, and field conditions. *Journal of Plant Interactions*. 7 (1). 1-9.

Gholami, A., Shahsavani, S., Nezarat, S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) on germination, seedling growth and yield of maize. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 3 (1). 9-12.

Gomes, E. V., Costa, M. D., de Paula, R. G., de Azevedo, R. R., da Silva, F. L., Noronha, E. F., Ulhoa, C. J., Monteiro, V. N., Cardoza, R. E., Gutierrez, S. 2015. The cerato-platanin protein *Epl-1* from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection. *Scientific Reports*. 5. 1-13.

Gomez-Munoz, B., Pittroff, S. M., de Neergaard, A., Jensen, L. S., Nicolaisen, M. H., Magid, J. 2017. *Penicillium bilaii* effects on maize growth and P uptake from soil and localized sewage sludge in a rhizobox experiment. *Biology and Fertility of Soils*. 53 (1). 23-35.

Gravel, V., Antoun, H., Tweddell, R. J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology & Biochemistry*. 39. 1968-1977.

Gupta, R., Bisaria, V. S., Sharma, S. 2016. Response of rhizospheric bacterial communities of *Cajanus cajan* to application of bioinoculants and chemical fertilizers: A comparative study. *European Journal of Soil Biology*. 75. 107-114.

Harman, G. E., Howell, Ch. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. 2004a. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2 (1). 43-56.

Harman, G. E., Petzoldt, R., Comis, A., Chen, J. 2004b. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain t22 and maize inbred line mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*. 94 (2). 147-153.

He P., Hao K., Blom J., Rückert Ch., Vater J., Mao Z. C., Wu Y. X., Hou M. S., He P. B., He, Y.Q. et al. 2013. Genome sequence of the plant growth promoting strain *Bacillus*

*amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* B9601-Y2 and expression of mersacidin and other secondary metabolites. *Journal of Biotechnology*. 164. 281-291.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., Monte, E. 2012. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*. 158. 17-25.

Holečková, Z., Kulhánek, M., Balík, J. 2017. Use of active microorganisms in crop production - a review. *Journal of Food Processing & Technology*. 8 (10). 696.

Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*. 87 (1). 4-10.

Israr, D., Mustafa, G., KhanKhalid, S., Shahzad, M., Ahmad, N., Masood, S. 2016. Interactive effects of phosphorus and *Pseudomonas putida* on chickpea (*Cicer arietinum* L.) growth, nutrient uptake, antioxidant enzymes and organic acids exudation. *Plant Physiology and Biochemistry*. 108. 304-312.

Kadam, S. U., Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P. 2015a. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae. *Food Science + Technology. International Journal of Food Science and Technology*. 50 (1). 24-31.

Kadam, S. U., Pankaj, S. K., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., O'Donnell, C. P. 2015b. Development of biopolymer-based gelatin and casein films incorporating brown seaweed *Ascophyllum nodosum* extract. *Food Packaging and Shelf Life*. 6. 68-74.

Karamanos, R. E., Flore, N. A., Harapiak, T. J. 2010. Re-visiting use of *Penicillium bilaii* with phosphorus fertilization of hard red spring wheat. *Canadian Journal of Plant Science*. 90 (3). 265-277.

Katz, E., Demain, A. C. 1977. Peptide antibiotics of *Bacillus*: Chemistry, biogenesis, and possible functions. *Bacteriological Reviews. American Society for Microbiology*. 41 (2). 449-474.

Kifle M. H. and Laing M. D. 2016. Effects of selected diazotrophs on maize growth. *Frontiers in Plant Science*. 7. 1429.

Kolektiv autorů. *Bacillus subtilis* final risk assessment. Biotechnology program under the toxic substances control act (TSCA). Attachment I. – Final risk assessment of *Bacillus subtilis* [online]. Environmental protection agency. 1997 [cit. 2015-10-23]. Dostupné z <[http://www.agriculturedefensecoalition.org/sites/default/files/pdfs/4M\\_2009\\_EPA\\_Website\\_2009\\_Bacillus\\_Subtilis\\_Final\\_Risk\\_Assessment.pdf](http://www.agriculturedefensecoalition.org/sites/default/files/pdfs/4M_2009_EPA_Website_2009_Bacillus_Subtilis_Final_Risk_Assessment.pdf)>.

Korzybski, T., Kowszyk-Gindifer, Z., Kurylowicz, W. 1978. Antibiotics isolated from the genus *Bacillus* (*Bacillaceae*) In: Antibiotics - Origin. Nature and Properties. Vol. III. American Society of Microbiology. Washington. DC. p. 1529-1661.

Kröber, M., Wibberg, D., Grosch, R., Eikmeyer, F., Verwaaijen, B., Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Puhler, A., Schluter, A. 2014. Effect of the strain *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on the microbial community in the rhizosphere of lettuce under field conditions analyzed by whole metagenome sequencing. *Frontiers in Microbiology*. 5. 252.

Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., Alloni, G., et al. 1997. The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*. 390 (6657). 249-256.

Lagerlöf, J., Ayuke, F., Bejai, S., Jorge, G., Lagerqvist, E., Meijer, J., Muturi, J., Söderlund, S. 2015. Potential side effects of biocontrol and plant-growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens* bacteria on earthworms. *Applied Soil Ecology*. 96. 159-164.

Liang, T. W., Tseng, S. C., Wang, S. L. 2016. Production and characterization of antioxidant properties of exopolysaccharide(s) from *Peanibacillus mucilaginosus* TKU032. *Marine Drugs*. 14 (2). 40.

Liu, Y., Yan, T., Li, Y., Cao, W., Pang, X., Wu, D., Wei, Q. 2015. A simple label-free photoelectrochemical immunosensor for highly sensitive detection of aflatoxin B<sub>1</sub> based on CdS–Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanocomposites. *RSC Advances*. 5 (25). 19581-19586.

López-Valdez, F., Fernández-Luqueño, F., Ceballos-Ramírez, J. M., Marsch, R., Olalde-Portugal, V., Dendooven, L. 2011. A strain of *Bacillus subtilis* stimulates sunflower growth (*Helianthus annuus* L.) temporarily. *Scientia Horticulturae*. 128 (4). 499-505.

Lošák, T., Hlušek, J., Lampartová, I., Elbl, J., Mühlbachová, G., Čermák, P., Antonkiewicz, J. 2016. Changes in the content of soil phosphorus after its application into chernozem and haplic luvisol and the effect on yields of barley biomass. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 64 (5). 1603-1608.

Lu, J. J., Xue, A. Q., Cao, Z. Y., Yang, S. J., Hu, X. F. 2014. Diversity of plant growth-promoting *Paenibacillus mucilaginosus* isolated from vegetable fields in Zhejiang, China. *Annals of Microbiology*. 64 (4). 1745-1756.

Luscombe, P. C., Syers, J. K., Gregg, P. E. H. 1979. Water extraction as a soil testing procedure for phosphate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 10 (11). 1361-1369.

Ma, X., Wang, X., Cheng, J., Nie, X., Yu, X., Zhao, Y., Wang, W. 2015. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and its biocontrol efficiency against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Biological Control*. 90. 34-41.

Ma, M., Wang, Z., Li, L., Jiang, X., Guan, D., Cao, F., Chen, H., Wang, X., Shen, D., Du, B., Li, J. 2012. Complete genome sequence of *Paenibacillus mucilaginosus* 3016, a bacterium functional as microbial fertilizer. *Journal of Bacteriology*. 194 (10). 2777-2778.

Mader, P., Száková, J., Miholová, D. 1998. Classical dry ashing of biological and agricultural materials. Part II. Losses of analytes due to their retention in an insoluble residue. *Analysis*. 126. 121-129.

Mehlich, A. 1984. Mehlich-3 soil test extractant: A modification of Mehlich-2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 15. 1409-1416.



Michalak, I., Chojnacka, K., Dmytryk, A., Wilk, R., Gramza, M., Rój, E. 2016. Evaluation of supercritical extracts of algae as biostimulants of plant growth in field trials. *Frontiers in Plant Science*. 7. 1591.

Nakahara, S., Kusano, M., Fujioka, S., Shimada, A., Kimura, Y. 2004. Penipratynolene, a novel nematicide from *Penicillium bilaiae* Chalabuda. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 68 (1). 257-259.

Nezarat, S. and Gholami, A. 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 12 (1). 26-32.

Neumann G. 2012. EU-funded research collaboration on use of bio-effectors in agriculture launched [online]. University of Hohenheim. 2012 [cit. 2014-10-15]. Dostupné z <<http://www.bioeffector.info/about-bioeffector.html>>.

Neumann, G., Römheld, V. 2002. Root-induced changes in the availability of nutrients in the rhizosphere. In: Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U. (eds.). *Plant roots: The Hidden Half*. Marcel Dekker. p. 617-649.

Paradiso, R., Arena, C., De Micco, V., Giordano, M., Aronne, G., De Pascale, S. 2017. Changes in leaf anatomical traits enhanced photosynthetic activity of soybean grown in hydroponics with plant growth-promoting microorganisms. *Frontiers in Plant Science*. 8. 674.

Priest, F. G., Goodfellow, M., Shute, L. A., Berkeley, R. C. W. 1987. *Bacillus amyloliquefaciens* sp - nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 37 (1). 69-71.

Raja, U. *Trichoderma harzianum* [online]. Greenmax Agro Tech. India. 2007 [cit. 2014-05-23]. Dostupné z <<http://www.greenmaxagrotech.com/enquiry.html>>.

Ram, H., Malik, S. S., Dhaliwal, S. S., Kumar, B., Singh, Y. 2015. Growth and productivity of wheat affected by phosphorus-solubilizing fungi and phosphorus levels. *Plant, Soil and Environment*. 61 (3). 122-126.

Rayirath, P., Benkel, B., Hodges, D. M., Allan-Wojtas, P., Mackinnon, S., Critchley, A. T., Prithiviraj, B. 2009. Lipophilic components of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 230 (1). 135-147.

Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., Harvey, P. R. et al. 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*. 349 (1-2). 121-156 SI.

Rioux, L. E., Turgeon, S. L., Beaulieu, M. 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers*. 69 (3). 530-537.

Samuels, G. J., Chaverri, P., Farr, D. F., McCray, E. B. *Trichoderma* [online]. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory. The Regents of the University of California. 2014 [cit. 2011-02-24]. Dostupné z <<http://genome.jgi.doe.gov/Trihal/Trihal.home.html>>.

Sen, A., Srivastava, V. K., Singh, R. K., Singh, A. P., Raha, P., Ghosh, A. K., De, N., Rakshit, A. et al. 2015. Soil and plant responses to the application of *Ascophyllum nodosum* extract to no-till wheat (*Triticum aestivum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 46 (1). 123-136.

Sommer K. 2005. CULTAN-Düngung. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen. 218 p.

Tabatabai, M. A., Bremner, J. M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 1 (4). 301-307.

Talboys, P. J., Owen, D. W., Healey, J. R., Withers, P. J. A., Jones, D. L. 2014. Auxin secretion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 both stimulates root exudation and limits phosphorus uptake in *Triticum aestivum*. *BMC Plant Biology*. 14. 51.

Tam, N. K. M., Uyen, N. Q., Hong, H. A., Duc, L. H., Hoa, T. T., Serra, C. R., Henriques, A. O., Cutting, S. M. 2006. The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. *Journal of Bacteriology*. 188 (7). 2692-2700.

- Tang, J., Qi, S., Li, Z., An, Q., Xie, M., Yang, B., Wang, Y. 2014. Production, purification and application of polysaccharide-based bioflocculant by *Paenibacillus mucilaginosus*. *Carbohydrate Polymers*. 113. 463-470.
- Travaglia, C., Masciarelli, O., Fortuna, J., Marchetti, G., Cardozo, P., Lucero, M., Zorza, E., Luna, V., Reinoso, H. 2015. Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp and *Pseudomonas* sp. *Crop protection*. 77. 102-109.
- Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Gunes, A., Karagoz, K., Kotan, R., Dursun, A. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 38 (3). 327-333.
- Vallabhaneni S. D. 2016. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed beds using *Pseudomonas fluorescens*. *Agricultural Research*. 5 (2). 137-144.
- Vessey, K. J., Heisinger, K. G. 2001. Effect of *Penicillium bilaii* inoculation and phosphorus fertilisation on root and shoot parameters of field-grown pea. *Canadian Journal of Plant Science*. 81 (3). 361-366.
- Wang, P., Wu, S. H., Wen, M. X., Wang, Y., Wu, Q. S. 2016. Effects of combined inoculation with *Rhizophagus intraradices* and *Paenibacillus mucilaginosus* on plant growth, root morphology, and physiological status of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under different levels of phosphorus. *Scientia Horticulturae*. 205. 97-105.
- Yang, T. Y., Liu, G. L., Li, Y. C., Zhu, S. M., Zou, A. L., Qi, J. L., Yang, Y. H. 2012. Rhizosphere microbial communities and organic acids secreted by aluminum-tolerant and aluminum-sensitive soybean in acid soil. *Biology and Fertility of Soils*. 48 (1). 97-108.
- Zhang, Y., Peng, Y., Peng, Y. F., Li, X. X., Chen, F. J., Li, Ch. J. 2012. Fine root patterning and balanced inorganic phosphorus distribution in the soil indicate distinctive adaptation of maize plants to phosphorus deficiency. *Soil Science Society of China. Pedosphere*. 22. 870-877.

## **SEZNAM PUBLIKACÍ K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE**

### **Vědecké publikace s IF**

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2018. Influence of bioeffectors application on maize growth, yields and nutrient uptake. *International Journal of Plant Sciences*. In press

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2018. Microorganisms in plant protection. *International Journal of Plant Sciences*. In press

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Hakl, J., Balík, J. 2018. Use of active microorganisms of *Pseudomonas* genus during cultivation of maize in field conditions. *Plant, Soil and Environment*. 64: 26-31.

### **Další vědecké publikace s IF**

Dvořák, T., Száková, J., Vondráčková, S., Košnář, Z., **Holečková, Z.**, Najmanová, J., Tlustoš, P. 2017. Content of inorganic and organic pollutants and their mobility in bottom sediment from the Orlík water reservoir (Vltava River, Czech Republic). *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 1549-7887.

Száková, J., Burešová, A., Praus, L., García-Sánchez, M., **Holečková, Z.**, Gabriel, J., Sysalová, J., Červenka, R., Komárek, J., Grohová, S., Tlustoš, P. 2016. The response of mercury (Hg) transformation in soil to sulfur compounds and sulfur-rich biowaste application. *Environmental Earth Sciences*. 75. 584.

García-Sánchez, M., Klouza, M., **Holečková, Z.**, Tlustoš, P., Száková, J. 2016. Organic and inorganic amendment application on mercury-polluted soils: effects on soil chemical and biochemical properties. *Environmental Science and Pollution Research*. 23. 14254-14268

### **Recenzované publikace**

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2017. Use of active microorganisms in crop production - a review. *Journal of Food Processing & Technology*. 8 (10). 696.

### **Příspěvky v časopisech/sbornících umístěných na Web of science**

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2017. Aplikace bioefektorů při pěstování kukuřice v polních podmínkách. Racionální použití hnojiv. 30.11.2017, Praha. ČZU v Praze. 77-80. ISBN: 978-80-213-2793-1.

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2016. Vliv aplikace bioefektorů na výnos sušiny, odběr a obsah vybraných makroprvků nadzemní hmotou kukuřice. Racionální použití hnojiv. 30.11.2016. Praha. ČZU v Praze. 97-100. ISBN: 978-80-213-2691-0.

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2015. Vliv aplikace bioefektorů na růst a sušinu nadzemní hmoty kukuřice. Racionální použití hnojiv. 26.11.2015. Praha. ČZU v Praze. 95-98. ISBN: 978-80-213-2594-4.

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2014. Vliv aplikace bio-efektorů na růst a výnos sušiny kukuřice. Racionální použití hnojiv. 27.11.2014. Praha. ČZU v Praze. 80-83. ISBN: 978-80-213-2511-1.

Kovářík, J., Černý, J., Shejbalová, Š., **Holečková, Z.**, Mitura, K., Lipínska, K. J., Balík, J. 2014. Dynamika obsahu minerálního dusíku v půdě při různém hnojení dusíkem. Racionální použití hnojiv. 27.11.2014. Praha. ČZU v Praze. 92-95. ISBN: 978-80-213-2511-1.

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Černý, J., Kaplan, L., Balík, J. 2013. Využití neseparovaného digestátu jako zdroje živin pro pěstování gazánie (*Gazania regens*). Racionální použití hnojiv. 28.11.2013. Praha. ČZU v Praze. 89-92. ISBN: 978-80-213-2416-9.

Kulhánek, M., Černý, J., Kaplan, L., **Holečková, Z.**, Balík, J. 2012. Využití neseparovaného digestátu jako součásti substrátu pro pěstování bazalky (*Ocimum basilicum* L.). Racionální použití hnojiv. 29.11.2012. Praha. ČZU v Praze. 136-141. ISBN: 978-80-213-2331-5.

### **Ostatní příspěvky v nerecenzovaných časopisech a na konferencích**

**Holečková, Z.**, Drešlová, M., Kulhánek, M. 2016. Vliv aplikace bioefektorů na růst, odběr živin, výnos a procento sušiny u kukuřice v nádobových a polních podmínkách. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. 12.-14.9.2016. Praha. ČZU v Praze. 104-109. ISBN: 978-80-813-2681-1

Drešlová, M., Hanč, A., **Holečková, Z.** 2016. Vliv vybraných faktorů na vlastnosti výluhů z vermikompostu. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. 12.-14.9.2016. Praha. ČZU v Praze. 40-43. ISBN: 978-80-813-2681-1; 978-80-89408-25-2.

Chládek, L., **Holečková, Z.**, Vaculík, P. 2016. Different ways of fertilizer application together with bio-effectors for maize biotope. Book of abstracts. 6th International Conference on Trends in Agricultural Engineering 2016 - Part I. 7.-9.9.2016. Prague. Czech republic. 206-210. ISBN: 978-80-213-2649-1.

**Holečková, Z.**, Kulhánek, M., Balík, J. 2015. Testování bioefektorů se zaměřením na růst, výnos a podíl sušiny kukuřice. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin. 16.-17.9.2015, Praha. ČZU v Praze. 246-249. ISBN: 978-80-813-2567-8.

Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů

Česká zemědělská univerzita  
v Praze  
Kamýcká 129  
165 21, Praha 6 - Suchbát

[www.af.czu.cz](http://www.af.czu.cz)