

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Vodné výluhy z vermikompostu**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Lukáš Horných**

**Vedoucí práce: Ing. Aleš Hanč, Ph.D.**

**Konzultant práce: Ing. Barbora Petráčková**

© 2014 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vodné výluhy z vermikompostu" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11. dubna 2014

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Aleši Hančovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup a cenné rady, které mi poskytl jako vedoucí mé bakalářské práce. Dále děkuji paní ing. Barboře Petráčkové za konzultace týkající se metodik pro stanovování počtů sledovaných skupin mikroorganismů ve vodných výluzích z vermikompostů a v surových vermikompostech.

# Vodné výluhy z vermikompostu

## Souhrn

Tato práce popisuje základní problematiku výroby vodných výluhů z vermikompostu, mapuje jejich účinky, vysvětluje možné mechanismy těchto účinků a uvádí možnosti využití těchto roztoků v praxi. Práce svým zaměřením cílí také na mikrobiologii vodných výluhů z vermikompostu i na mikrobiologii prosesu vermikompostování obecně. Záměrem praktické části této práce bylo popsat vliv výchozích materiálů použitých k výrobě vermikompostů, stejně tak i vliv aerace a celkové doby extrakce na počty následujících tří skupin bakterií ve vodných výluzích z vermikompostu. Sledovanými skupinami mikroorganismů byly bakterie rodu *Azotobacter*, vyznačující se schopností fixovat vzdušný dusík, dále P - solubilizující bakterie schopné transformovat ve vodě málo rozpustné fosfáty na formy rozpustné. Poslední sledovanou skupinou bakterií byly hnilobné proteolytické bakterie, zapříčiňující rozklad materiálů organického původu. Aktivita a role těchto i dalších skupin mikroorganismů, se zdá být zásadní k pochopení mechanismu pozitivních účinků surových vermikompostů i jejich vodných výluhů. Výchozími vermikompostovanými materiály byly: koňský hnůj, digestát, matolina, jablečné výlisky a kuchyňský bioodpad. Během celého experimentu bylo vyprodukováno celkem 50 odlišných typů vodných výluhů z vermikompostu, lišících se jednak typem výchozího vermikompostu, celkovou dobou extrakce – 1 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, a přítomností či absencí aerace v procesu výroby. Následné stanovování počtů sledovaných mikroorganismů ve vodných výluzích z výše uvedených vermikompostů i v samotných surových vermikompostech probíhalo vždy ve třech opakováních. Pozornost byla věnována jednak trendům nárůstu a poklesu počtů jednotlivých skupin mikroorganismů ve sledovaných výluzích v závislosti na prodlužující se době extrakce i na množství mikrobiální biomasy v závislosti na výchozím materiálu určeného k vermikompostování. Oproti očekávání nebyla ve většině případů u aerovaných výluhů pozorována výrazná zvýšení počtů sledovaných bakterií, často byly naopak zaznamenány poklesy počtů sledovaných mikroorganismů, ve srovnání s výluhy míchanými. V případě aerovaného výluhu na bázi kuchyňského bioodpadu však byly po celou dobu extrakce skutečně zaznamenány výrazně vyšší hodnoty počtů bakterií rodu *Azotobacter* ve srovnání s výluhem míchaným. Výsledná zjištění v trendech nárůstu a poklesu počtů kolonií bakterií v závislosti na zvyšující se době extrakce, vypovídají o značné odlišnosti vodných výluhů z vermikompostu na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu od ostatních typů roztoků. Tyto výluhy vykazovaly výrazný a kontinuální pokles počtů sledovaných mikroorganismů spolu s postupující dobou extrakce. U výluhů z vermikompostu na bázi digestátu a matoliny se z hlediska obsahů bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií v aerovaných i míchaných výluzích, zdá být optimální dobou extrakce 12 – 24 h. V případě aerovaných i míchaných výluhů z vermikompostu na bázi koňského hnoje se zdá být, vzhledem k počtu sledovaných mikroorganismů, optimální dobou extrakce 48 h. U výluhů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu by však optimální dobou extrakce měla být pouhá 1 h. Ovšem sledované počty výše zmíněných skupin mikroorganismů jsou jen malou částí komplexní studie a bez přihlídnutí k ostatním dílčím výsledkům nelze činit ohledně optimální doby extrakce, či efektivity aerace, jakékoli definitivní závěry.

**Klíčová slova:** výluh z vermikompostu, aerace, míchání, mikrobiologické parametry

# Aqueous extracts from vermicompost

## Summary

This thesis describes the basic problems of producing water extracts of vermicomposts, maps their effects, explains possible mechanism of these effects and mentions the possibilities of using these solutions in practice. The thesis also focuses on the microbiology of the aqueous extracts of vermicompost and microbiology of vermicomposting itself. The point of the practical part of this thesis was to describe the influence of the initial materials used for production of the vermicompost, as well as the influence of aeration and the total extraction time in relation to the count of following three groups of bacteria, appearing in water extracts of vermicompost. The monitored groups of microorganisms are the *Azotobacter* bacteria that are characterized by the ability to retain the aerial nitrogen, the P – solubilizing bacteria able to transform the low soluble phosphates to their soluble forms, and the last monitored group of bacteria is the putrid proteolytic bacteria that cause the decomposition of the organic materials. The activity of these bacteria, as well as activity of other groups of microorganisms, seems to be crucial to the understanding of the positive effects of the raw vermicomposts and their aqueous extracts. The initial vermicomposted materials were: the horse manure, digestate, grape marc, apple pomace and the household kitchen waste. During the whole experiment, there was the total of 50 different types of aqueous extracts of vermicompost produced. They differ in the type of vermicomposted material, in the total time of extraction – 1, 6, 12, 24 and 48 hours, and, at least, in the presence or absence of aeration during the procedure. The subsequent counting of monitored microorganisms in aqueous extracts from described vermicomposts and in the raw vermicomposts themselves was done three times. Attention was paid to the trends of increases and decreases of the quantity in each group of microorganisms in monitored extracts, in relation to increasing time of extraction, as well as to the amount of the microbial biomass in dependence to the material used for vermicomposting. Against all expectations, there was, in the most cases of aerated extracts, no substantial increase in number of monitored bacteria, often we even detected decrease of the bacterial mass, in comparison with the stirred extracts. However, in the case of aerated extract based on the kitchen waste, there was detected major increase of the count of the *Azotobacter* group bacteria, in comparison with the stirred extract indeed. The final findings in the trends of decreases and increases of the colonies of bacterial groups in relation to the duration of extraction, give evidence of particular differences between aqueous extracts based on the apple pomace and household kitchen waste on one side, and the other types of extracts on the other side. These types of extracts show large and continuous decrease of amount of the monitored microorganisms, following the increasing time of extraction. The optimal time of extraction, considering the amount of the *Azotobacter* bacteria, P - solubilizing bacteria and proteolytic bacteria, in aerated and stirred extractd based on digestate and grape marc, seems to be 12-24 hours. In the case of aerated and stirred extracts from vermicomposts based on the horse manure, in relation to the count of monitored microorganisms, the optimal duration of extraction seems to be 48 hours.

**Keywords:** vermicompost extract, aeration, stirring, microbiological parameters

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>10</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>10</b>
3.1 Srovnání procesů kompostování a vermikompostování .....	10
3.1.1 Termofilní kompostování .....	10
3.1.2 Vermikompostování .....	10
3.2 Vodné výluhy z vermikompostu .....	12
3.2.1 Proces výroby vodných výluhů z vermikompostu .....	14
3.2.1.1 Výchozí vermikompost a jeho poměr k vodě.....	14
3.2.1.2 Kvalita vody a její teplota .....	15
3.2.1.3 Doba trvání procesu extrakce .....	15
3.2.1.4 Mísení a aerace.....	16
3.2.1.5 Aditiva vodných výluhů .....	16
3.3 Mikrobiologie vermikompostu a vodných výluhů z vermikompostu.....	17
3.3.1 Vztah rostlin a půdních mikroorganismů. ....	17
3.3.2 Mikrobiologie vermikompostu .....	18
3.3.3 Mikrobiologické parametry vodných výluhů z vermikompostu .....	20
3.3.3.1 Vliv aditiv na mikrobiologické parametry vodných výluhů z vermikompostu.....	20
3.3.3.2 Vliv skladování vodných výluhů z vermikompostu na přítomné mikroorganismy .....	21
3.3.4 Bakterie rodu <i>Azotobacter</i> .....	23
3.3.5 P – solubilizující bakterie .....	23
3.3.6 Proteolytické bakterie .....	24
3.4 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na růst, výnosy a kvalitu plodin .....	24
3.4.1 Princip stimulace růstu rostlin vlivem vodných výluhů z vermikompostu .....	24
3.4.2 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na klíčení semen a růst sazenic .....	25
3.4.3 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na výnosy a kvalitu ošetřovaných plodin.....	26
3.5 Potenciální role vermikompostů a jejich výluhů v systémech ochrany rostlin.....	28
3.5.1 Mechanismy účinku vermikompostů a jejich vodných výluhů v potlačování původců onemocnění rostlin.....	28
3.5.2 Potlačování původců onemocnění rostlin aplikacemi vodných výluhů z vermikompostů .....	29
3.5.3 Mechanismy účinku vermikompostů a jejich vodných výluhů v potlačování škůdců rostlin.....	30
3.5.3.1 Mechanismy účinků produktů vermikompostování v potlačování škodlivých druhů členovců.....	30
3.5.3.2 Mechanismy účinků produktů vermikompostování v potlačování parazitických druhů hlístic.....	31

3.5.4 Potlačování škůdců rostlin aplikacemi vodných výluhů z vermikompostu .....	31
3.6 Možnosti využití vodných výluhů z vermikompostů v praxi.....	33
<b>4 Materiál a metody .....</b>	<b>33</b>
4.1 Příprava výchozích vermikompostů.....	33
4.2 Odběr a příprava vzorků vermikompostů ke stanovení počtů mikroorganismů .....	34
4.3 Příprava vodných výluhů z vermikompostů .....	34
4.4 Stanovení mikroorganismů v surových vermikompostech a jejich vodných výluzích...	34
4.5 Stanovení počtu bakterií rodu <i>Azotobacter</i> v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů .....	35
4.6 Stanovení počtů P – solubilizujících bakterií v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů .....	35
4.7 Stanovení počtu proteolytických mikroorganismů v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů .....	36
<b>5 Výsledky.....</b>	<b>37</b>
5.1 Počty bakterií rodu <i>Azotobacter</i> , P-solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií v surových vermikompostech .....	37
5.2 Trendy nárůstu a poklesu počtů kolonií bakterií rodu <i>Azotobacter</i> , P-solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií ve vodných výluzích z vermikompostů v závislosti na době extrakce.....	38
5.3 Počty bakterií rodu <i>Azotobacter</i> ve vodných výluzích z vermikompostů.....	42
5.4 Počty P – solubilizujících bakterií ve vod. výluzích z vermikompostů .....	42
5.5 Počty proteolytických bakterií ve vodných výluzích z vermikompostů .....	42
<b>6 Diskuze.....</b>	<b>43</b>
<b>7 Závěr .....</b>	<b>44</b>
<b>8 Seznam literatury.....</b>	<b>46</b>
<b>9 Přílohy.....</b>	<b>49</b>

# 1 Úvod

Naše západní společnost je producentem ohromného množství odpadu. Vedle běžných, dnes již i v naší domovině hojně recyklovaných odpadních materiálů, čekají na své širší využití i odpady biologické, skýtající v sobě velký potenciál, ať už se jedná o organické zbytky rostlin nejrůznějšího původu, biologické odpady potravinářského průmyslu, restaurací, domácností či problematické kaly čistíren odpadních vod. Přibližně 50 – 60 %, tedy většinu odpadů vyvážených na skládky, představuje odpad biologický. V současnosti se čím dál více, především z ekonomických důvodů, hledají pro tyto masy nijak nezpracovávaného a nevyužitého biologického materiálu možnosti dalšího využití. V zásadě se jedná buď o využití energetického rázu, jako je spalování biomasy či výroba bioplynu, nebo o využití v oblasti rostlinné produkce. Pokud by byla většina těchto odpadů recyklována na materiály využitelné v zemědělství a zahradnictví, představovalo by to značnou úsporu ve výdajích na zásobování rostlin základními živinami. Jedním z klíčových způsobů zužitkování takových odpadních materiálů je termofilní kompostování.

Bohužel většina tímto směrem zaměřených komerčních systémů cílí spíše na likvidaci odpadu než na jeho transformaci v materiál co nejvíce prospěšný pro půdu a rostliny. Náklady na výsledný produkt bývají často velmi vysoké a tak návratnost takové investice tkví často v úsporách za ušetřené místo na skládce (Edwards et al., 2011).

Jednou z možných alternativ termofilního kompostování může být vermikompostování, tedy rozklad organické hmoty pomocí vhodných druhů žížal ve vysoce hodnotný produkt, který přináší rostlinám a půdě značný prospěch. Další možností je úprava těchto surových kompostů či vermikompostů na formy usnadňující jejich následné použití, a to buď na granuláty umožňující aplikaci rozmetadly, nebo na výluhy aplikovatelné běžnými postřikovači. I přes zvýšený zájem o recyklaci biologických odpadů v poslední době, podíl nevyužitého biologického odpadu vyváženého na skládky je i nadále velmi vysoký a představuje tak značné rezervy v recyklaci. V současnosti se zejména v naší západní společnosti z mnoha dobrých důvodů klade důraz na udržitelný rozvoj s ohledy na životní prostředí. Zvyšování podílu recyklovaného biologického odpadu je tedy aktuálním tématem, pro který je nutné hledat podporu u široké veřejnosti, v odborných kruzích i oblastech státní správy. Teoretická část této bakalářské práce se zabývá pouze jednou z mnoha možností využití biologických odpadů – vermikompostováním, konkrétně možnostmi využití vodných výluhů z produktů tohoto procesu se zaměřením na jejich mikrobiologii.



## 2 Cíl práce

Cílem této práce je zjistit, jakým způsobem ovlivňuje doba extrakce, zařazení aerace a druh výchozího vermikompostovaného materiálu celkové počty bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií ve výsledných vodných výluzích z vermikompostu. Cílem je též srovnání těchto výsledků s jinými experimenty, jež se zabývaly podobnou problematikou. Snahou je též upozornit na mnohé z předností potenciálního využití těchto výluhů v praxi na základě celé řady experimentů.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Srovnání procesů kompostování a vermikompostování

#### 3.1.1 Termofilní kompostování

Kompostování a vermikompostování jsou dva nejznámější procesy pro biologickou stabilizaci organických zbytků. Při kompostování dochází ke zrychlené degradaci organické hmoty činností mikroorganismů za podmínek, při kterých rostlinný materiál prochází charakteristickou termofilní fází při teplotách 45-65 °C. Tyto teploty se vyznačují fyto-sanitárními účinky a dochází při nich k likvidaci patogenních mikroorganismů. Kompostování dělíme na dvě základní fáze. Na fázi termofilní, pro kterou jsou charakteristické intenzivní rozkladné procesy a na mezofilní fázi zrání, vyznačující se sníženou teplotou a pomalejším rozkladem organického materiálu. Doba trvání aktivní termofilní fáze závisí na vlastním složení kompostu, na vlhkosti i provzdušnění. Stejně tak se může lišit i délka fáze zrání, nicméně ani v ideálních podmínkách netrvá celý proces kompostování méně než 20 týdnů. Výsledkem je homogenní, humózní, mimořádně stabilní materiál. V současnosti se jedná o hlavní a časem prověřený způsob zpracování pevných biologických odpadů. Nevýhodou tohoto procesu jsou ovšem ztráty dusíku volatilizací v průběhu termofilní fáze (Edwards et al., 2011).

#### 3.1.2 Vermikompostování

Vermikompostování je výhradně mezofilním aerobním rozkladným procesem, ve kterém se snoubí rozkladná činnost mikroorganismů spolu s činností vhodných druhů žížal. Ačkoli jsou to opět mikroorganismy, které svými enzymy rozkládají organickou hmotu, klíčovou roli zde hrají žížaly. Ty svou činností provzdušňují, rozmělnují, mísí a fragmentují zpracovávaný substrát, čímž zvětšují i plochu jeho povrchu, a celkově tak tvoří lepší podmínky ke kolonizaci mikroorganismy a k rozkladu organické hmoty. Pro vermikompostování je typický masivní nárůst aktivity určitých druhů mikroorganismů, či naopak eliminace jiných druhů. Následkem toho dochází ke značné modifikaci fyzikálních, chemických a biologických vlastností substrátu i k jeho rychlejší stabilizaci (Edwards et al., 2011).

Žížaly hrají významnou roli v koloběhu uhlíku a pedogenezi, mají také svůj podíl na odbourávání celulózy. Mimoto jsou žížaly schopné pro svou vlastní potřebu zužitkovat poměrně malé množství přijímané potravy. Zpět do půdy pak vylučují značná množství této nevyužité, ovšem již částečně natrávené organické hmoty. Střevo žížal obsahuje širokou škálu mikroorganismů, enzymů a hormonů, které napomáhají následnému zrychlenému rozkladu vyloučeného materiálu a jeho transformaci na vermikompost, v ideálních podmínkách během 4-8 týdnů (Pathma et Sakthivel, 2012).

Stejně jako klasické kompostování, i vermikompostování se dělí na dvě fáze. V aktivní fázi dochází ke zpracování a modifikaci materiálu žížalami. Druhá fáze je obdobou fáze zrání a vyznačuje se přesunem populace žížal hledajících potravu do vrstev obsahujících nestrávený biologický odpad. Délka aktivní fáze se může značně lišit a závisí na konkrétním druhu žížal, na počtu jedinců v populaci a na jejich schopnosti přijímat organickou hmotu (Edwards et al., 2011).

Samotné vermikompostování je nicméně schopné v ideálním případě dvojnásobně až pětinasobně urychlit rozkladné procesy a zajistit tak celkově rychlejší transformaci dodaného materiálu v hodnotné organické hnojivo o lepší homogenitě v porovnání s produkty termofilního kompostování (Pathma et Sakthivel, 2012).

Vermikompost je vysoce porézní materiál s nízkým poměrem C:N připomínající svou konzistencí rašelinu. Kromě snadno dostupných forem živin, obsahuje i růstové hormony a regulátory produkované mikroorganismy. Technologie vermikompostování není doposud plně uzpůsobená k využívání ve větším průmyslovém měřítku, mimo jiné proto, že zde není zastoupena termofilní fáze a není tak plně zaručena likvidace případných patogenů, ačkoli některé studie svědčí o jejich dobrém a dostatečném potlačení. V některých případech je také zapotřebí před vlastním vermikompostováním provést úpravy zpracovávaného materiálu z důvodu možné kontaminace složkami, které jsou pro žížaly toxické. Takovými látkami jsou například amoniak, kyseliny nebo soli. Vhodným východiskem může být proto kombinace vermikompostování s klasickým kompostováním při kterém je zajištěna likvidace patogenů a složek toxických pro žížaly (Edwards et al., 2011).

Důležitou vlastností vermikompostování, které v této kombinaci následuje vždy až po klasickém kompostování, je změna forem celé řady živin na formy pro rostliny dostupnější. Vermikompost není jen hnojivo poskytující půdě, potažmo rostlinám, potřebné živiny, ale díky svým vlastnostem také významně přispívá k oživení půdního edafonu. Právě z těchto důvodů tedy můžeme vermikompost po právu považovat za nejlepší dostupné organické hnojivo (Devi et al., 2009).

V tabulce 1 nabízí Lakshmi et al. (2013) možnost srovnání jednotlivých parametrů při zpracování stejných výchozích materiálů technologií termofilního kompostování a vermikompostování.

Tabulka 1 - Hodnoty naměřené u materiálů, prošlých procesem termofilního kompostování

Materiál	pH	EC(dSm <sup>-1</sup> )	TOC (%)	N, P, K (%)			C/N	Mikroprvky (mg kg <sup>-1</sup> )			
				N	P	K		Zn	Fe	Mn	Cu
Odpad z cukr. třtiny	7.08	0.33	24.22	0.98	0.31	1.52	24.71	36	188	19	18
Tráva a plevel	7.25	0.47	23.12	1.68	0.76	1.20	13.76	52	245	38	22
Kuchyňský bioodpad	7.54	0.38	23.05	1.81	0.89	1.23	12.73	61	306	85	31
Rýžová sláma	7.18	0.40	23.89	0.96	0.22	1.60	24.89	33	174	22	19

Zdroj: Lakshmi et al. (2013)

Tabulka 2 - Hodnoty naměřené u materiálů, prošlých procesem vermikompostování.

Materiál	pH	EC(dSm <sup>-1</sup> )	TOC (%)	N, P, K (%)			C/N	Mikroprvky (mg kg <sup>-1</sup> )			
				N	P	K		Zn	Fe	Mn	Cu
Odpad z cukr. třtiny	7.20	0.36	24.62	1.14	0.46	1.61	21.59	61	294	32	28
Tráva a plevel	7.35	0.45	23.88	1.88	1.01	1.31	12.70	81	365	67	36
Kuchyňský bioodpad	7.40	0.34	23.92	2.11	1.22	1.45	11.33	89	412	98	57
Rýžová sláma	7.26	0.41	24.16	1.12	0.43	1.64	21.57	58	284	36	24

Zdroj: Lakshmi et al. (2013)

### 3.2 Vodné výluhy z vermikompostu

Vodné výluhy z vermikompostu mohou být definovány jako extrakty na vodní bázi ze surových vermikompostů obsahující mikroorganismy, rozpustné živiny a ostatní rostlinám prospěšné látky v tekuté formě (Edwards et al., 2011).

V posledních letech se celá řada, především menších pěstitelů po celém světě, snaží snížit svou spotřebu průmyslových hnojiv i pesticidů a experimentují s výrobou a využíváním vodných výluhů jak z klasických kompostů, tak z vermikompostů. Tyto roztoky mají proti surovým formám své nepopiratelné výhody, například snazší aplikaci i transport na místo užití. Pro všechny metody výroby vodných výluhů je vždy společný určitý způsob mísení surového vermikompostu s vodou (Arancon et al., 2007).

V další fázi rozlišujeme vodné výluhy dle způsobu extrakce na aerované a neaerované. V aerovaných vodných výluzích dochází ke kontinuálnímu aktivnímu provzdušňování roztoku v průběhu celého procesu výroby. Naproti tomu, při produkci neaerovaných vodných výluhů z kompostu či vermikompostu nedochází po počátečním smísení k žádným, nebo jen minimálním zásahům v průběhu procesu extrakce. Velkou výhodou aerovaných vodných výluhů je čas potřebný pro jejich přípravu, jenž většinou nepřekročí 1-2 dny, přičemž nedochází v tak velké míře k problémům s nepříjemným zápachem, jako u neaerovaných vodných výluhů, které vyžadují 1-2 týdny extrakce. V případě neaerovaných výluhů není kromě extrakční nádoby zapotřebí žádného zvláštního výrobního vybavení, což se spolu s nižšími energickými vstupy projevuje na celkově nižších nákladech. Produkce aerovaných výluhů je složitější, vyžaduje kontinuální míchací a vzduchovací zařízení schopné svými

výkony zajistit optimální podmínky ve velkých objemech tekutin. Zastánci aerace výluhů často argumentují nižším rizikem kontaminace roztoku lidskými patogeny v porovnání s výluhy neaerovanými, a to díky nízké konkurenceschopnosti těchto patogenů, včetně *E. coli*, v aerobních podmínkách. Těmto tvrzením nicméně doposud chybí opora v podobě potřebné dokumentace. Mnoho uživatelů výluhů z vermikompostu upřednostňuje neaerované vodné výluhy z kompostů či vermikompostů a to nejen z důvodu jednodušší přípravy, ale i z důvodu údajně lepší účinnosti jak ve stimulaci růstu rostlin, tak v potlačování jejich chorob (Radovich et Arancon, 2011).

Welke (2005) ovšem tvrdí, že oba typy výluhů vykazují v obou směrech srovnatelnou účinnost.

Naproti tomu Arancon et al. (2007) pozoruje při stejném času extrakce (24h) u aerovaných vodných výluhů z vermikompostu lepší růstové stimulační schopnosti ve srovnání s neaerovanými.

Tato rozdílná pozorování účinků výluhů v závislosti na způsobu jejich výroby svědčí o tom, že nelze obecně vyzdvihovat jedinou produkční metodu nad ostatní.

Jednou z možností zvyšování výsledné efektivity výluhů je jejich obohacování o dodané přírodní látky, takzvaná aditiva. Cílem těchto snažení by mělo být zvýšení mikrobiální aktivity výluhů a následné zlepšení jejich účinků. (Tab. 2). Ačkoliv jsou dnes výluhy z kompostů a vermikompostů již běžně dostupným produktem a jsou po celém světě vyráběny ve značných množstvích, neexistuje doposud uspokojivý počet vědeckých studií, se zaměřením na metody produkce těchto výluhů, jejich vlivu na růst rostlin, potlačování škůdců a chorob, nebo popsání případných vedlejších účinků (Arancon et al., 2007).

Výluhy z vermikompostů mají široké spektrum využití jak v zahradnictví, tak v zemědělství. Na rozdíl od svých surových protějšků, se tyto výluhy vyznačují unikátní možností přímé aplikace na list, nebo využitím jako zálivky s vysokou efektivitou, při relativně malých dávkách roztoku. Z hlediska kategorizace možných výluhů, se v případě vodných výluhů z vermikompostu jedná o jakousi podmnožinu, spadající do širší kategorie vodných výluhů z kompostů. Zatímco výroba, způsoby aplikace či mechanismy účinků všech těchto extraktů mohou být obdobné, vodné výluhy z vermikompostů se vždy daleko lépe a blíže specifikují spíše původním složením výchozího vermikompostu, ze kterého je roztok získáván. Tyto výluhy jsou poté, stejně jako jejich surové protějšky, bohatým zdrojem rostlinám prospěšných sloučenin a četné studie nasvědčují, že disponují obdobnou účinností (Edwards et al., 2011).

### 3.2.1 Proces výroby vodných výluhů z vermikompostu

Chemické a biologické charakteristiky výsledného výluhu se mohou značně lišit v závislosti na vstupním materiálu a variabilitě vlastního procesu extrakce. K zajištění výroby s vyrovnanou kvalitou výsledného produktu je nutné udržovat veškeré proměnné charakteristiky procesu výroby v co možná nejstálejších mezích. Vstupy a proměnné během výroby vodných výluhů z vermikompostu jsou tyto: vermikompost určitého původu a složení, kvalita vody a její teplota, případná aditiva, délka trvání celého procesu, různé druhy míchání, aerace, nebo jejich kombinace (Edwards et al., 2011).

#### 3.2.1.1 Výchozí vermikompost a jeho poměr k vodě

Vodné výluhy z vermikompostů jsou v zásadě koncentráty výchozích vermikompostů. Původ a složení extrahovaného vermikompostu proto hraje zásadní roli a představuje tak nejvýznamnější proměnnou v celém procesu výroby. Stálý a spolehlivý zdroj vermikompostu shodných vlastností tak minimalizuje možnost případné variability ve složení výsledných výluhů (Edwards et al., 2011).

Optimální poměr surového vermikompostu k vodě je pak závislý jednak na kvalitě tohoto kompostu, dále na metodě vlastního procesu extrakce, ale také na způsobu využití výsledného výluhu v praxi. Dodání příliš malého množství surového vermikompostu v poměru k vodě zapříčiní nízké koncentrace živin i mikroorganismů ve výluhu, naproti tomu dodání příliš velkého množství vermikompostu může mít za následek nedostatečnou a tedy neefektivní extrakci živin a mikroorganismů z vermikompostu do výsledného roztoku. Studie zaměřené na poměr surového kompostu k vodě byly v minulosti cíleny především na zjištění optimálního poměru z hlediska co nejefektivnějšího potlačování chorob rostlin. Výsledky byly často rozdílné. Ve většině těchto studií byly použity poměry v rozmezí 1:3 - 1:10 kompostu k vodě (Radovich et Arancon, 2011).

Při aplikacích výluhů z kompostů těchto koncentrací, zaznamenal Weltzien (1990) jejich výraznou schopnost potlačovat plíseň bramborovou (*Phytophthora infestans*), přičemž mezi roztoky vzniklých z poměrů 1:3 a 1:10 kompostu k vodě, nepozoroval žádný rozdíl v efektivitě suprese. Po aplikaci výluhů s poměrem 1:50 kompostu k vodě byl již efekt suprese ve srovnání s předchozími výluhy nižší.

Naproti tomu Welke (2005) zaznamenal rozdíly v efektivitě stimulace růstu i potlačování chorob již u výluhů s výchozími poměry 1:8 a 1:4 kompostu k vodě, přičemž zjistil, že výluhy s výchozím poměrem 1:8 vykazují vyšší efektivitu než výluhy s poměrem 1:4 kompostu k vodě.

Edwards et al. (2006) však nepozoruje výrazné rozdíly ve stimulaci růstu mezi výluhy s výchozími poměry 1:25, 1:12 a 1:10 vermikompostu k vodě.

Ačkoli některé ze studií naznačují, že limitním množstvím surového materiálu, z hlediska efektivní stimulace růstu i potlačování chorob, je u vodných výluhů poměr 1:10 vermikompostu k vodě, Pant et al. (2011) ve svých experimentech dokazuje, že pozitivní vliv na růst a výnosy ošetřovaných plodin mohou mít i vodné výluhy o výchozích poměrech 1:10 až 1:100 vermikompostu k vodě.

Za obecně nejefektivnější roztoky vodných výluhů z vermikompostu lze nicméně považovat roztoky o výchozích poměrech 1:5 až 1:20 vermikompostu k vodě. S ohledem na rozdílné způsoby využití těchto výluhů je možné koncentrovanější roztoky taktéž dodatečně ředit (Edwards et al., 2011).

### **3.2.1.2 Kvalita vody a její teplota**

Čistota vody je také významným faktorem, který může zásadně ovlivnit kvalitu výsledného produktu. Jakékoli nečistoty, pesticidy, těžké kovy, chlór, různé patogeny či ostatní nežádoucí příměsi ve vodě mohou ovlivnit růst přítomných mikroorganismů a zapříčinit tak problémy s výslednou kvalitou roztoku (Edwards et al., 2011).

Chlór a síra mohou být z vody, určené k produkci vodných výluhů z vermikompostu, odstraněny pomocí aerace (Ingham, 2005).

Voda taktéž působí svou konkrétní teplotou na jednotlivé druhy mikroorganismů, na rychlost jejich růstu i množení a ovlivňuje tak čas, nezbytný k dosažení požadované koncentrace mikroorganismů i čas potřebný k uvolnění rozpustných živin z vermikompostu do roztoku (Edwards et al., 2011).

Příliš vysoké teploty vody způsobují volatizaci živin ze vznikajícího roztoku a v extrémních případech mohou vést až k usmrcení přítomných mikroorganismů, příliš nízké teploty vody během procesu extrakce pak zpomalují růst populací těchto mikroorganismů (Ingham, 2005).

Teplota vody má také vliv na koncentraci kyslíku v roztoku a tedy i množství kyslíku využitelného přítomnými mikroorganismy (Edwards et al., 2011).

Za optimální pro výrobu vodných výluhů z kompostů i vermikompostů bývá považována teplota 30 °C.

### **3.2.1.3 Doba trvání procesu extrakce**

Délka vlastního procesu extrakce je důležitým faktorem z hlediska kvality a efektivity výsledného výluhu. Obecně by tedy celý proces měl probíhat minimálně do doby, dokud nedojde k uvolnění většiny rozpustných živin a mikroorganismů ze surového vermikompostu do roztoku vodného výluhu. Příliš krátká doba trvání procesu neumožní maximální možnou extrakci živin a mikroorganismů do roztoku, zatímco příliš dlouhá doba extrakce může neúměrně navýšit fixaci vyextrahovaných živin mikroorganismy ve formě živin již spotřebovaných, v důsledku čehož dojde k postupnému snižování aktivity těchto mikroorganismů z důvodu nedostatku potravy. (Ingham, 2005).

Vlastní extrakce požadovaných rozpustných látek a mikroorganismů ze surových vermikompostů probíhá poměrně rychle a je časově méně náročná než následný kultivační proces, který prodlužuje dobu celého procesu výroby, a při kterém dochází vlivem místních podmínek ke změnám ve složení populací přítomných mikroorganismů a ke změnám jejich počtů. Samotná délka procesu nemá tedy, od určitého momentu, zásadní dopad na koncentrace rozpustných látek v roztoku, má však značný vliv na biologické procesy v něm probíhající. Tyto procesy mohou následně ovlivňovat i chemické sloučeniny v roztoku obsažené (Edwards et al., 2011).

V praxi se může doba trvání celého „varného“ procesu lišit v závislosti na použité technologii extrakce, původu použitého vermikompostu i na způsobu využití výsledného výluhu. Neaerované vodné výluhy vyžadují, v porovnání s aerovanými, obecně delší dobu extrakce potřebnou k dosažení maximální kvality výsledného produktu (Radovich et Arancon, 2011).

Podle Weltziena (1991) je v případě neaerovaných vodných výluhů obvykle zapotřebí 5-8 dnů, v některých případech až 16 dnů extrakce, přičemž tato doba by měla údajně poskytnout dostatečný čas fakultativním anaerobním mikroorganismům k dosažení dominantního postavení.

Za optimální dobu extrakce pro aerované vodné výluhy bývá nejčastěji považováno 12-24 h, což je většinou dostačující doba pro dosažení maximálních stavů aktivních populací mikroorganismů v roztoku (Ingham, 2005).

Doba 24 hodin extrakce s nepřetržitou aerací a mícháním roztoku pak bývá při výrobě komerčních výluhů z vermikompostu nejběžnější (Edwards et al., 2011).

#### **3.2.1.4 Mísení a aerace**

Aerace vodných výluhů vyžaduje jednak zařazení vzduchového čerpadla do sestavy a dále pak přítomnost zařízení na výrobu vzduchových bublin v nádobě se vznikajícím roztokem. K tomuto účelu lze využít například vzduchovací kameny běžně používané v akvaristice, nebo perforované hadičky z PVC (Radovich et Arancon, 2011).

U všech druhů vodných výluhů je důvodem pro zařazení aerace a dalšího mísícího mechanismu do procesu výroby, snaha o vytvoření optimálních podmínek pro život a rozmnožování aerobních mikroorganismů v roztoku na úkor mikroorganismů anaerobních, jejichž vedlejší metabolické produkty mohou mít nepříznivé účinky na růst rostlin (Edwards et al., 2011).

#### **3.2.1.5 Aditiva vodných výluhů**

Zařazení aerace do procesu výroby vodných výluhů z kompostů a vermikompostů a obecné rozšíření používání těchto výluhů vedlo k mnoha pokusům s přídatnými látkami, sloužícími jako zdroj potravy pro mikroorganismy. Ačkoli nejsou tato aditiva nezbytnou součástí procesu výroby, mohou mít pozitivní vliv na rozvoj extrahovaných mikroorganismů v roztoku. Následný nárůst mikrobiální biomasy by tak měl zapříčinit zvýšení účinnosti výsledného produktu. K těmto účelům mohou být využity materiály jako je melasa, huminové kyseliny, mořské řasy, nerostné prášky, extrakty z kvasinek a mnoho dalších. Jejich podíl při výrobě v poměru k množstvím použitého vermikompostu je však obvykle relativně malý. Ve světě existuje řada komerčně nabízených směsí těchto aditiv, často nabízených samotnými výrobci sestav na výrobu výluhů (Edwards et al., 2011).

Vliv konkrétních druhů aditiv na populace mikroorganismů, je popsán v kapitole 3.3.3.1.

### 3.3 Mikrobiologie vermikompostu a vodných výluhů z vermikompostu

#### 3.3.1 Vztah rostlin a půdních mikroorganismů

Rhizosféra rostlin zahrnuje oblast povrchu kořenů a jimi prostoupenou zeminu v bezprostředním okolí. Toto specifické prostředí se vyznačuje důležitými a intenzivními interakcemi mezi rostlinou a půdou a jejím edafonem. Biochemické interakce a výměnná aktivita mezi rostlinami a půdními mikroorganismy jsou již popsány jevy. Tyto mikroorganismy, obývající rhizosféru a nacházející se ve vzájemných kompetičních vztazích, jsou v některých případech schopny zvyšovat svou konkurenční schopnost vůči ostatním mikroorganismům prostřednictvím symbiotických vztahů s rostlinami. Takto zvýhodněné mikroorganismy pak mohou mít značný vliv na růst, celkovou vitalitu i odolnost hostitelských rostlin vůči některým chorobám a škůdcům. Během klíčení semen i v průběhu počátečního růstu rostlina intenzivně interaguje s řadou mikroorganismů, přítomných v bezprostředním okolí jejich kořenů. Rostoucí organická hmota kořenů tak představuje hnací sílu rozvoje aktivních populací těchto mikroorganismů, ovšem pouze v oblasti rhizosféry, tedy v půdě do vzdálenosti několika málo milimetrů od kořene a na jeho povrchu. Tento efekt je nazýván efektem rhizosféry (Nehorimbere et al., 2011).

V porovnání s okolní nerhizosféry zeminou se oblast rhizosféry vyznačuje intenzivní mikrobiální aktivitou a zvýšenou mikrobiální biomasou. Počty mikroorganismů jsou v rhizosféře 19x až 32x vyšší než v neprokořeněné zemině. Některé z těchto bakterií, označované jako rhizobakterie, se vyznačují symbiotickými vlastnostmi. Rhizobakterie podporující růst rostlin a označované zkratkou (PGPR) jsou bakterie rodů *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* a mnoho dalších. Rhizobakterie PGPR jsou schopné ovlivňovat růst rostlin buď přímo syntézou podpůrných sloučenin a zpřístupňováním živin z okolního prostředí, nebo nepřímo oslabováním či eliminací škodlivých účinků fytopatogenních organismů. K tomu, aby mohly tyto mikroorganismy uplatnit své symbiotické funkce, musí kolonizovat buď bezprostřední okolí kořenů, povrch kořenů, nebo tkáň uvnitř kořenů. Nepatogenní symbiotické rhizobakterie jsou také schopné v rostlinách indukovat systémovou rezistenci fenotypově podobnou rezistenci vyvolanou patogeny (SAR). Účinky rhizobakteriálně indukované rezistence (ISR) byly doloženy při napadení rostlin houbami, bakteriemi i viry u druhů jako je fazol, okurka, ředkev, tabák a rajče, vždy v podmínkách, ve kterých byla rhizobakterie navozující rezistenci prostorově oddělena od skutečného patogenu. Rezistence ISR vyvolávaná PGPR rhizobakteriemi je schopná potlačovat choroby rostlin způsobené celou řadou patogenů a to jak v prostředí skleníků, tak v polních podmínkách. V menší míře byly publikovány i studie dokládající pozitivní vliv PGPR rhizobakterií na toleranci rostlin vůči abiotickým stresovým podmínkám prostředí jako je sucho, zasolení, nedostatek či nadbytek živin. Bakterie schopné fixace vzdušného dusíku nejsou zpravidla řazeny mezi PGPR rhizobakterie, nicméně v širším úhlu pohledu do této skupiny také patří (Maheshwari, 2010).



Aplikace organických a anorganických hnojiv k rostlinám ovlivňuje rhizosférní mikrobiální populace i fyzikální a chemické parametry půdy. Jak naměřil Das a Dkhar (2011), v porovnání s chlévským hnojem, klasickým kompostem a NPK hnojiv má vermikompost nejlepší stimulační vlastnosti a účinky na růst mikrobiálních populací v oblasti rhizosféry. Lze tedy předpokládat, že i účinnost vodných výluhů z vermikompostu bude obdobná. Následné změny ve fyzikálních a chemických parametrech substrátu, jakožto následku nárůstu mikrobiálních populací, tak zároveň znamenají i celkové zvýšení dostupnosti živin pro rostliny (Das et Dkhar, 2011).

### 3.3.2 Mikrobiologie vermikompostu

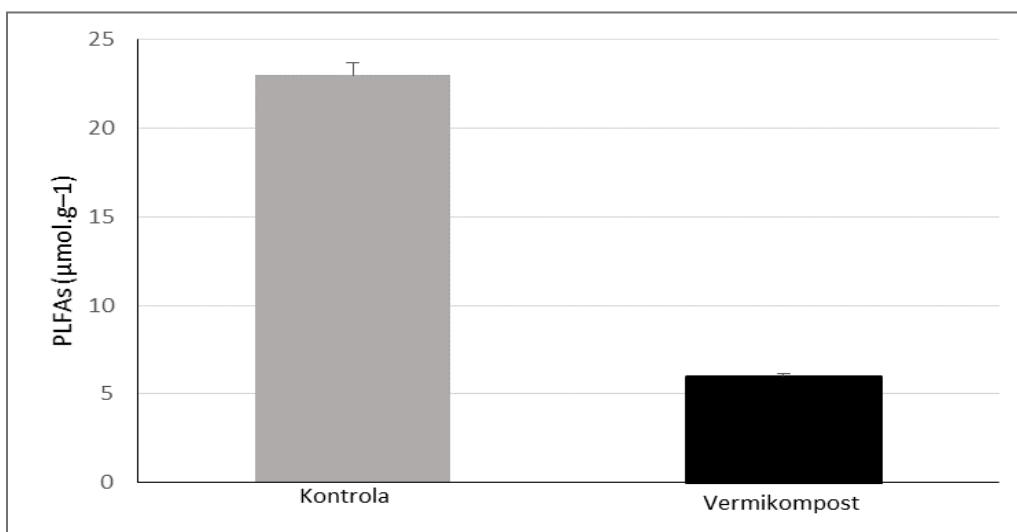
Vermikompostování je bio-oxidační rozkladný proces, založený na vzájemných komplexních vztazích mikroorganismů a žížal. Tisíce druhů těchto mikroorganismů představují nejpočetnější a zároveň i nejrozmanitější skupinu potravní sítě žížal (Edwards et al., 2011).

Během průchodu druhým svalnatým žaludkem žížal je potrava důkladně rozmělněna a následně vystavena účinkům trávicích enzymů, mikroorganismů i vlivům ostatních fermentačních procesů uvnitř jejich střeva. Ve střevním slizu žížal jsou obsaženy proteiny, polysacharidy, aminokyseliny a symbiotická mikroflóra. Zvýšený obsah organického i celkového uhlíku a dusíku ve střevu, spolu s jeho přirozenou vlhkostí pak představují ideální prostředí pro rozvoj mikroorganismů stimulujících růst rostlin, jako jsou bakterie rodů *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Azosprillum*, *Azotobacter*. Naproti tomu určité skupiny organismů jsou při průchodu zažívacím traktem žížal hubeny, například plísňe, protozoa, určité druhy kvasinek, a některé houby jako *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*. Taktéž bakterie *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* a *Salmonella enteritidis* jsou při průchodu trávicím traktem žížal eliminovány, jiné například *Bacillus cereus* var. *Mycooides* jen částečně (Pathma et Sakthivel, 2012).

Žížaly tak svou činností výrazně ovlivňují populace přítomných mikroorganismů jednak jejich selektivní stimulací, přímou eliminací zažívacím traktem, nebo nepřímo vyčerpáním zdrojů nezbytných pro jejich přežití. Ve výsledku pak dochází buď k nárůstu, nebo redukci celkové mikrobiální biomasy i aktivity, vždy v závislosti na výchozím materiálu. Pro vermikompostování jsou tedy typické modifikace ve společenstvích mikroorganismů v substrátu a efektivnější využívání dostupných zdrojů energie těmito mikroorganismy, což má za následek výrazné zrychlení rozkladných procesů (Edwards et al., 2011).

Rozdílný průběh modifikací společenství mikroorganismů v závislosti na výchozím materiálu dobře ilustrují dva experimenty zaměřené na aktivitu celkové mikrobiální biomasy během procesů vermikompostování. V prvním případě byla vermikompostována chlévská mrva hovězího dobytka, ve druhém průmyslové kaly a směs těchto kalů s drůbežím hnojem. Při vermikompostování chlévské mrvy hovězího dobytka naměřil Edwards et al. (2011) po 30 dnech celkový pokles životaschopné mikrobiální biomasy o cca 75 % ve srovnání s kontrolním vzorkem bez žížal (Graf. 1).

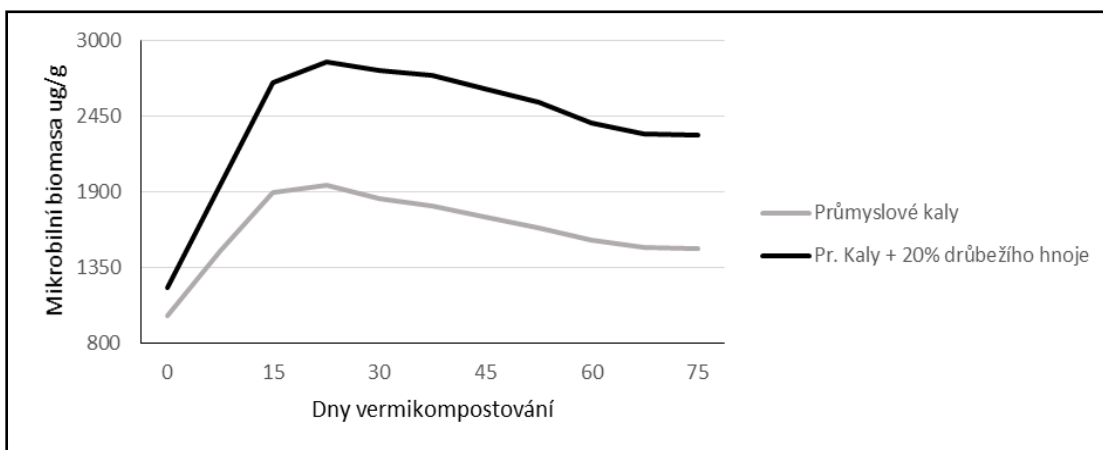
Graf 1 – Celková biomasa mikroorganismů v chlévské mrvě hovězího dobytka po 1. měsíci vermikompostování, ve srovnání s kontrolním vzorkem bez žíval. Zdroj: Edwards et al. (2011).



Naproti tomu při vermikompostování průmyslových kalů a jejich směsí s drůbežím hnojem naměřil Pramanik et al. (2011) po 30 dnech u samotných průmyslových kalů cca 85 % nárůst celkové mikrobiální biomasy a u průmyslových kalů s přidavkem 20 % drůbežního hnoje dokonce cca 130 % nárůst celkové mikrobiální biomasy (Graf. 2).

Činností žíval poté není ovlivněna pouze mikroflóra a mikrofauna zpracovávaného substrátu, ale nepřímou také dynamika místních chemických procesů (Pathma et Sakhivel, 2012).

Graf 2 – Celková biomasa mikroorganismů v průběhu vermikompostování průmyslových kalů a jejich směsí s drůbežím hnojem. Zdroj: Pramanik et al. (2011)



### 3.3.3 Mikrobiologické parametry vodných výluhů z vermikompostu

K výrobě vermikompostu můžeme za vhodných podmínek použít téměř jakýkoli odpad organického původu. Jak bylo již řečeno, od původu organických zbytků, druhu použitých žížal a případných aditiv se odvíjí obsah živin i populace mikroorganismů ve výsledném výluhu (Meenatchi et al., 2008).

Nelze tedy obecně popsat a analyzovat mikrobiální biomasu jakéhosi univerzálního vermikompostu či jeho výluhu. Vždy je nutné přihlídnout ke všem proměnným v celém procesu výroby, přičemž původ výchozího surového vermikompostu má vždy zásadní význam. Vliv složení výchozího vermikompostu i vliv doby extrakce na vybrané mikrobiologické parametry vodných výluhů z vermikompostu bude tématem praktické části této bakalářské práce.

#### 3.3.3.1 Vliv aditiv na mikrobiologické parametry vodných výluhů z vermikompostu

Svůj význam ve zvyšování populací mikroorganismů vodných výluhů z vermikompostu mají též různá aditiva či jejich kombinace. Vliv některých aditiv, kterými se ve své práci zabývá Fritz et al. (2012), na populace hub a bakterií v těchto roztocích, není zanedbatelný.

Vermikompost použitý v jeho experimentu je svým původem směsí především zelených částí rostlin, chlěvské mrvy hovězího dobytka a rostlinných zbytků zemědělské výroby. Svým složením tak představuje v praxi snadno použitelný model vstupní směsi materiálů. V první fázi byl tento mix kompostován klasickým způsobem v pásových hromadách a prošel typickou termofilní fází. Bezprostředně poté následovala fáze druhá, vlastní proces vermikompostování za přítomnosti populace žížaly hnojní – *Eisenia foetida*. Produkce vlastních výluhů poté probíhala v 850 l převážně demineralizované vody o teplotě 16 – 29 °C u první sady výluhů (1-11a) a 18 – 24 °C u druhé sady výluhů (11b - 11f). Na tento objem vody pak připadlo 10 l surového vermikompostu, přičemž roztok byl po celých 72 h standardní doby extrakce (není-li uvedeno jinak) aerován. Aditiva (zdroje uhlíku) a rozdíly v podmínkách extrakce mají dle předpokladů vliv na chemické i mikrobiologické složení výsledného výluhu. Z tohoto důvodu se populace mikroorganismů ve výsledných výluzích lišily (Fritz et al., 2012).

Následující tabulka 3 zobrazuje celkové počty bakteriálních a houbových organismů v závislosti na druhu použitých aditiv i podmínkách extrakce. Shannon – Weaverův index značí hodnotu bakteriální diverzity jednotlivých výluhů.

Tabulka 3 – Vliv aditiv vod. výluhů z vermikompostu na populace mikroorganismů. Zdroj: Fritz et al. (2012)

Výluh	Aditiva	Podmínky	Bakterie (KTJ/ml)	Houby (KTJ/ml)	S-W index bakt. diverzity
1	kuk. mouka, pšen. mouka, oxidy křemíku	demi. H <sub>2</sub> O	1,0×10 <sup>8</sup>	4,0×10 <sup>5</sup>	2,85
2	kuk. mouka, pšen. mouka, oxidy křemíku	vodovodní H <sub>2</sub> O	7,5×10 <sup>7</sup>	6,7×10 <sup>5</sup>	2,96
3	kuk. mouka, ovesné otruby	demi. H <sub>2</sub> O	5,0×10 <sup>8</sup>	2,2×10 <sup>5</sup>	2,95
4	pšen.mouka, ov. otruby, sluneč. pokrutiny	demi. H <sub>2</sub> O	2,4×10 <sup>8</sup>	4,0×10 <sup>5</sup>	2,98
5	kompostový filtrát, pš. mouka, ov. otruby	demi. H <sub>2</sub> O	3,1×10 <sup>7</sup>	1,9×10 <sup>6</sup>	2,87
6	kyselina citronová	vodovodní H <sub>2</sub> O	6,1×10 <sup>7</sup>	2,0×10 <sup>5</sup>	2,73
7	kyselina citronová	demi. H <sub>2</sub> O, 96 h extr.	2,8×10 <sup>7</sup>	2,1×10 <sup>6</sup>	3,08
8	kompost ze zeleně, ovesné otruby.	demi. H <sub>2</sub> O	7,3×10 <sup>7</sup>	2,2×10 <sup>5</sup>	3,09
9	kompost ze zeleně, ovesné otruby.	demi. H <sub>2</sub> O, 96 h extr.	8,8×10 <sup>7</sup>	7,1×10 <sup>5</sup>	3,39
10	kompostový filtrát, ovesné otruby	demi. H <sub>2</sub> O	2,7×10 <sup>6</sup>	4,6×10 <sup>4</sup>	3,36
11a	kompost ze zeleně, slunečnic. pokrutiny	demi. H <sub>2</sub> O	2,5×10 <sup>8</sup>	8,9×10 <sup>5</sup>	3,1
11b,	kompost ze zeleně, slunečnic. pokrutiny	opak. procesu 11a -	2,5×10 <sup>8</sup> ±	8,9×10 <sup>4</sup> ±	2,39 ±
11c,		viz.poznamka	9,1×10 <sup>7</sup>	6.6×10 <sup>4</sup>	0,10 (4%)
11d,			(36%)	(75%)	
11e,					
11f					

Poznámka: Výluh č. 11a byl shledán nejúčinnějším ve stimulaci růstu rostlin, bylo tedy provedeno dodatečné pětinasobné kontrolní měření v nekontrolovaných podmínkách - (11b-11f) se záznamem standartní odchylky i procentuální variace.

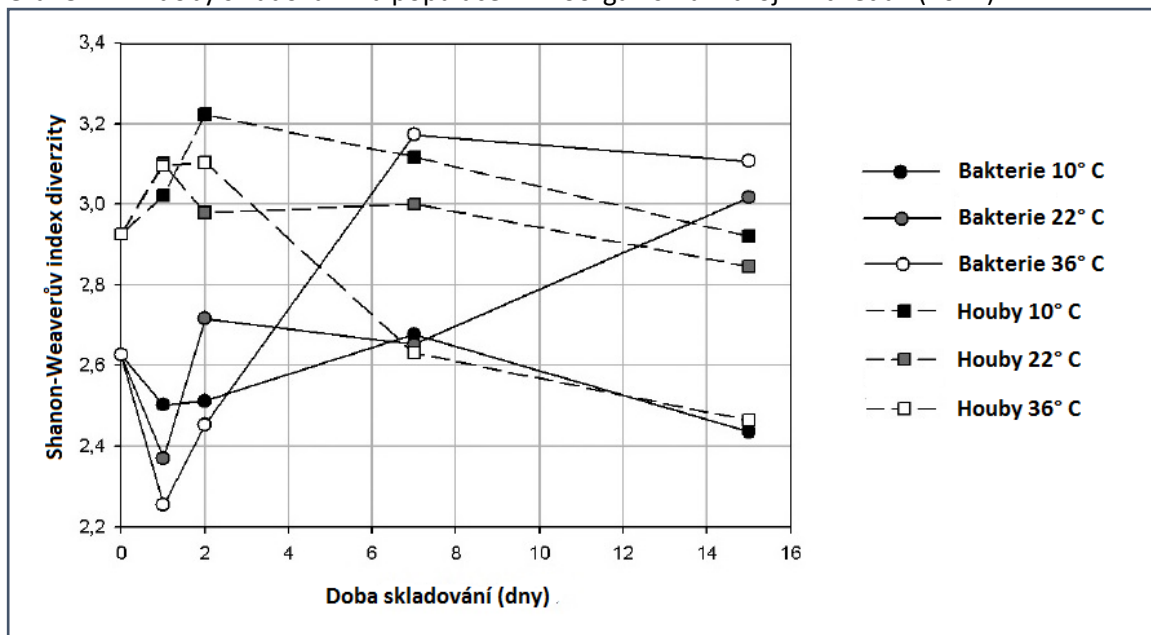
### 3.3.3.2 Vliv skladování vodných výluhů z vermikompostu na přítomné mikroorganismy

Cílem pokusů zabývajících se vlivem doby skladování vodných výluhů z vermikompostu na měřitelné parametry těchto roztoků, by mělo být zmapování průběhu těchto změn v čase při různých teplotách uskladnění. Touto problematikou se ve své studii zabývá opět Fritz et al. (2012).

Jeho experiment navazuje na výše zmíněný pokus s aditivou vodných výluhů. Pro zkoušení stability byl vybrán vzorek výluhu 11a (Tab. 2), který byl rozdělen do 3 provzdušňovaných 20 l nádob uskladněných ve 3. rozdílných tepelných režimech (10, 22 a 36 °C) po dobu 15 dní. Ve všech případech došlo během prvních 24 h k poklesu a poté opět k nárůstu bakteriální diverzity. Při teplotě 36 °C byl zaznamenán nejprudší nárůst, při 10° C byly naopak změny v bakteriální diverzitě nejmenší. Z hlediska bakteriální diverzity vykazoval výluh uskladněný při teplotě 10 °C, ve srovnání se zbylými dvěma vzorky, nejvyšší stabilitu. Možným vysvětlením počátečního poklesu bakteriálního indexu, zaznamenaného u všech tří vzorků, může být potlačení řady bakterií na neměřitelné minimum jinými rychle rostoucími druhy. Populace mikroorganismů vyskytující se v prostředí kompostu či vermikompostu jsou obvykle meso- či termofilního charakteru a v prostředí o teplotě 10 °C tak nemohou, na rozdíl od ostatních, růst. Po 15 dnech skladování se nicméně složení populací mikroorganismů ve vodných výluzích zdá být velmi podobné tomu původnímu, což může být způsobeno malým množstvím informací z vzorků DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis je jedna z metod přímé DNA diagnostiky, využívající elektroforézu na gelu s denaturačním činidlem). Diverzita populací houbových mikroorganismů během 15 dnů skladování celkově klesla, přičemž nejvýraznější byl tento pokles při teplotě 36 °C a v menší míře k němu došlo při teplotách 10 a 22 °C.

Druhy bakterií, které jsou nejsnáze oddělitelné od částic organické hmoty kompostu, se zpočátku vyskytují ve výsledných výluzích ve vysoké míře, v kapalném prostředí však mohou být relativně brzy nahrazeny druhy jinými, kterým dané podmínky lépe vyhovují. Ani na základě všech těchto výsledků však není jasné, zda populace mikroorganismů ve výluhu po 48 h dosáhly stacionární fáze. Ve výluzích, ve kterých byly použity ovesné otruby jako zdroj potravy pro mikroorganismy, byla zaznamenána zjizitelná množství škrobu dokonce po 72 h. To může být způsobeno přetrvávající přítomností zdroje uhlíku ve výluzích, vyráběných v optimalizovaných podmínkách. I na konci doporučené doby extrakce tedy v těchto výluzích docházelo ke zvyšování mikrobiální aktivity. Nicméně při teplotě 10 °C byly změny, po méně než týdnu skladování, v populacích mikroorganismů vodných výluhů minimální. Naopak při delších dobách skladování, stejně tak i při vyšších teplotách byly pozorovány významné změny v těchto populacích, většinou nejspíše v neprospěch kvality skladovaných výluhů (Fritz et al., 2012). Průběh celého experimentu zobrazuje následující graf 3.

Graf 3 – Vliv doby skladování na populace mikroorganismů. Zdroj: Fritz et al. (2012)



### 3.3.4 Bakterie rodu *Azotobacter*

První skupinou mikroorganismů, jejichž počty ve vodných výlužích z vermikompostu se stanovují v praktické části této bakalářské práce, jsou bakterie rodu *Azotobacter*.

Tyto mikroorganismy patří mezi významné mezofilní aerobní rhizobakterie, přičemž se jedná o gramnegativní nesymbiotické volně žijící bakterie, které jsou schopné fixovat vzdušný dusík. Buňky jsou 2-10  $\mu\text{m}$  dlouhé a 1-2  $\mu\text{m}$  široké, některé druhy mají bičíky a jsou pohyblivé. Vyskytují se především v orných půdách mírného pásma s neutrálním pH a vyšším obsahem organických látek. Výskyt a počty bakterií rodu *Azotobacter* a jejich schopnost fixovat vzdušný dusík velmi úzce souvisí spolu navzájem i s obsahem dusíku v půdě. Je známo, že aplikace průmyslových N hnojiv potlačuje nitrogeNASOVOU aktivitu v půdě a tedy  $\text{N}_2$  fixační aktivitu těchto bakterií. Naopak aplikace organických hnojiv (jako je hnůj, kompost apod.), případně zaorávka slámy, zvyšuje výskyt těchto prospěšných bakterií v půdě a zvyšuje i jejich aktivitu. Organické hnojení a využívání slámy a meziplodin s jejich zaorávkou se v zemědělství používají již dlouhou dobu. Jejich cílem je zvýšit půdní úrodnost zvýšením obsahu půdní organické hmoty a aktivity půdní mikroflóry a tím přispět ke zlepšení biologických vlastností půdy. Dodržování těchto postupů pozitivně ovlivňuje též zastoupení přirozeně se vyskytujících bakterií rodu *Azotobacter* v půdě a jejich aktivitu. Obecně se uvádí, že biologická fixace volně žijícími fixátory dusíku jako jsou bakterie rodu *Azotobacter* se pohybuje ročně od 5 do 10 kg N na hektar, vyšší fixace až 30 kg N/ha/rok je dosahovaná při vyšší vlhkosti a teplotě půdy a při vyšším zásobení půdy organickou hmotou (Šimon a Mikanová, 2010).

### 3.3.5 P – solubilizující bakterie

Další významnou skupinou mikroorganismů, na kterou je zaměřena pozornost v praktické části této práce jsou P – solubilizující bakterie.

Jedná se o skupinu aerobních i anaerobních bakterií, které mají schopnost transformovat ve vodě málo rozpustné fosfáty na formy rozpustné. Primárním mechanismem tohoto procesu, který se nazývá solubilizace, je uvolňování kyselin P-solubilizujícími mikroorganismy do svého okolí. Tyto bakterie jsou schopné produkovat celou řadu P – solubilizujících látek, nejvýznamnější z nich jsou však kyselina glukonová a 2-ketoglukonová. Tento proces je také obvykle doprovázen snižováním pH média. Mezi bakterie disponující touto schopností patří rody *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* a řada dalších. Jedná se tedy často o rody bakterií, známé a využívané především pro svou schopnost fixovat vzdušný dusík (Mikanová a Šimon, 2011).

### 3.3.6 Proteolytické bakterie

Proteolytické bakterie jsou poslední skupinou mikroorganismů, jejichž celkové počty ve vodných výluzích z vermikompostů i v surových vermikompostech jsou předmětem zkoumání v praktické části této práce. Pro svou metabolickou činnost jsou tyto bakterie označovány jako hnilobné, přičemž proteolytická schopnost těchto bakterií, spolu s proteolytickými kvasinkami a plísněmi, v přírodě zabezpečuje rozklad materiálů organického původu a zajišťuje tak nepřetržitý koloběh živin. Proteolytické bakterie jsou doplňující skupinou amonizačních bakterií, které jsou anaerobní i aerobní. Do prostředí vylučují hydrolytické enzymy proteinázy, prostřednictvím kterých hydrolyzují vysokomolekulární bílkoviny na nízkomolekulární. Tyto nízkomolekulární bílkoviny jsou následně schopné pronikat přes buněčné membrány. Proteolytické bakterie se tedy vyznačují schopností rozkládat bílkovinné materiály (Ambrožová, 2004).

Mezi proteolytické mikroorganismy patří například bakterie rodů *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Serratia* a řada dalších.

## 3.4 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na růst, výnosy a kvalitu plodin

Vodné výluhy z produktů termofilního kompostování jsou již řadu let používány po celém světě především díky svým schopnostem potlačovat určité skupiny patogenů kulturních rostlin. Stále však není k dispozici dostatečné množství studií zkoumající vliv vodných výluhů, ať z klasických kompostů, či vermikompostů, na klíčení, růst, kvetení a výnosy ošetřovaných rostlin. Avšak vzhledem ke všem doposud uskutečněným experimentům, vše prozatím nasvědčuje tomu, že mix látek obsahující rozpustné živiny, růstové hormony a regulátory, mikroorganismy a volné enzymy, který se nachází ve vodných výluzích z vermikompostu, má obecně velmi příznivé účinky na růst ošetřovaných rostlin i na jejich výnosy (Edwards et al., 2011).

### 3.4.1 Princip stimulace růstu rostlin, vlivem vodných výluhů z vermikompostu

Již celá řada experimentů potvrdila fakt, že aplikace vodných výluhů z vermikompostu k rostlinám má za následek zlepšení jejich růstu, zvýšení výnosu i nutričních hodnot sklizených částí ošetřovaných plodin. Primární mechanismy, způsobující tyto účinky však nejsou doposud zcela známy. Obecně je přijímána teze, že ve vodě rozpustné živiny, organické kyseliny, regulátory a hormony, extrahované z výchozích vermikompostů do vznikajících výluhů, mají pozitivní vliv na počáteční vývoj kořenů a následně i na růst takto ošetřovaných rostlin (Pant et al., 2011).

Klíčem k bližšímu pochopení růstových stimulačních schopností vermikompostu a jeho výluhů může být též hypotéza, že z velké části jsou za tyto účinky odpovědné (PGHs) růstové hormony jako jsou auxiny, gibbereliny a cytokininy, dále pak (PGRs) růstové regulátory jako jsou huminové kyseliny a fulvokyseliny, jejichž produkce je ve vznikajícím vermikompostu zajištěna přítomnými mikroorganismy. Růstové hormony (PGHs) jsou ve vodě velmi dobře rozpustné látky, ovšem jsou-li

vystaveny ultrafialovému záření, rychle dochází k jejich znehodnocení, čímž se stávají v půdě nestálými. Bylo však dokázáno, že růstové hormony (PGHs) mohou být absorbovány huminovými kyselinami a fulvokyselinami a následným postupným uvolňováním do půdy tak pozitivně působit na klíčení, růst, kvetení a výnosy ošetřovaných plodin (Edwards et al., 2011).

Tato hypotéza byla potvrzena Canellasem et al. (2000), jenž dokázal schopnost absorpce výměnných skupin auxinů z vermikompostu chlévské mrvy hovězího dobytka huminovými kyselinami a následné postupné uvolňování těchto růstových hormonů.

### **3.4.2 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na klíčení semen a růst sazenic**

Ačkoli je klíčení semen vnitřně regulovaným procesem, který je ovlivněný genotypem konkrétní rostliny, faktory okolního prostředí jako je světlo, teplota, vlhkost či přítomnost určitých chemických sloučenin, jako jsou fytohormony a organické kyseliny, mají v tomto procesu také značný význam. Výsledky doposud provedených pokusů se semeny ošetřovanými vodnými výluhy z vermikompostu nasvědčují tomu, že ranější klíčení s vyšším procentem klíčivosti, stejně tak i následný lepší růst sazenic rostlin, ošetřených vodnými výluhy z vermikompostu k semenům, zapřičiňují jiné než fyzikální faktory okolního prostředí. Je pravděpodobné, že za tyto projevy jsou zodpovědné ve vodě rozpustné bioaktivní látky jako jsou huminové kyseliny, fytohormony a ostatní metabolity mikroorganismů přítomné ve výluzích z vermikompostu (Arancon et al., 2012).

Arancon et al. (2012) se ve skleníkových experimentech zabývá vlivem aplikovaných vodných výluhů z vermikompostu na klíčení semen rajčat (*Solanum lycopersicum*) a salátu (*Lactuca Sativa*).

Semena rajčat ošetřovaná výluhy z vermikompostu na bázi drůbežího hnoje a máčená po dobu 9 h, vykazovala lineární nárůst procenta klíčivosti i hmotnosti zelené nadzemní biomasy sazenic, spolu s narůstajícími koncentracemi aplikovaných roztoků. Obdobné výsledky byly zaznamenány i v případě naměřené výšky sazenic, počtu listů i hmotnosti nadzemní sušiny. Pozorovaná zvýšená hmotnost kořenů, stejně tak jejich délka i povrch, byla v silné lineární závislosti na koncentracích aplikovaných roztoků. U semen a sazenic salátu byly pozorovány velmi obdobné výsledky jako v případě rajčat, s tím rozdílem, že konečný počet listů sazenic nebyl výluhy z vermikompostu nikterak ovlivněn. Semena rajčat máčená po dobu 24 h v 1 % vodném výluhu z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu vykazovala opět výrazný nárůst procenta klíčivosti, zatímco procento klíčivosti u semen máčených v 5 % výluhu stejného typu po dobu 24 h, se téměř nelišilo od kontrolních semen máčených v obyčejné vodě. Již zcela opačný efekt byl u tohoto typu výluhu zaznamenán u semen máčených v 10 % a 20 % roztocích po dobu 24 h, kdy procento klíčivosti výrazně klesá. Zvyšující se koncentrace použitých výluhů měla v tomto případě za následek výrazně kvadratický průběh odezvy v růstu sazenic rajčat s vrcholem (měřeno dle výšky sazenic) u 5 % roztoku. Při aplikaci 10 % a 20 % roztoků je již rychlost růstu sazenic nízká a od kontroly se výrazně neliší. Těmto výsledkům odpovídal i růst kořenů, přičemž nejlepších výsledků co do délky a hustoty kořenového systému sazenic, bylo dosaženo při aplikacích 5 % roztoku (Arancon et al., 2012).



Při aplikacích těchto typů vodných výluhů z vermikompostu k semenům rajčat a salátu byly tedy zaznamenány výrazné interakce mezi dobou máčení semen a koncentrací použitých roztoků, přičemž důležitou roli zde hrál také výchozí vermikompost, určený k produkci těchto výluhů. Obecně lze však říci, že všechny typy 5 % roztoků vodných výluhů z vermikompostu vykazovaly u ošetřovaných semen konzistentně nejvyšší účinnost ve stimulaci jejich klíčení i ve stimulaci následného růstu sazenic. Vodné výluhy z vermikompostu mohou tedy být využívány k urychlování klíčení semen i k následné akceleraci vývoje rostoucích sazenic. Vyšší koncentrace živin ve výluhu na bázi drůbežího hnoje podporovaly klíčení a následný vývoj sazenic rajčat a salátu ve smyslu lineárního nárůstu v závislosti na zvyšující se koncentraci použitého roztoku. Navíc kombinace nízkých koncentrací živin, přiměřeného množství huminových kyselin a stop hormonů podporujících růst, jako jsou IAA, cytokininy a gibereliny, obsažených v 1 % a 5 % výluzích z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu, mohou také do určité míry pozitivním způsobem ovlivnit klíčení semen a následný růst sazenic. Procento klíčivosti semen, ošetřovaných výluhy takto nízkých koncentrací, se však zvyšuje až po delších dobách máčení v rozsahu 8 až 24 h (Arancon et al., 2012).

### **3.4.3 Vliv vodných výluhů z vermikompostu na výnosy a kvalitu ošetřovaných plodin**

Jak bylo již řečeno, aplikace vodných výluhů z vermikompostu k rostlinám pozitivně ovlivňuje jejich růst, výnos i nutriční hodnotu.

Fritz et al. (2008) v laboratorních i polních podmínkách potvrzuje tato fakta experimenty s rostlinami rajčat (*Lycopersicon esculentum*).

Garcia-Gomez et al. (2008) také zanamává během pokusů s aplikací vodných výluhů z vermikompostu ke kukuřici (*Zea mays*), lepší růst ošetřovaných rostlin a připisuje tyto účinky spíše růstovým regulátorům (PGRs), než živinám obsaženým v aplikovaném roztoku.

Zajímavé srovnání účinků různých typů výluhů z vermikompostu pak nabízí Pant et al. (2011), který se v experimentu s rychle rostoucími rostlinami čínského zelí (*Brassica rapa cv. Bonsai, Chinensis group*) zabývá stimulací růstu zmíněných rostlin těmito roztoky. V jeho pokusu jsou srovnávány účinnosti neaerovaného vodného výluhu z vermikompostu (NCT), aerovaného vodného výluhu z vermikompostu (ACT), aerovaného vodného výluhu z vermikompostu s aditivou posilujícími aktivitu přítomných mikroorganismů (ACTME) a roztoku obsahujícího minerální živiny (MNS). Byly také použity celkem 3 rozdílné typy substrátů a 2 způsoby hnojení (termofilní kompost a průmyslové hnojivo). V tomto experimentu je sledován vliv všech zmíněných roztoků na výnos a kvalitu čínského zelí i na biologické vlastnosti ošetřované půdy v závislosti na použitém typu substrátu i druhu hnojení. Jako výchozí materiál pro výrobu vermikompostu zvolil Pant et al. (2011) drůbeží hnůj, pro výrobu vlastních výluhů posloužil poměr 1:10 tohoto vermikompostu k vodě.

Ve srovnání s kontrolou i s rostlinami ošetřovanými roztokem MNS došlo vlivem aplikací všech typů vodných výluhů z vermikompostu obecně k výrazným zvýšením výnosů a ke zvýšení obsahu minerálních látek i karotenoidů v pletivech ošetřovaných rostlin. K nárůstu těchto hodnot došlo jak u

vzorků hnojených výhradně termofilním kompostem, tak u vzorků hnojených průmyslovým hnojivem NPK (14-14-14), ovšem v případě vzorků hnojených kompostem byl efekt vodných výluhů z vermikompostu daleko výraznější (Pant et al., 2011).

V průběhu experimentu byla nicméně zaznamenána také velká variabilita míry stimulace růstu sledovaných rostlin v závislosti na použitém substrátu a typu hnojení.

U vzorků hnojených termofilním kompostem došlo po aplikaci výluhů z vermikompostu ke zvýšení obsahu glukosinolátů, zatímco u vzorků hnojených NPK nebyla v tomto směru zaznamenána žádná změna. Ve srovnání s kontrolou a vzorky ošetřovanými roztokem minerálních látek MNS došlo po aplikacích vodných výluhů z vermikompostu k redukci fenolických látek u sledovaných rostlin. Všechny druhy použitých výluhů, bez ohledu na metody extrakce, vykazovaly ve stimulaci růstu rostlin obdobnou účinnost. Zdá se tedy, že aerace i aditiva se při dodržení optimální doby extrakce nejeví jako složky nezbytně nutné k produkci účinných vodných výluhů z vermikompostu. Vlivem aplikací výše zmíněných typů výluhů k rostlinám došlo obecně k nárůstu koncentrací živin i k nárůstu aktivity mikroorganismů ve všech použitých substrátech. Ve srovnání s rostlinami ošetřovanými pouze roztokem minerálních látek MNS, byl u rostlin ošetřovaných vodnými výluhy z vermikompostu zaznamenán lepší růst kořenů i nových výhonů za zvýšeného příjmu dusíku (Pant et al., 2011).

Poněkud neobvyklým způsobem použití výluhů z vermikompostu se zabývá Zaller (2006), který zkoumá vliv opakovaných listových aplikací vodných výluhů z vermikompostu na růst, výnos, morfologickou a chemickou kvalitu plodů 3. odrůd rajčat (*Lycopersicon esculentum* cv. *Diplom F1*, cv. *Martina*, cv. *Rheinlands Ruhm*) v polních podmínkách. Výchozím vermikompostovaným materiálem byla v případě tohoto experimentu směs bioodpadu z ovoce a zeleniny spolu s rostlinnými zbytky bavlníku. Pro výrobu vlastního extraktu byl použit poměr 1:2 vermikompostu k vodě. Postřik byl aplikován vždy jednou za týden po dobu 6 týdnů.

Během aplikací vodných výluhů z vermikompostu postřikem nedošlo u ošetřovaných rostlin k jakémukoli ovlivnění jejich růstu, či ke změně v množství jejich zelené biomasy. Rostliny však reagovaly redukcí počtu květů v průběhu jejich vegetační doby. Navzdory této skutečnosti však nedocházelo ke snižování počtu plodů, či ke snižování výnosu. Daleko zajímavější účinky však byly zaznamenány u samotných plodů rostlin, ošetřovaných postřikem výluhu z vermikompostu. V průběhu celého experimentu byly, ve srovnání s kontrolou, pozorovány četné změny v chemických a morfologických parametrech kvality plodů. Nejviditelnějším důsledkem aplikace vodných výluhů z vermikompostu postřikem byla produkce plodů větších rozměrů (měřeno dle obvodu). Ve srovnání s plody ošetřovanými obyčejnou vodou, byl zaznamenán také vyšší obsah dusíku a nižší obsah kyseliny L - askorbové. Obsah většiny ostatních látek zůstal beze změn. Vše nasvědčuje tomu, že výše popsané změny v kvalitě plodů ošetřovaných rostlin, jsou zapříčiněné přímým či nepřímým vlivem aplikovaných vodných výluhů z vermikompostu (Zaller, 2006).

### **3.5 Potenciální role vermikompostů a jejich výluhů v systémech ochrany rostlin**

Jednou z hlavních výzev, které v současnosti čelí pěstitelé v ekologickém zemědělství po celém světě, je systém ochrany vůči škůdcům a původcům onemocnění rostlin. Jako prevence se v tomto směru osvědčila celá řada kultivačních agrotechnických zásahů, které se staly běžnou praxí těchto způsobů hospodaření. Biologická ochrana se v systémech ekologického zemědělství nestala doposud běžnou praxí, zejména pak v polních podmínkách. Aplikace přírodních pesticidů je proto často poslední možností, jak zvrátit nepříznivý vývoj při napadení rostlin některým z patogenů či škůdců (Manandhar et Yami, 2008).

#### **3.5.1 Mechanismy účinku vermikompostů a jejich vodných výluhů v potlačování původců onemocnění rostlin**

Již delší dobu je známo, že plodiny rostoucí v substrátu s podílem tradičního termofilního kompostu mají menší tendenci podléhat chorobám. Tato skutečnost je pravděpodobně způsobena vývojem a znásobením počtu mikroorganismů, které jsou v antagonistickém vztahu vůči patogenům rostlin. Vlivům surového vermikompostu, na potlačování původců onemocnění rostlin, se doposud nevěnovala taková pozornost, jako tomu bylo v případě kompostu termofilního, přesto však existují studie zabývající se vlivem surových vermikompostů na potlačování patogenů rostlin. Vermikomposty disponují, vlivem probíhajících mezofilních procesů při výrobě, vyšší mikrobiální diverzitou v porovnání s komposty termofilními, a měly by se tedy vyznačovat i vyšší účinností v potlačování těchto původců rostlinných onemocnění. Přes četné pozitivní výsledky provedených experimentů, byla bohužel zaznamenána také vysoká variabilita v potlačování sledovaných patogenů vlivem aplikovaných vermikompostů. Tato variabilita může být způsobena celou řadou okolností jako je druh vermikompostu a jeho dodané množství, teplota, přítomnost průmyslových hnojiv, patosystém atd. Tento závažný nedostatek, tak představuje překážku v širším uplatnění surových vermikompostů, jakožto prostředků k potlačování patogenů rostlin, například v odvětví zahradnictví. Tyto materiály představují vysoce kvalitní doplňky půd, obsahující početné populace mikroorganismů. Samotný proces extrakce pak může za vhodných podmínek znásobit počty přítomných mikroorganismů, přičemž výsledný vodný výluh je v potlačování původců onemocnění rostlin podle všeho představitel účinnější formy produktu na bázi vermikompostu, než je surový výchozí materiál (Edwards et al., 2011).

Aplikace výluhů z kompostu, či vermikompostu tedy představuje jednoduchou, levnou a potenciálně účinnou alternativu, doplňující stávající metody ochrany rostlin (Manandhar et Yami, 2008).

Mechanismy účinků vodných výluhů z vermikompostu v potlačování patogenů se s největší pravděpodobností překrývají a dochází tak zřejmě ke kombinacím jejich efektů. Výsledné účinky tedy mohou být založeny na celé řadě rozdílných principů jako je antibiόza, hyperparazitismus, kompetice o živiny, vliv extracelulárních enzymů, přímá likvidace propagulí patogenů či inhibice klíčení těchto

propagulí. Do této mozaiky různorodých principů mohou patřit i komplexní vlivy velkého množství aerobních organismů, a z tohoto důvodu je velmi těžké určit přesné mechanismy účinků. V klasických termofilních kompostech, vermikompostech i v jejich výluzech se mohou vyskytovat mikroorganismy, které jsou v antagonistickém vztahu vůči původcům onemocnění rostlin. Mezi tyto mikroorganismy patří například druhy *Trichoderma hamatum*, *Flavobacterium balustinum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *Xanthomonas maltophilia*, *Janthinobacterium lividum*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, *Bacillus cereus*, *B. mycoides*, *B. subtilis* a jiné. Tyto mikroorganismy poté mohou v rostlinách indukovat systémovou rezistenci vůči některým původcům rostlinných onemocnění. Jiné mohou vylučovat hydrolytické enzymy, které následně narušují membrány buněk patogenů, siderofory patogenů, či jiné důležité součásti a procesy původců rostlinných onemocnění (Edwards et al., 2011).

### **3.5.2 Potlačování původců onemocnění rostlin aplikacemi vodných výluhů z vermikompostu**

Vlivem vodných výluhů z vermikompostu na růst patogeních houbových organismů se ve svých experimentech zabývá například Nakasone et al. (1999) a zjišťuje, že tyto roztoky jsou schopné potlačovat myceliální růst druhů *Sclerotinium cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinium rolfsii*, *R. solani* a *F. oxysporum*.

Zaller (2006) během polního experimentu s listovými aplikacemi výluhů z vermikompostu pozoruje schopnost těchto roztoků do určité míry potlačovat plíseň bramborovou (*Phytophthora infestans*) na rostlinách rajčat. Ve srovnání s kontrolou, bylo u vzorků ošetřovaných postřikem 30 % výluhu z vermikompostu, infikováno pouze poloviční množství rostlin.

Kumari et al. (2013) se ve svých experimentech také zabývá vlivem vodných výluhů z vermikompostu na potlačování houbových patogenů rostlin a zjišťuje, že tyto roztoky jsou schopné inhibovat klíčení spor druhů *Curvularia lunata*, *Helminthosporium penniseti* a *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. Mangiferae*.

V jiném experimentu zkoumá Manandhar et Yami (2008) vliv rozdílných typů výluhů z kompostů na potlačování původce fuzariózy (*Fusarium moniliforme*) rýže a zjišťuje, že arované vodné výluhy z termofilních kompostů a vermikompostů výrazně omezují výskyt tohoto onemocnění u klíčících semen rýže, přičemž jako nejefektivnější se v tomto směru jeví arované vodné výluhy z vermikompostu. Semen, na nichž byl zaznamenán růst *Fusarium moniliforme*, bylo v případě vzorků máčených ve 14 % arovaném vodném výluhu z vermikompostu 3x méně než u vzorků, ošetřených obyčejnou vodou (Manandhar et Yami, 2008).

Během výzkumů v laboratořích půdní ekologie na The Ohio State University uskutečňuje Edwards et al. (2011) významný objev, a tím je zjištění, že aktivně arované vodné výluhy z vermikompostu disponují výrazně vyšší účinností v potlačování původců chorob rostlin ve srovnání s výluhy neareovanými. Arované výluhy také vykazovaly menší variabilitu ve schopnostech potlačování

sledovaných patogenů. Během série následujících experimentů používá proto Edwards et al. (2011) výhradně aerované vodné výluhy z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu o koncentracích 5 %, 10 % a 20 %. V prvním z těchto experimentů pozoruje Edwards et al. (2011) výrazné zmírnění důsledků (méně než poloviční poškození) napadení kořenů rajčat (*Lycopersicon esculentum*) druhem *Fusarium oxysporum*, vlivem aplikací výluhů výše zmíněných koncentrací. U dalšího pokusu s rostlinami rajčat (*Lycopersicon esculentum*) a okurek (*Cucumis sativa*) napadených plísní paprikovou (*Phytophthora capsici*) je efekt těchto výluhů ještě výraznější, přičemž nejvyšší účinnost v tomto případě vykazuje 20 % roztok, zejména pak ve zmírnění důsledků poškození kořenů u rostlin okurek. Při experimentu se sazenicemi okurek napadených druhem *Rhizoctonia solani* zaznamenává u rostlin ošetřovaných demineralizovanou vodou (kontrola) Edwards et al. (2011) pouze 35 % přežití sazenic, naproti tomu téměř 90 % sazenic ošetřovaných 20 % roztokem přežívá napadení tímto patogenem. Obdobný výsledek v procentech přeživších sazenic byl zaznamenán i u okurek napadených druhem *Pythium ultimum*. Zmírnění důsledků napadení tímto patogenem je díky vlivu všech typů zmíněných výluhů opět velmi výrazné, přičemž rostliny ošetřované 20 % roztokem vykazovaly téměř desetinové poškození ve srovnání s rostlinami, které byly ošetřovány pouze demineralizovanou vodou. Obdobné účinky použitých výluhů jsou pozorovány i u rostlin rajčat, napadených druhem *Pythium ultimum*. Rostliny rajčat a okurek napadené druhem *Plectosporium tabacinum* a ošetřované výše zmíněnými výluhy vykazují opět výrazně nižší stupeň poškození. Toto poškození je v případě rostlin ošetřovaných 20 % výluhem ve srovnání s kontrolou u okurek cca pětinnové a u rostlin rajčat cca osminové. U takto ošetřovaných rajčat a okurek, napadených druhy *Botrytis cinerea* a *Sclerotinia rolfii* zaznamenává Edwards et al. (2011) velmi obdobné výsledky.

### **3.5.3 Mechanismy účinku vermikompostů a jejich vodných výluhů v potlačování škůdců rostlin**

Bylo prokázáno, že přídavky například termofilních kompostů či jiných druhů organické hmoty do půdy, mohou u rostlin snižovat výskyt i důsledky napadení některých škodlivých druhů členovců či hlístic. Tyto účinky může způsobovat komplexní soubor nejrůznějších faktorů.

Míra těchto účinků je mimo jiné závislá i na konkrétním druhu škůdce, na druhu napadených plodin, na typu organického či průmyslového hnojení, jeho načasování i dávkování (Edwards et al. 2011).

#### **3.5.3.1 Mechanismy účinků produktů vermikompostování v potlačování škodlivých druhů členovců**

Klíčem k pochopení základních mechanismů těchto účinků může být způsob, jakým jsou rostlinami ze substrátu přijímány živiny. V případě aplikace produktů na bázi vermikompostu k rostlinám, může příjem živin těmito rostlinami probíhat jinými způsoby, než je tomu u rostlin hnojených výhradně průmyslovými hnojivy. Důsledkem toho mohou být ovlivněny procesy tvorby endogenních sekundárních metabolitů v rostlinách, které mají svou roli v potlačování útoku škodlivých druhů

členovců na tyto rostliny. Tyto metabolity jsou schopné modifikovat potravní zvyklosti škodlivého hmyzu a do určité míry ovlivňovat i jejich trávicí soustavu. Jedním z těchto sekundárních metabolitů jsou fenolické sloučeniny, které jsou známé svými odpuzujícími účinky pro hmyz. Z tohoto důvodu fenolické sloučeniny také zpomalují rozklad rostlinných organických zbytků, neboť dojde ke snížení činnosti bezobratlých saprofytů. V případě rostlin, ošetřovaných roztoky na bázi termofilních kompostů či vermikompostů, se pravděpodobně zvyšuje možnost příjmu těchto ve vodě rozpustných fenolických látek přímo ze zálivky, potažmo z půdy, neboť monomerní fenoly mohou být absorbovány huminovými kyselinami ve střevu žížal. Polychlorované fenoly a jejich metabolity byly také objeveny v řadě půd obsahujících žížaly. Výsledky řady studií, zabývajících se účinky těchto látek, nás prozatím vedou k závěru, že jsou za účinky vodních výluhů z kompostů a vermikompostů v potlačování škůdců s velkou pravděpodobností zodpovědné tyto ve vodě rozpustné fenoly, které jsou během extrakce uvolňovány z výchozích surových materiálů. Rostliny ošetřované těmito výluhy pak mohou být vlivem přítomných fenolů pro škůdce méně přitažlivé (Edwards et al., 2011).

### **3.5.3.2 Mechanismy účinků produktů vermikompostování v potlačování parazitických druhů hlístic**

Existuje řada záznamů, které dokazují, že přídavky rozličného organického materiálu, včetně termofilních kompostů a vermikompostů do půd, mohou mít za následek snižování počtu parazitických hlístic rostlin. Ačkoli mají popisované mechanismy, způsobující tyto změny v populacích hlístic, stále spíše spekulativní charakter, předpokládá se, že rovnováha přítomných organismů ve vzájemném vztahu predátor – kořist může být ovlivněna aplikacemi organických materiálů různorodého původu. Vodné výluhy z termofilních kompostů a vermikompostů mohou tedy zvyšovat počty přítomných predatorních a omnivorních hlístic či členovců, kupříkladu některých druhů roztočů. Tyto komposty či výluhy z nich mohou také podporovat růst určitých druhů houbových organismů, potlačujících přítomné parazitické hlístice, taktéž některé druhy rhizobakterií kolonizující oblast kořenů rostlin jsou schopné účinky svých enzymů a toxinů potlačovat tento druh škůdců. Látky jako jsou sirovodík, čpavek či dusitany, vznikající v průběhu vermikompostování, mohou být též pro parazitické hlístice nebezpečné. Celkově se tedy nejspíše jedná o komplexní soubor mechanismů, projevujících se výrazným účinkem v redukcii populací těchto druhů rostlinných škůdců (Edwards et al., 2011).

### **3.5.4 Potlačování škůdců rostlin, aplikacemi vodních výluhů z vermikompostu**

Během výzkumů v laboratořích půdní ekologie na The Ohio State University uskutečňuje Edwards et al. (2009a) sérii skleníkových experimentů s vodnými výluhy z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu. V první sérii těchto pokusů jsou aplikovány po dobu 2 týdnů 5 %, 10 % a 20 % roztoky výluhů jako zálivka k rostlinám okurek (*Cucumis sativa*) a rajčat (*Lycopersicon esculentum*). Ke všem rostlinám byl vypuštěn stejný počet škůdců, u okurek dřepčik druhu *Acalymna viatum* a u rajčat

housenky druhu lišaje *Manduca sexta*. Po následujících 14 dnů byly monitorovány počty těchto škůdců na sledovaných rostlinách.

U všech rostlin, ke kterým byla aplikována zálivka v podobě vodného výluhu z vermikompostu, došlo během 14 dní k výraznému snížení počtů výše uvedených škůdců, přičemž nejvyšších účinností bylo dosaženo při aplikaci 20 % roztoků (Edwards et al., 2009a).

Na konci experimentu se na rostlinách rajčat vyskytoval cca pětinový počet housenek druhu *M. sexta*, ve srovnání s kontrolou (rostliny ošetřované demineralizovanou vodou). U rostlin okurek je po 14 dnech experimentu výskyt dřepčíka druhu *A. viatum*, při použití 20 % roztoku, bezmála třetinový ve srovnání s kontrolními vzorky.

V další sérii těchto skleníkových experimentů zkoumá Edwards et al. (2009b) účinky výše uvedených vodných výluhů z vermikompostu v potlačování mšice broskvoňové (*Myzus persicae*), svilušky chmelové (*Tetranychus urticae*) a červce citroníkového (*Planococcus citri*) na rostlinách okurek a rajčat. Aplikace všech použitých roztoků probíhala rovněž ve formě zálivky po dobu 14 dnů. Počty těchto škůdců se vlivem aplikovaných výluhů opět výrazně snížily, přičemž jako nejúčinnější se opět projevíly 20 % roztoky.

U rostlin rajčat napadených mšicemi došlo během 14 dnů, vlivem aplikovaného 20 % výluhu, ke snížení populace druhu *Myzus persicae* na cca 1/3 ve srovnání s kontrolou. V případě rostlin okurek napadených červcem citroníkovým byla účinnost aplikovaných výluhů nižší. Aplikovaný 20 % roztok dokázal během 14 dnů snížit počty tohoto druhu na rostlinách, ve srovnání s kontrolou, přibližně na 2/3. Naopak výrazný efekt aplikovaných vodných výluhů z vermikompostu, je patrný v potlačování svilušky chmelové u rostlin okurek. Aplikovaný 20 % roztok byl schopen během 14 dnů snížit míru poškození, ve srovnání s kontrolou, na méně než 1/3 (Edwards et al. 2009b).

Arancon et al. (2002) v polních pokusech dokazuje vysokou účinnost surových vermikompostů v potlačování parazitických druhů hlístic. Vlivem aplikovaných surových vermikompostů se celkový počet hlístic v půdách zvyšuje (fungivorní hlístice), ovšem u populací parazitických druhů dochází k výraznému poklesu počtů.

Vlivem vodných výluhů z vermikompostu na populace háďátka *Meloidogyne hapla* se zabývá opět Edwards et al. (2011) ve svém experimentu s rostlinami rajčat (*Lycopersicon esculentum*) a okurek (*Cucumis sativa*), přičemž zjišťuje, že jsou tyto roztoky schopné velmi výrazným způsobem potlačovat cysty zmíněných hlístic na kořenech rostlin.

Celkové počty cyst na kořenech rajčat se vlivem aplikace 20 % vodných výluhů z vermikompostu snížily ve srovnání s kontrolou na cca 1/2. V případě napadených okurek byl tento pokles ještě výraznější. Počet cyst klesl, ve srovnání s kontrolními vzorky, na bezmála 1/3 (Edwards et al., 2011).

### **3.6 Možnosti využití vodných výluhů z vermikompostů v praxi**

Výše popsané vlastnosti a účinky vodných výluhů z vermikompostu činí z těchto materiálů ideální prostředky využitelné zejména v systémech ekologického zemědělství. V tomto odvětví je obecně nedostatek účinných prostředků použitelných v boji proti původcům onemocnění a škůdcům pěstovaných plodin. Z důvodu zákazu aplikace průmyslových hnojiv, představuje hnojení těchto plodin také značný problém, zvláště pak v naší republice, kde se zemědělci, díky omezené živočišné výrobě, potýkají s nedostatkem statkových hnojiv. Z těchto důvodů, ale především z důvodů nepopíratelné účinnosti, by se výluhy z kompostů či vermikompostů měly stát standartem v paletě prostředků každého ekologického zemědělce. Vlastní výroba vodných výluhů z termofilních kompostů či vermikompostů je poměrně nenáročná jak po stránce technologické, zejména pak v případě neaerovaných roztoků, tak po stránce finanční. Při dodržení základních zásad produkce, by pro malého soukromého zemědělce či malopěstitele s trvalým přísunem vlastního vhodného organického materiálu, neměl být problém výluhy z vermikompostu pro osobní potřebu vyrábět. Úsilí vložené do takového snažení by se při následném správném použití těchto roztoků mělo vrátit ve formě zvýšených výnosů pěstovaných plodin.

## **4 Materiál a metody**

### **4.1 Příprava výchozích vermikompostů**

Proces vermikompostování výchozích materiálů, určených k přípravě vodných výluhů, probíhal v prostorách klimatizované místnosti s možností regulace podmínek, za teploty 25 °C, 80 % relativní vlhkosti vzduchu a při pravidelném větrání místnosti každých 12 h po dobu 15 minut. K vlastnímu vermikompostování byly použity speciální plastové vermikompostovací nádoby s perforovaným dnem značky Worm Factory o rozměrech 40 x 40 x 18 cm. Do spodní misky s dnem pokrytým geotextilií, bylo vloženo 11 l substrátu firmy Ekovermes, obsahující 200 žížal rodu *Eisenia* na 1 litr. Na spodní misku byla následně položena miska vrchní, do které bylo vloženo 5 l výchozího materiálu, určeného k vermikompostování. Tento materiál byl do vermikompostérů vkládán již v předkompostované formě. Předkompostování probíhalo v laboratorních fermentorech o objemu 70 l po dobu 14 dní. Síťovinou překrytý vermikompostovaný materiál byl v průběhu celého procesu jednou do týdne kontrolován a udržován v mírně vlhkém stavu. K doplňování substrátu docházelo jednou za 14 dní až do vytvoření požadovaného homogenního materiálu - vermikompostu bez žížal. Vermikompostovány byly: digestát, matolina, jablečné výlisky, kuchyňský bioodpad a koňský hnůj.



## **4.2 Odběr a příprava vzorků vermikompostů ke stanovení počtů mikroorganismů**

Vzorky vermikompostů pro laboratorní zpracování byly odebrány, uchovávány a přepravovány s souladu s platnou legislativou tak, aby nemohlo dojít k druhotné kontaminaci. Hmotnost odebraných zkušebních vzorků byla 1000 g. Příprava analyzovaných vzorků byla provedena podle AHEM č.1/2008 a ČSN EN ISO norem. Vzorky byly upraveny homogenizací a výchozí suspenze pro desetinasobné ředění byla připravena smícháním 10 g vzorku a 90 ml sterilního zřed'ovacího roztoku. Pro stanovení indikátorů mikrobiologické kontaminace byly vzorky ředěny fosfátovým ředícím roztokem a pro stanovení půdních mikroorganismů sterilní destilovanou vodou. Z výchozí suspenze bylo následně připraveno desetinasobné ředění. Pro detekci salmonel bylo 50 g zkušebního vzorku přidáno do 450 ml tlumivé peptonové vody pro neselektivní pomnožení .

## **4.3 Příprava vodných výluhů z vermikompostů**

Příprava vodných výluhů z výše zmíněných druhů vermikompostů probíhala ve skleněné kádince naplněné 9 l demineralizované vody. Na dno kádinky bylo uloženo magnetické míchadlo, jehož činnost (750 otáček/minutu) zajišťovala mísení roztoku po celou dobu extrakce všech druhů výluhů. Množství vermikompostu, které připadlo na zmíněný objem vody, bylo stanoveno na 1 kg. Teplota vody a vznikajícího roztoku v kádince byla v průběhu celé doby extrakce udržovaná na 30 °C. U variant aerovaných výluhů byl přívod vzduchu (10 Nm/l) zajištěn perforovanou do kruhu vytvarovanou hadičkou z PVC. Odběr vzorků vodných výluhů byl prováděn vždy po 1 h, 6 h, 12 h, 24 h a po 48 h extrakce pomocí plastové stříkačky v množství 250 ml. Poté byly vzorky odstředěny na laboratorní centrifuze při 6 tis. ot./min po dobu 10 minut. Následně bylo odebráno 50 ml takto upraveného roztoku z každého výsledného vodného výluhů do sterilních zkumavek, tyto vzorky byly až do provedení mikrobiologických rozborů uchovávány v lednici při teplotě 5 °C. Mikrobiologická analýza všech vzorků proběhla vždy max. do dvou týdnů od ukončení procesu extrakce. Celkem bylo tedy odebráno 50 vzorků různých variant výluhů, aerovaných i neaerovaných z pěti výše zmíněných výchozích vermikompostů a zahrnující pět rozdílných dob extrakce.

## **4.4 Stanovení mikroorganismů v surových vermikompostech a jejich vodných výluzích**

Ve výchozích vermikompostech byly stanoveny indikátorové mikroorganismy pro hodnocení účinnosti hygienizace procesu úpravy bioodpadu vermikompostováním – bakterie rodu *Salmonella* spp., termotolerantní koliformní bakterie, *Escherichia coli* a enterokoky. Následně byly stanoveny celkové počty mikroorganismů a počty aktinomycet, kvasinek a plísní, bakterií rodu *Azotobacter*, P-solubilizujících mikroorganismů a proteolytických bakterií, přičemž tato práce je zaměřena pouze na bakterie rodu *Azotobacter*, P - solubilizující bakterie a proteolytické bakterie.

#### **4.5 Stanovení počtu bakterií rodu *Azotobacter* v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů**

Ze všech 50 vzorků vodných výluhů z vermikompostů byla připravena desetinasobná ředění pipetováním 1 ml těchto roztoků do zkumavek s 9 ml sterilní destilované vody. Pro stanovení bakterií ve vodných výluzích bylo použito první desetinasobné ředění. Bakterie ve vzorcích vermikompostů byly stanoveny ze základní suspenze připravené smícháním 10 g vzorku a 90 ml sterilní destilované vody. Jako kultivační médium byl použit Ashby's Mannitol Agar (HiMedia, India). Do připravených sterilních Petriho misek se pipetoval 1 ml prvního ředění z každého vzorku vždy do tří misek paralelně a zalil se sterilizovaným Ashbyho agarem. Misky se následně inkubovaly v termostatu při 28 °C po dobu 7 dní. Po skončené inkubaci se odečítaly velké slizovité kolonie bakterií rodu *Azotobacter*.

##### **Složení Ashbyho agaru - (Ashby's Mannitol Agar - HiMedia, India)**

Mannitol.....	20,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,2 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O.....	0,2 g
NaCl.....	0,2 g
CaSO <sub>4</sub> .....	0,1 g
CaCO <sub>3</sub> .....	5,0 g
Agar.....	15 g

40,7 g přípravku bylo naváženo do 1000 ml destilované vody, zahříváno do úplného rozpuštění a sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

#### **4.6 Stanovení počtů P – solubilizujících bakterií v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů**

Ze všech 50 vzorků vodných výluhů z vermikompostů byla připravena desetinasobná ředění pipetováním 1 ml těchto roztoků do zkumavek s 9 ml sterilní destilované vody. Pro stanovení bakterií ve vodných výluzích bylo použito první desetinasobné ředění. Bakterie ve vzorcích vermikompostů byly stanoveny ze základní suspenze připravené smícháním 10 g vzorku a 90 ml sterilní destilované vody. Jako kultivační médium byl použit fosforečný agar, do kterého se před rozléváním přidaly roztoky Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> -7 ml a CaCl<sub>2</sub> -3 ml na 200 ml agaru, roztoky obsahovaly 10,9 g Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> . 12 H<sub>2</sub>O a 22,0 g CaCl<sub>2</sub> a každý byl doplněný na 100 ml destilovanou vodou. Do připravených sterilních Petriho misek se pipetoval 1 ml prvního ředění z každého vzorku vždy do tří misek paralelně a zalil se sterilizovaným fosforečným agarem. Misky se následně inkubovaly v termostatu při 28 °C po dobu 7 dní. Po skončené inkubaci se odečítaly kolonie bakterií s prosvětlenou zónou.

#### **Složení fosforečného agaru**

Glukóza.....	10,0 g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	0,2 g
Asparagin.....	1,0 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.....	0,4 g
Kvasničný autolyzát.....	0,2 g
Agar .....	17 g
Destilovaná voda.....	1000 ml

Po smíchání všech složek byl roztok sterilizován v autoklávu po dobu 30 minut při teplotě 125 °C.

#### **4.7 Stanovení počtu proteolytických mikroorganismů v surových vermikompostech a ve vodných výluzích z vermikompostů**

Stanovení proteolytických mikroorganismů je založeno na jejich schopnosti hydrolyzovat kasein působením enzymů proteáz. Pro stanovení počtu proteolytických bakterií byla použita kultivační půda s obsahem kaseinu – Standart Methods Caseinate Agar (HiMedia India).

#### **Složení kaseinového agaru**

Agar.....	15,00 g
Destilovaná voda.....	1000 ml
Enzymatický hydrolyzát kaseinu.....	5,00 g
Kvasničný extrakt.....	2,50 g
Dextrosa.....	1,00 g
Kaseinát sodný.....	10,00 g
Citronan sodný.....	4,41 g
Chlorid vápenatý.....	2,22 g

Vzorky výluhů a základní suspenze vermikompostů (10 g vzorku vermikompostu smíchané s 90 ml sterilní destilované vody) byly ředěny desetinásobným ředěním. Ke stanovení počtu mikroorganismů bylo použito ředění 10<sup>-2</sup>. Paralelně do tří Petrino misek byl pipetován 1 ml ředěného vzorku, poté byl přelit kultivačním médiem a promíchán. Inkubace vzorků probíhala při 28 °C po dobu 72 hodin. Po skončené inkubaci se odečítaly kolonie bakterií se zónou projasnění v okolí kolonií.

## 5 Výsledky

### 5.1 Počty bakterií rodu *Azotobacter*, P-solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií v surových vermikompostech

Stanovení počtů těchto druhů mikroorganismů v surových vermikompostech bylo provedeno ve třech opakováních. U všech typů surových vermikompostů byl obecně zaznamenán nejvyšší počet proteolytických bakterií, naopak celkově nejnižší počty byly pozorovány u bakterií rodu *Azotobacter*. Nejvíce bakterií rodu *Azotobacter*, ve srovnání s ostatními vermikomposty, obsahoval vermikompost z koňského hnoje. Nejméně pak vermikompost z jablečných výlisků. Nejvyšší počty P – solubilizujících bakterií jsou pozorovány u vermikompostu na bázi digestátu, nejnižší pak u vermikompostu z matoliny. Proteolytických bakterií obsahoval nejvíce vermikompost z jablečných výlisků, nejméně těchto mikroorganismů bylo zaznamenáno u vermikompostu z digestátu. V celkovém součtu se nejvíce bakterií vyskytovalo ve vermikompostu z kuchyňského bioodpadu. Naopak celkově nejnižší počty bakterií jsou pozorovány u vermikompostu z matoliny. Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách 4 a 5.

Vermikompost	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií III. ředění				směr. odch.
	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$
VK z digestátu	1	3	2	2,0	1,0	6	5	6	5,7	0,6	35	34	39	36,0	2,6
VK z matoliny	4	8	8	6,7	2,3	6	10	9	8,3	2,1	40	39	41	40,0	1,0
VK z koň. hnoje	9	6	8	7,7	1,5	7	6	13	8,7	3,8	8	16	9	11,0	4,4
VK z jabl. výlisků	0	4	2	2,0	2,0	12	4	0	5,3	6,1	11	10	19	13,3	4,9
VK z kuch. odpadu	4	12	3	6,3	4,9	6	9	8	7,7	1,5	16	12	12	13,3	2,3

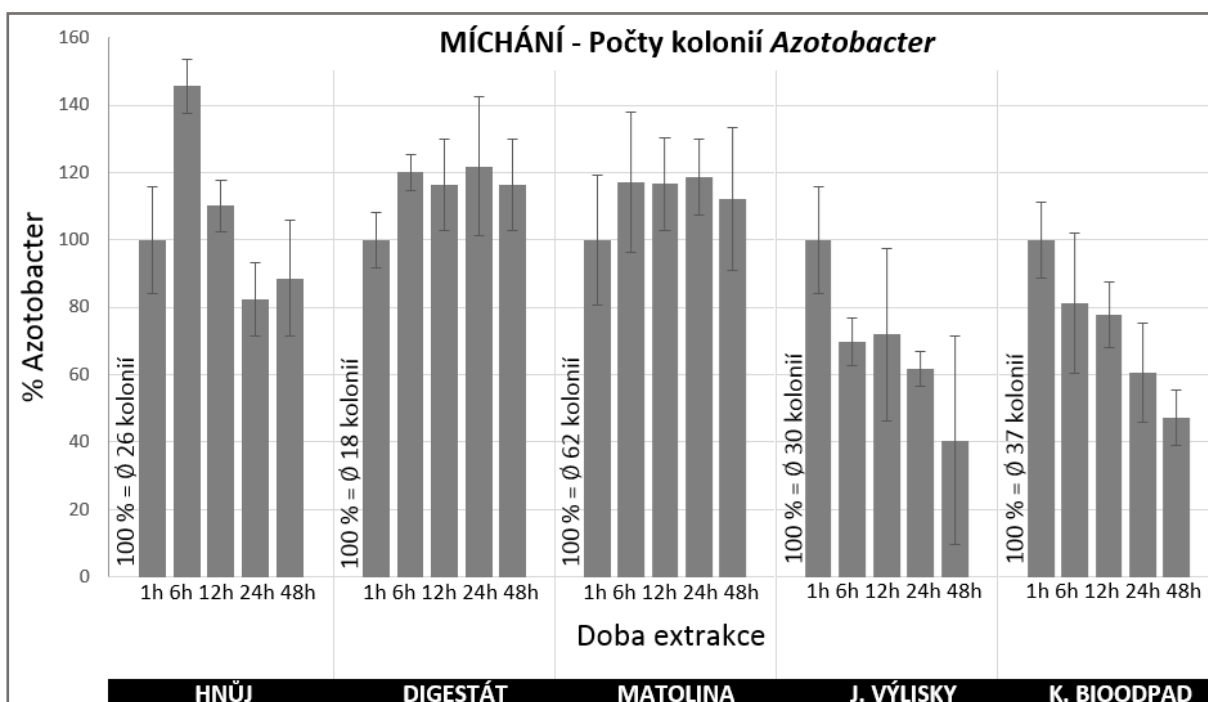
Tabulka 4 – Počty kolonií bakterií v surových vermikompostech.

Vermikompost	KTJ/g sušiny		
	Azotobacter	P-bakterie	Proteolytické bakterie
VK z digestátu	$1,2 \times 10^2$	$5,7 \times 10^2$	$3,6 \times 10^4$
VK z matoliny	$2,1 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$4,0 \times 10^4$
VK z koň. hnoje	$3,5 \times 10^2$	$3,9 \times 10^2$	$4,8 \times 10^4$
VK z jabl. výlisků	$1,1 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	$6,8 \times 10^4$
VK z kuch. odpadu	$2,9 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$	$6,2 \times 10^4$

Tabulka 5 – Počet kolonií tvořících jednotky na 1 g sušiny surových vermikompostů.

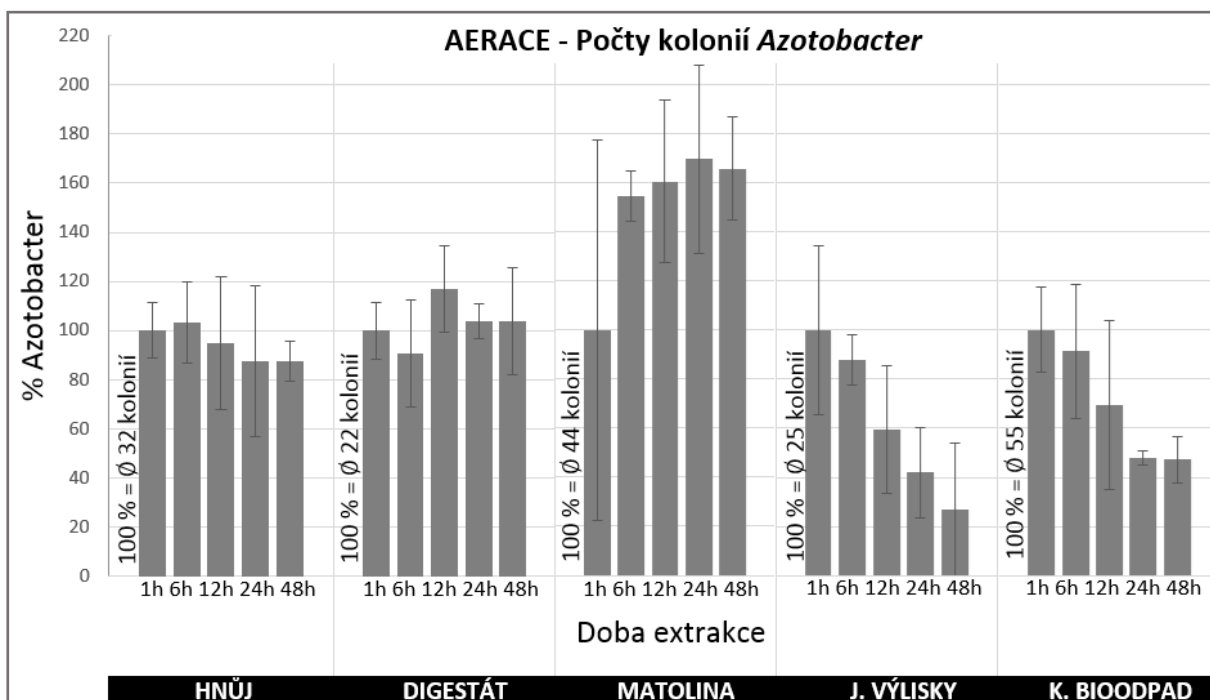
## 5.2 Trendy nárůstu a poklesu počtů kolonií bakterií rodu *Azotobacter*, P-solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií ve vodných výluzích z vermikompostů v závislosti na době extrakce

Stanovení počtů těchto druhů mikroorganismů ve vodných výluzích z vermikompostů bylo u každého vzorku provedeno opět ve třech opakováních. Ve všech druzích výluhů byl, stejně jako v případě surových vermikompostů, zaznamenán nejvyšší počet proteolytických bakterií. Bakterií rodu *Azotobacter* bylo ve výluzích až na výjimky nejméně. Oproti očekávání se v mnoha případech neprojevil výraznější vliv aerace na výsledné počty sledovaných mikroorganismů, ve srovnání s míchanými výluhy.



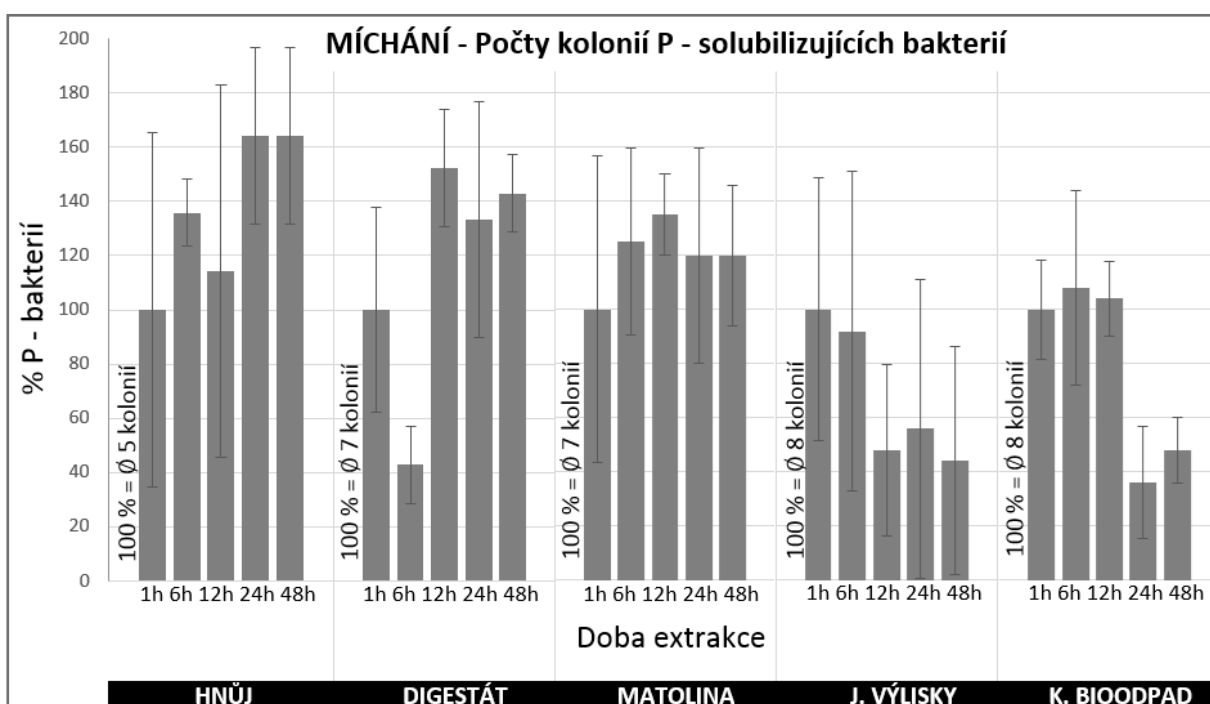
Graf 3 – Vliv doby extrakce na počty kolonií bakterií rodu *Azotobacter* v míchaných výluzích z vermikompostů

V případě míchaných výluhů z vermikompostu na bázi digestátu a matoliny, je patrný kontinuální nárůst počtů kolonií bakterií rodu *Azotobacter* až do hranice 24 h extrakce. U míchaných výluhů z vermikompostu na bázi koňského hnoje tento nárůst výrazně vrcholí již při 6 h extrakce. Kontinuální pokles počtů bakterií rodu *Azotobacter* spolu s narůstající dobou extrakce je naopak patrný u výluhů z vermikompostů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu (Graf 3).



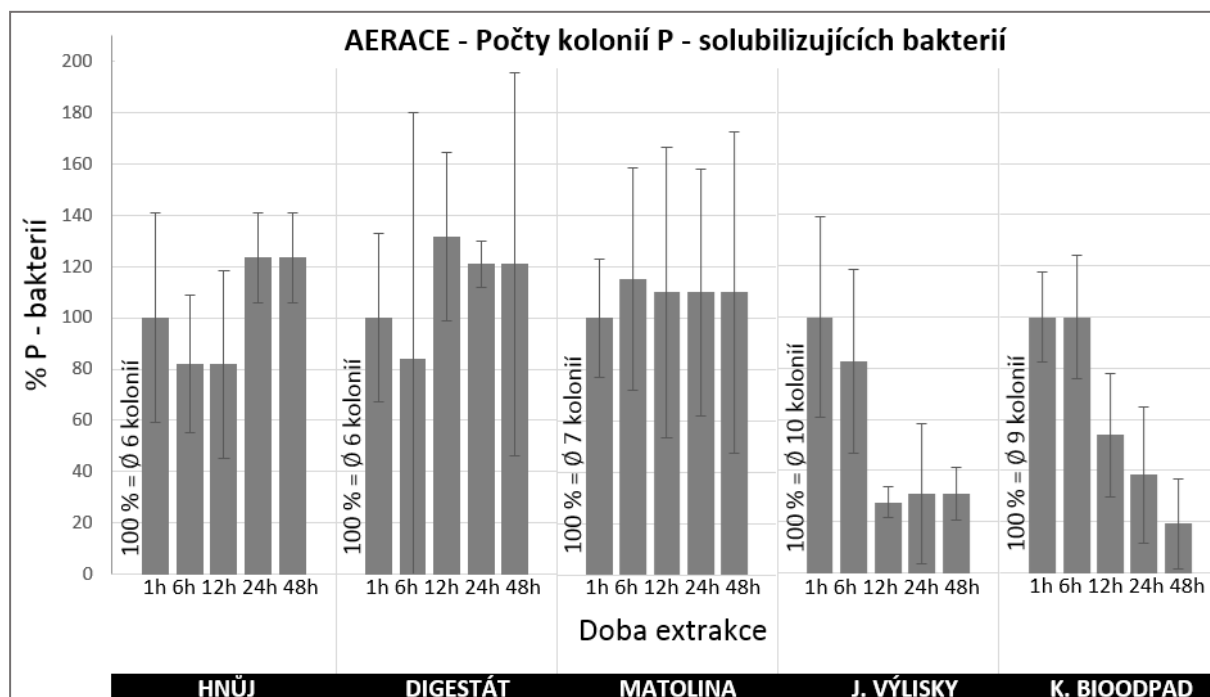
Graf 4 – Vliv doby extrakce na počty kolonií bakterií rodu *Azotobacter* v aerovaných výluzích z vermikompostů.

Po zařazení aerace do procesů extrakce jsou výsledky obdobné jako v případě míchaných výluhů. Zdá se, že počet kolonií bakterií rodu *Azotobacter* vrcholí v případě výluhu z vermikompost na bázi koňského hnoje rovněž při 6 h extrakce. Tento výsledek však není zdaleka tak výrazný jako v případě míchaných výluhů. Výrazný kontinuální pokles počtů bakterií rodu *Azotobacter* spolu s narůstající dobou extrakce je opět patrný u výluhů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu (Graf 4)



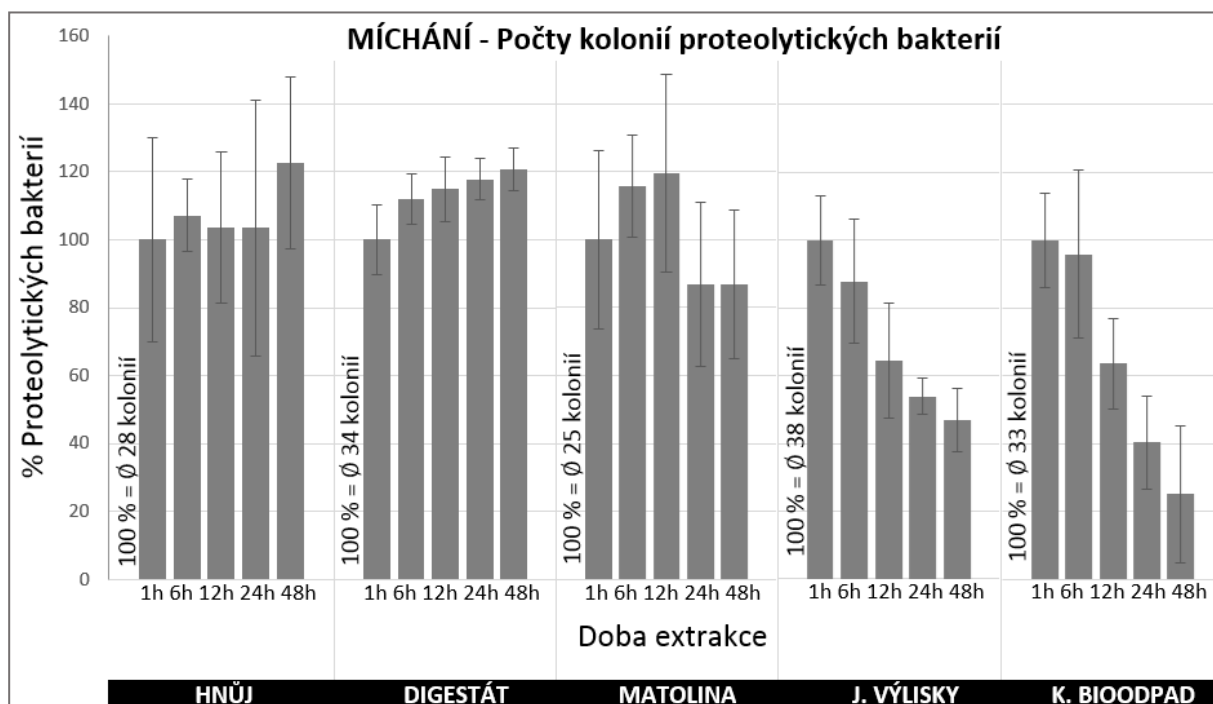
Graf 5 – Vliv doby extrakce na počty P - solubilizujících bakterií v míchaných vodných výluzích z vermikompostů.

Trend nárůstu počtů P–solubilizujících bakterií vlivem zvyšující se doby extrakce je u míchaných výluhů z vermikompostů na bázi digestátu a matoliny patrný až do hranice 12 - 24 h extrakce. V případě výluhů na bázi koňského hnoje probíhá tento nárůst až do hranice 24 – 48 h. Výluh z jablečných výlisků vykazuje stejně jako u bakterií rodu *Azotobacter*, postupný pokles počtů P - solubilizujících bakterií vlivem narůstající doby extrakce, v tomto poklesu jsou ovšem patrné vysoké směrodatné odchylky v naměřených hodnotách. V případě výluhu na bázi kuchyňského bioodpadu je pokles počtů kolonií P-solubilizujících bakterií výrazný až od hranice 24 h extrakce (Graf 5).



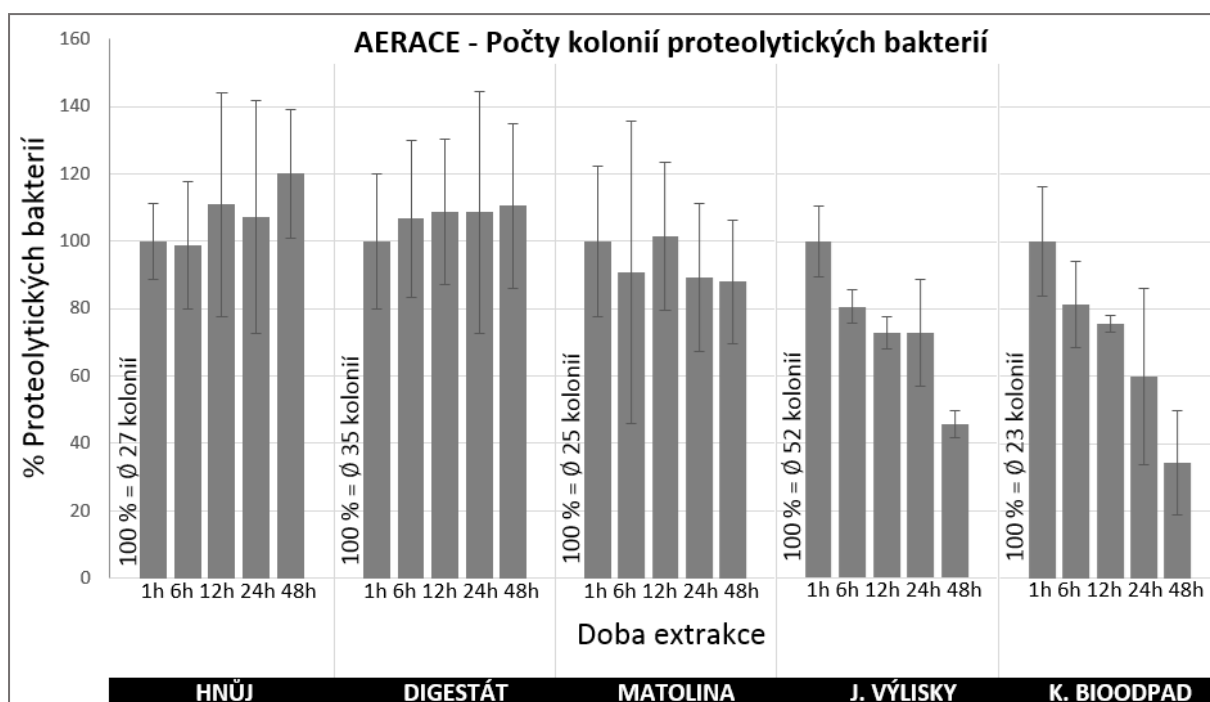
Graf 6 – Vliv doby extrakce na počty P- solubilizujících bakterií v aerovaných vodných výluzích z vermikompostů.

Po zařazení aerace jsou trendy nárůstu a poklesu počtů P - solubilizujících bakterií v závislosti na době extrakce obdobné jako v případě míchaných výluhů. Výluhy z vermikompostů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu vykazují výrazné snížení počtů kolonií P - solubilizujících bakterií již po 6 h extrakce. U výluhů z vermikompostů na bázi koňského hnoje, digestátu a matoliny se vzhledem k počtům P - solubilizujících bakterií zdá být optimální 24 h doba extrakce (Graf 6).



Graf 7 – Vliv doby extrakce na počty proteolytických bakterií v míchaných vodných výluzích z vermikompostů.

Počty kolonií proteolytických bakterií se v případě výluhů z vermikompostů na bázi koňského hnoje a digestátu zvyšují až do 48 h extrakce. U výluhů na bázi matoliny vrcholí počty kolonií proteolytických bakterií již při 6 - 12 h extrakce, poté je patrný výrazný pokles. Výluhy z vermikompostů na bázi jablečných výlísků a kuchyňského bioodpadu se opět vyznačují kontinuálním poklesem počtu kolonií proteolytických bakterií spolu s narůstající dobou extrakce (Graf 7).



Graf 8 – Vliv doby extrakce na počty proteolytických bakterií v aerovaných vodných výluzích z vermikompostů.



Po zařazení aerace jsou trendy nárůstů a poklesů počtu proteolytických bakterií v závislosti na době extrakce obdobné jako v případě míchaných výluhů (Graf 8).

### **5.3 Počty bakterií rodu *Azotobacter* ve vodných výluzích z vermikompostů**

Ze všech zkoumaných roztoků obsahovaly zdaleka nejvíce bakterií rodu *Azotobacter* výluhy z vermikompostu na bázi matoliny, přičemž nejvyššího počtu dosáhly tyto mikroorganismy za samotného míchání – 74 KTJ/ml po 24 h extrakce a při zařazení aerace pak 73 KTJ/ml po 24 h i 48 h extrakce. Výluhy z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu obsahovaly ve srovnání s ostatními výluhy rovněž zvýšené počty těchto mikroorganismů, především pak aerovaný výluh po 1 h extrakce – 55 KTJ/ml. U tohoto jediného typu výluhu je ve srovnání s míchanou variantou patrný výrazný pozitivní efekt aerace na zvýšení počtů bakterií rodu *Azotobacter* po celou dobu trvání extrakce (1 - 48h). Naopak obecně nižší počty těchto mikroorganismů byly záznameny ve výluzích z vermikompostů na bázi digestátu a jablečných výlisků. Vůbec nejnižší počty bakterií rodu *Azotobacter* pak byly zaznamenány v aerovaném výluhu na bázi jablečných výlisků po 48 h extrakce – 7 KTJ/ml.

### **5.4 Počty P – solubilizujících bakterií ve vod. výluzích z vermikompostů**

Nejvyšších počtů P – solubilizujících bakterií bylo dosaženo u míchaných výluhů z vermikompostu na bázi digestátu při 12 - 24 h extrakce, po 12 h extrakce - 110 KTJ/ml. Vysoké počty těchto mikroorganismů byly zaznamenány také u aerovaných i mísených výluhů na bázi kuchyňského bioodpadu, ovšem pouze do hranice 6 - 12 h extrakce, nejvíce pak v případě míchaného výluhu – 90 KTJ/ml. U aerovaného výluhu z jablečných výlisků při 1 h extrakce byly také zaznamenány vysoké počty P – solubilizujících bakterií - 97 KTJ/ml, tyto počty se však rapidně snižují již po 6 h extrakce. Stabilní a kontinuální nárůst počtů těchto mikroorganismů až do 48 h extrakce je naopak patrný u výluhů z koňského hnoje, v případě míchané varianty výluhu až do hodnoty 77 KTJ/ml.

### **5.5 Počty proteolytických bakterií ve vodných výluzích z vermikompostů**

Proteolytické bakterie dosáhly nejvyšších počtů v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi jablečných výlisků při 1 h extrakce -  $5,2 \times 10^3$  KTJ/ml. Poměrně vysoké a v průběhu postupující doby extrakce relativně stálé počty těchto mikroorganismů obsahují i aerované a míchané výluhy na bázi digestátu –  $3,4 - 3,9 \times 10^3$  KTJ/ml. Naopak nejméně proteolytických bakterií obsahoval aerovaný výluh z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu, zejména pak po 48 h extrakce -  $8,0 \times 10^2$  KTJ/ml. Počty proteolytických bakterií u míchaných i aerovaných výluhů na bázi kuchyňského bioodpadu se s postupující dobou extrakce neustále snižovaly.

## 6 Diskuze

Proteolytické bakterie, spolu s proteolytickými kvasinkami a plísněmi, v přírodě zabezpečují rozklad materiálů organického původu, jejich velmi vysoké počty ve všech typech surových vermikompostů a následně i ve výluzích z těchto vermikompostů jsou tedy pochopitelné. V rámci pěti druhů analyzovaných surových vermikompostů a tří sledovaných mikroorganismů byl v celkovém součtu zjištěn maximální počet bakterií u vermikompostu z kuchyňského bioodpadu.

Meenatchi et al. (2008) také pozoroval u tohoto typu vermikompostu nejvyšší populace bakterií, ve srovnání s vermikomposty na bázi rýžové slámy, plevelů, posklizňových zbytků soji a směsi těchto posklizňových zbytků s chlévskou mrvou hovězího dobytka.

V rámci aerovaných vodných výluhů z vermikompostu považuje Ingham (2005) za optimální dobu extrakce 12 – 24 h, tato doba je prý dostatečná k dosažení maximálních stavů aktivních populací mikroorganismů v roztoku.

V případě výluhů z vermikompostů na bázi digestátu a matoliny se 12 – 24 h doba extrakce zdá být z hlediska obsahů bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií skutečně optimální, a to jak v případě aerovaných výluhů, tak v případě výluhů míchaných. U aerovaných i míchaných výluhů z vermikompostu na bázi koňského hnoje se však zdá být, vzhledem k počtům sledovaných mikroorganismů, optimální dobou extrakce 48 h.

Edwards et al. (2011) uvadí, že důvodem pro zařazení aerace a dalších mísících mechanismů do procesu výroby vodných výluhů z vermikompostů, je snaha o vytvoření optimálních podmínek pro život a rozmnožování aerobních mikroorganismů v roztoku na úkor mikroorganismů anaerobních, jejichž vedlejší metabolické produkty mohou mít nepříznivé účinky na růst rostlin.

Bakterie rodu *Azotobacter* jsou aerobními mikroorganismy, mohou však růst i při sníženém parciálním tlaku kyslíku. Skupina P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií pak zahrnuje druhy jak aerobní, tak anaerobní.

V případě aerovaného výluhů na bázi kuchyňského bioodpadu byly po celou dobu extrakce skutečně zaznamenány výrazně vyšší hodnoty počtů bakterií rodu *Azotobacter* ve srovnání s výluhem míchaným. U ostatních typů výluhů však aerace většinou nezpůsobovala výrazné nárůsty počtů sledovaných bakterií, v mnoha případech tyto počty naopak snižovala. Z hlediska tří sledovaných typů mikroorganismů se proto zdá být míchání vznikajících roztoků dostatečné.

V případě výluhů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu se z hlediska počtů bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií zdá být optimální dobou extrakce pouhá 1 h. V průběhu celého experimentu byl výrazný a kontinuální pokles počtů všech sledovaných druhů bakterií spolu s postupující dobou extrakce typickým projevem míchaných i aerovaných výluhů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu. Takto výrazné poklesy populací sledovaných mikroorganismů mohou být způsobeny vzájemnými konkurenčními vztahy mezi rozdílnými skupinami přítomných mikroorganismů, z nichž některým mohou životní podmínky

v těchto typech vodných výluhů vyhovovat více a jiným méně. K podrobnější analýze by však bylo zapotřebí více informací, jak z oblasti mikrobiologických rozborů, tak z oblasti rozborů chemických. Fritz et al. (2012) ve své studii, zaměřené na mikrobiologické analýzy výluhů z vermikompostu, zkoumá vlivy různých druhů aditiv, jakožto bonusových zdrojů uhlíku pro přítomné mikroorganismy. Cílem těchto pokusů bylo zajistit co možná největší nárůst celkové mikrobiální biomasy pomocí přísad různých látek do vznikajících vodných výluhů. Jedním z těchto aditiv byla i kyselina citrónová. Po přidání této kyseliny hned na počátku celého procesu dosáhly po 72 h extrakce celkové počty bakterií -  $6,1 \times 10^7$  KTJ/ml, při 96 h extrakce byly počty bakterií již  $2,8 \times 10^7$ . Je proto možné, že na bakterie rodu *Azotobacter*, P – solubilizující bakterie a na proteolytické bakterie přítomné ve výluhách z vermikompostů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu, mají obdobný účinek některé druhy kyselin, které se v těchto roztocích mohou nacházet. Určité druhy bakterií, například některé coliformní bakterie jsou schopné využívat tyto organické kyseliny jako jediný zdroj uhlíku a energie. Bakterie rodu *Azotobacter*, P – solubilizující bakterie a proteolytické bakterie však zřejmě nejsou schopné tyto kyseliny jakožto zdroj uhlíku zužitkovat. Svou roli mohou hrát také antibakteriální účinky těchto kyselin.

Mohan et al. (2012) například dokazuje ve své studii schopnosti organických kyselin jako je kyselina citronová, malonová, fumarová a řady dalších, potlačovat do určité míry bakterii druhu *Escherichia coli*.

## 7 Závěr

Nejvyšší počty kolonií bakterií rodu *Azotobacter* a P – solubilizujících bakterií v surových vermikompostech byly zaznamenány u vermikompostů na bázi koňského hnoje, matoliny a kuchyňského bioodpadu. Nejvyšší počty kolonií proteolytických bakterií pak u vermikompostů na bázi digestátu a matoliny. Po 1 h extrakce byl u všech druhů vodných výluhů, ve srovnání se surovými vermikomposty, zaznamenán velmi výrazný nárůst počtů kolonií bakterií rodu *Azotobacter*. Naproti tomu v případě P – solubilizujících bakterií byl nárůst počtů kolonií pozorován pouze u výluhů z vermikompostu na bázi digestátu, jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu, přičemž tato zvýšení nebyla nikterak výrazná. Výrazný nárůst počtů proteolytických bakterií, ve srovnání se surovými vermikomposty, byl po 1 h extrakce zaznamenán u výluhů z vermikompostu na bázi koňského hnoje, jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu, naproti tomu u výluhů z vermikompostu na bázi digestátu došlo k mírnému poklesu počtu kolonií těchto mikroorganismů a v případě výluhů z vermikompostu na bázi matoliny dokonce k výraznému poklesu počtu kolonií těchto mikroorganismů ve srovnání s výchozím surovým vermikompostem.

Celkově nejvyšší počty kolonií bakterií rodu *Azotobacter* byly zaznamenány v míchaném a aerovaném vodném výluhu z vermikompostu na bázi matoliny po 24 h extrakce. V případě P – solubilizujících bakterií byly celkově nejvyšší počty kolonií zaznamenány v míchaném vodném výluhu

z vermikompostu na bázi digestátu po 12 h extrakce. Celkově nejvyšší počty kolonií proteolytických bakterií pak byly zaznamenány v míchaném vodném výluhu z vermikompostu na bázi digestátu po 48h extrakce.

Trendy nárůstu a poklesu počtů jednotlivých druhů mikroorganismů ve sledovaných vodných výluzích z vermikompostu, v závislosti na prodlužující se době extrakce, vypovídají o značné odlišnosti vodných výluhů z vermikompostu na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu od ostatních typů roztoků. Tyto výluhy, na rozdíl od ostatních typů roztoků, vykazovaly výrazný a kontinuální pokles počtů sledovaných mikroorganismů spolu s postupující dobou extrakce. Oproti očekávání, zařazení aerace v naprosté většině případů nezpůsobilo výraznější nárůst mikrobiální biomasy ve zkoumaných výluzích, často byly naopak zaznamenány poklesy počtů sledovaných mikroorganismů. Z hlediska obsahu bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií v aerovaných i míchaných výluzích z vermikompostů na bázi digestátu a matoliny se 12 – 24 h extrakce zdá být pro tyto typy roztoků optimální. V případě aerovaných i míchaných výluhů z vermikompostu na bázi koňského hnoje se však zdá být, vzhledem k počtům sledovaných mikroorganismů, optimální dobou extrakce - 48 h. U výluhů na bázi jablečných výlisků a kuchyňského bioodpadu by mělo být optimální dobou extrakce pouhá 1 h. Ovšem sledované počty výše zmíněných mikroorganismů jsou jen malou částí komplexní studie a bez přihlédnutí k ostatním dílčím výsledkům nelze činit ohledně optimální doby extrakce, či efektivity aerace, jakékoli definitivní závěry. Výsledné hodnoty ze třech opakování stanovení počtů kolonií bakterií rodu *Azotobacter*, P – solubilizujících bakterií a proteolytických bakterií též vykazují v řadě případů neobvykle vysoké odchylky, z tohoto důvodu by další měření, s vyšším počtem opakování, mohlo výrazně zpřesnit trendy nárůstu a poklesu počtů jednotlivých druhů mikroorganismů ve sledovaných vodných výluzích z vermikompostu, v závislosti na prodlužující se době extrakce.

## 8 Seznam literatury

Ambrožová, J. 2004. Mikrobiologie v technologii vod. Vysoká škola chemicko-technologická. Praha. 244 s. ISBN: 80-7080-534-X.

Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Yardim, F., Lee, S. 2002. Management of plant parasitic nematodes by use of vermicomposts. The BCPC Conference – Pests and Diseases 2002 Vol. 1. 18-21th November 2002, Brighton, UK, p. 705-710. ISBN: 1-901396-62-2.

Arancon, N. Q., Edwards, C. A., Dick, R., Dick, L. 2007. Vermicompost tea production and plant growth impacts. *BioCycle*. 48. 51-52.

Arancon, N. Q., Pant, A., Radovich, T., Hue, N. V., Potter, J. K., Converse, Ch. E. 2012. Seed germination and seedling growth of tomato and lettuce as affected by vermicompost water extracts (teas). *HortScience*. 47 (12). 1722-1728.

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova, A. L., Facanha, A. R. 2000. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol*. 130. 1951-1957.

Das, B. B., Dkhar, M. S. 2011. Rhizosphere microbial populations and physico chemical properties as affected by organic and inorganic farming practices. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 10 (2). 140-150.

Devi, S. H., Vijayalakshmi, K., Jyotsna, K. P., Shaheen, S. K., Jyothi, K., Rani, M. S. 2009. Comparative assessment in enzyme activities and microbial populations during normal and vermicomposting. *Journal of Environmental Biology*. 30 (6). 1013-1017.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Greytak, S. 2006. Effects of vermicompost teas on plant growth and disease. *BioCycle*. 47. 28-31.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Vasko-Bennett, M., Askar, A., Keeney, G. 2009. Effect of aqueous extracts from vermicomposts on attacks by cucumber beetles (*Acalymna vittatum*) (Fabr.) on cucumbers and tobacco hornworm (*Manduca sexta*) (L.) on tomatoes. *Pedobiologia*. 53. 141-148.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Vasko-Bennett, M., Askar, A., Keeney, G., Little, B. 2009. Suppression of green peach aphid (*Myzus persicae*) (Sulz.), citrus mealy bug (*Planococcus citri*) (Risso), and two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Koch.) attacks on tomatoes and cucumbers by aqueous extracts from vermicomposts. *Crop Protection*. 29. 80-93.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Sherman, R. L. (eds.). 2011. *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management*. CRC Press. New York. p. 623. ISBN: 978-1-4398-0987-7.

Fritz, I., Haindl, S., Pruckner, M., Braun, R. 2008. Effects of vermicompost-tea on plant growth and crop yield. International congress Codis 2008. 27-29th February 2008, Solothurn, Switzerland. p. 117-118. ISBN: 978-3-03736-016-3.

Fritz, J. I., Franke-Whittle, I. H., Haindl, S., Insam, H., Braun, R. 2012. Microbial community analysis of vermicompost tea and its influence on the growth of vegetables and cereals. *Canadian Journal of Microbiology*. 58. 836-847.

- Garcia-Gomez, R. C., Dendooven, L., Gutierrez-Miceli, F. A. 2008. Vermicomposting leachate (worm tea) as liquid fertilizer for maize (*Zea mays L.*) forage production. *Asian Journal of Plant Sciences*. 7 (4). 360-367.
- Ingham, E. R. The compost tea brewing manual [online]. Corvallis. Soil Foodweb Inc. duben 2005 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z <http://www.nofanj.org/LiteratureRetrieve.aspx?ID=104151>.
- Kumari, A., Kumar, R., Maurya, S., Choudhary, J. S., Kumar, S. 2013. Antifungal efficacy of aqueous extracts of neem cake, karanj cake and vermicompost against some phytopathogenic fungi. *The BioScan*. 8 (2). 671-674.
- Lakshmi, Ch. S. R., Rao, P. C., Sreelatha, T., Madahvi, M., Padmaja, G., Rao, P. V., Sireesha, A. 2013. Manurial value of different vermicomposts and conventional composts. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science*. 2 (2). 59-64.
- Maheshwari, D. K. 2010. *Plant Growth and Health Promoting Bacteria*. Springer. Berlin. p. 464. ISBN: 978-3-642-13611-5.
- Manandhar, T., Yami, K. D., 2008. Biological control of foot rot disease of rice using fermented products of compost and vermicompost. *Scientific World*. 6 (6). 52-57.
- Meenatchi, R., Giraddi, R. S., Awaknavar, J. S., Biradar, P. 2009. Effect of food substrates and earthworm species on microbial activity in vermicompost and vermiwash. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*. 22 (5). 1020-1022.
- Mohan, A., Pohlman, F. W., Ricke, S. C., Milillo, S. R., McDaniel, J. A., Bryan, C. A. O., Crandall, P. G. The antimicrobial efficacies of novel organics acids as single antibacterial intervention for the control of *Echerichia coli* O157:H7 in inoculated beef trimmings [online]. Fayetteville. University of Arkansas. únor 2012 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z <http://arkansasagnews.uark.edu/597-26.pdf>.
- Nakasone, A. K., Bettiol, W., de Souza, R. M. 1999. The effect of water extracts of organic matter on plant pathogens. *Summa Phytopathol*. 25. 330-335.
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., Thonart, P. 2011. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant and health. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 15 (2). 327-337.
- Pant, A., Radovich, T. J. K., Hue, N. V., Arancon, N. Q. 2011. Effects of vermicompost tea (aqueous extract) on pak choi yield, quality, and on soil biological properties. *Compost Science & Utilization*. 19 (4). 279-292.
- Pathma, J., Sakthivel, N. Microbial diversity of vermicompost exhibit useful agricultural traits and management potential. SpringerPlus [online]. 2012 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z <http://link.springer.com/article/10.1186%2F2193-1801-1-26#page-1>.
- Pramanik, P., Kim, S. Y., Kim, P. J. 2011. Changes in fungal and bacterial diversity during vermicomposting of industrial sludge and poultry manure mixture: detecting the mechanism of plant growth promotion by vermicompost. In: Matovic, D. (ed.). *Biomass – Detection, Production and Usage*. InTech. Rijeka. p. 113-124. ISBN: 978-953-307-492-4.
- Radovich, T. J. K., Arancon, N. Q. *Tea Time in the Tropics* [online]. Honolulu. University of Hawaii. 2011 [cit. 2014-03-30]. Dostupné z [http://www.sare.org/content/download/66749/944806/Compost\\_Tea\\_Manual.pdf](http://www.sare.org/content/download/66749/944806/Compost_Tea_Manual.pdf).

Šimon, T., Mikanová, O. 2010. Využití a podpora bakterií rodu *Azotobacter* pro výživu rostlin. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 23 s. ISBN: 978-80-7427-040-6.

Mikanová, O., Šimon, T. 2011. Alternativní výživa rostlin fosforem. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 21 s. ISBN: 978-80-7427-080-2.

Welke, S. E., 2005. The effect of compost extract on the yield of strawberries and the severity of *Botrytis cinerea*. Journal of Sustainable Agriculture. 25. 57–68.

Weltzien, H. C., 1990. The use of composted materials for leaf disease suppression in field crops. In: Unwin, R. J. (ed.). Monograph - British Crop Protection Council no. 45. BCPC. Farnham. p. 115-120. ISBN: 0948404442-9780948404443.

Weltzien, H. C. 1991. Biocontrol of foliar fungal disease with compost extracts. In: Andrews, J. H., Hirano, S. S. (eds.). Microbial Ecology of Leaves. Springer-Verlag. New York. p. 430-450. ISBN: 978-1-4612-7822-1.

Zaller, J. G. 2006. Foliar spraying of vermicompost extracts: effects on fruit quality and indications of late-blight suppression of field-grown tomatoes. Biological Agriculture and Horticulture. 24. 165-180

## 9 Přílohy

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$
Koňský hnůj MÍCHÁNÍ	1 h	23	25	31	26,3	4,2	2	8	4	4,7	3,1	27	36	21	28,0	7,5
	6 h	36	40	39	38,3	2,1	6	6	7	6,3	0,6	27	33	30	30,0	3,0
	12 h	31	27	29	29,0	2,0	4	3	9	5,3	3,2	24	27	36	29,0	6,2
	24 h	20	20	25	21,7	2,9	9	8	6	7,7	1,5	18	39	30	29,0	10,5
	48 h	28	19	23	23,3	4,5	8	6	9	7,7	1,5	33	28	42	34,3	7,1

Tab 1 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v míchaném výluhu z vermikompostu na bázi koňského hnoje.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Koňský hnůj MÍCHÁNÍ	1 h	26	47	$2,8 \times 10^3$
	6 h	38	63	$3,0 \times 10^3$
	12 h	29	53	$2,9 \times 10^3$
	24 h	22	77	$2,9 \times 10^3$
	48 h	23	77	$3,4 \times 10^3$

Tab 2 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml míchaného výluhu z vermikompostu na bázi koňského hnoje.



Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$
Koňský hnůj AERACE	1 h	36	29	31	32,0	3,6	7	3	7	5,7	2,3	30	28	24	27,3	3,1
	6 h	27	35	37	33,0	5,3	3	6	5	4,7	1,5	24	33	24	27,0	5,2
	12 h	32	21	38	30,3	8,6	4	7	3	4,7	2,1	40	22	29	30,3	9,1
	24 h	25	39	20	28,0	9,8	7	8	6	7,0	1,0	40	26	22	29,3	9,5
	48 h	31	27	26	28,0	2,6	7	6	8	7,0	1,0	29	31	39	33,0	5,3

Tab 3 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi koňského hnoje.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Koňský hnůj AERACE	1 h	32	57	$2,7 \times 10^3$
	6 h	33	67	$2,7 \times 10^3$
	12 h	30	70	$3,0 \times 10^3$
	24 h	28	70	$2,9 \times 10^3$
	48 h	28	70	$3,3 \times 10^3$

Tab 4 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml aerovaného výluhu z vermikompostu na bázi koňského hnoje.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$
Digestát MÍCHÁNÍ	1 h	20	17	18	18,3	1,5	5	6	10	7,0	2,6	34	37	30	33,7	3,5
	6 h	23	21	22	22,0	1,0	3	4	2	3,0	1,0	38	35	40	37,7	2,5
	12 h	19	24	21	21,3	2,5	11	9	12	10,7	1,5	41	40	35	38,7	3,2
	24 h	25	24	18	22,3	3,8	10	6	12	9,3	3,1	42	39	38	39,7	2,1
	48 h	24	19	21	21,3	2,5	9	11	10	10,0	1,0	43	40	39	40,7	2,1

Tab 5 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v míchaném výluhu z vermikompostu na bázi digestátu.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Digestát MÍCHÁNÍ	1 h	18	70	3,4x10 <sup>3</sup>
	6 h	22	30	3,7x10 <sup>3</sup>
	12 h	21	1,1x10 <sup>2</sup>	3,8x10 <sup>3</sup>
	24 h	22	93	3,9x10 <sup>3</sup>
	48 h	21	1,0x10 <sup>2</sup>	3,8x10 <sup>3</sup>

Tab 6 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml míchaného výluhu z vermikompostu na bázi digestátu.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.
		N					I. ředění					II. ředění				
A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$		
Digestát AERACE	1 h	19	22	24	21,7	2,5	8	7	4	6,3	2,1	27	38	40	35,0	7,0
	6 h	25	16	18	19,7	4,7	4	0	12	5,3	6,1	43	28	41	37,3	8,1
	12 h	21	28	27	25,3	3,8	9	10	6	8,3	2,1	37	46	31	38,0	7,5
	24 h	21	24	22	22,3	1,5	8	8	7	7,7	0,6	26	37	51	38,0	12,5
	48 h	26	24	17	22,3	4,7	6	4	13	7,7	4,7	29	45	42	38,7	8,5

Tab 7 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi digestátu.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Digestát AERACE	1 h	22	67	3,5 x 10 <sup>3</sup>
	6 h	20	80	3,7 x 10 <sup>3</sup>
	12 h	25	83	3,8 x 10 <sup>3</sup>
	24 h	22	77	3,8 x 10 <sup>3</sup>
	48 h	22	73	3,9 x 10 <sup>3</sup>

Tab 8 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml aerovaného výluhu z vermikompostu na bázi digestátu.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$
Matolina MÍCHÁNÍ	1 h	74	50	63	62,3	12,0	11	4	5	6,7	3,8	31	27	18	25,3	6,7
	6 h	80	81	58	73,0	13,0	11	7	7	8,3	2,3	25	32	31	29,3	3,8
	12 h	79	63	76	72,7	8,5	9	10	8	9,0	1,0	22	33	36	30,3	7,4
	24 h	82	71	69	74,0	7,0	6	11	7	8,0	2,6	19	18	29	22,0	6,1
	48 h	85	60	65	70,0	13,2	9	9	6	8,0	1,7	28	17	21	22,0	5,6

Tab 9 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v míchaném výluhu z vermikompostu na bázi matoliny.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Matolina MÍCHÁNÍ	1 h	62	53	2,5x10 <sup>3</sup>
	6 h	73	83	2,9x10 <sup>3</sup>
	12 h	71	90	3,0x10 <sup>3</sup>
	24 h	74	80	2,2x10 <sup>3</sup>
	48 h	70	80	2,2x10 <sup>3</sup>

Tab 10 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml míchaného výluhu z vermikompostu na bázi matoliny.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$
Matolina AERACE	1 h	68	59	5	44,0	34,1	7	8	5	6,7	1,5	30	19	26	25,0	5,6
	6 h	73	64	67	68,0	4,6	11	6	6	7,7	2,9	20	35	13	22,7	11,2
	12 h	69	57	86	70,7	14,6	10	3	9	7,3	3,8	29	19	28	25,3	5,5
	24 h	89	56	79	74,7	16,9	5	6	11	7,3	3,2	17	22	28	22,3	5,5
	48 h	83	71	65	73,0	9,2	12	4	6	7,3	4,2	27	18	21	22,0	4,6

Tab 11 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi matoliny.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Matolina AERACE	1 h	60	67	$2,5 \times 10^3$
	6 h	68	77	$2,3 \times 10^3$
	12 h	71	77	$2,5 \times 10^3$
	24 h	73	73	$2,2 \times 10^3$
	48 h	73	73	$2,2 \times 10^3$

Tab 12 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml aerovaného výluhu z vermikompostu na bázi matoliny.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.
		N					I. ředění					II. ředění				
A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$		
Jablečné výlisky MÍCHÁNÍ	1 h	26	28	35	29,7	4,7	13	6	6	8,3	4,0	43	39	33	38,3	5,0
	6 h	20	23	19	20,7	2,1	11	2	10	7,7	4,9	41	33	27	33,7	7,0
	12 h	18	30	16	21,3	7,6	3	7	2	4,0	2,6	25	18	31	24,7	6,5
	24 h	18	17	20	18,3	1,5	2	10	2	4,7	4,6	23	20	19	20,7	2,1
	48 h	10	22	4	12,0	9,2	4	0	7	3,7	3,5	14	19	21	18,0	3,6

Tab 13 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v míchaném výluhu z vermikompostu na bázi jablečných výlisků.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Jablečné výlisky MÍCHÁNÍ	1 h	30	83	$3,8 \times 10^3$
	6 h	21	77	$3,4 \times 10^3$
	12 h	21	40	$2,5 \times 10^3$
	24 h	18	47	$2,5 \times 10^3$
	48 h	36	37	$1,8 \times 10^3$

Tab 14 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml míchaného výluhu z vermikompostu na bázi jablečných výlisků.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$
Jablečné výlisky AERACE	1 h	16	33	25	24,7	8,5	7	14	8	9,7	3,8	57	46	52	51,7	5,5
	6 h	19	24	22	21,7	2,5	6	6	12	8,0	3,5	42	44	39	41,7	2,5
	12 h	10	22	12	14,7	6,4	3	2	3	2,7	0,6	38	40	35	37,7	2,5
	24 h	15	10	6	10,3	4,5	4	5	0	3,0	2,6	34	47	32	37,7	8,1
	48 h	15	2	3	6,7	7,2	2	3	4	3,0	1,0	23	22	26	23,7	2,1

Tab 15 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi jablečných výlisků.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Jablečné výlisky AERACE	1 h	25	97	$5,2 \times 10^3$
	6 h	22	80	$4,2 \times 10^3$
	12 h	15	27	$3,8 \times 10^3$
	24 h	10	30	$3,8 \times 10^3$
	48 h	7	30	$2,4 \times 10^3$

Tab 16 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml aerovaného výluhu z vermikompostu na bázi jablečných výlisků.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií N				směr. odch.	Počty kolonií I. ředění				směr. odch.	Počty kolonií II. ředění				směr. odch.
		A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{X}$	$\sigma$
Kuchyňský bioodpad MÍCHÁNÍ	1 h	42	36	34	37,3	4,2	8	10	7	8,3	1,5	28	34	37	33,0	4,6
	6 h	28	39	24	30,3	7,8	12	9	6	9,0	3,0	41	28	26	31,7	8,1
	12 h	30	25	32	29,0	3,6	10	8	8	8,7	1,2	16	23	24	21,0	4,4
	24 h	29	19	20	22,7	5,5	2	2	5	3,0	1,7	13	9	18	13,3	4,5
	48 h	15	17	21	17,7	3,1	4	5	3	4,0	1,0	5	16	4	8,3	6,7

Tab 17 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v míchaném výluhu z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Kuchyňský bioodpad MÍCHÁNÍ	1 h	37	90	$3,3 \times 10^3$
	6 h	30	90	$3,2 \times 10^3$
	12 h	29	87	$2,1 \times 10^3$
	24 h	23	30	$1,3 \times 10^3$
	48 h	18	40	$8,3 \times 10^2$

Tab 18 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml míchaného výluhu z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu.

Typ výluhu	Doba extrakce	Azotobacter					P - bakterie					Proteolytické bakterie				
		Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.	Počty kolonií				směr. odch.
		N					I. ředění					II. ředění				
A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$	A	B	C	$\bar{x}$	$\sigma$		
Kuchyňský bioodpad AERACE	1 h	61	44	60	55,0	9,5	10	9	7	8,7	1,5	25	26	19	23,3	3,8
	6 h	58	60	33	50,3	15,0	8	11	7	8,7	2,1	22	19	16	19,0	3,0
	12 h	60	30	25	38,3	18,9	7	4	3	4,7	2,1	17	18	18	17,7	0,6
	24 h	28	25	26	26,3	1,5	2	6	2	3,3	2,3	21	10	11	14,0	6,1
	48 h	29	28	21	26,0	4,4	3	0	2	1,7	1,5	12	7	5	8,0	3,6

Tab 19 – Počty kolonií sledovaných skupin bakterií v aerovaném výluhu z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu.

Typ výluhu	Doba extrakce	KTJ/ml		
		Azotobacter	P - bakterie	Proteolytické bakterie
Kuchyňský bioodpad AERACE	1 h	55	87	$2,3 \times 10^3$
	6 h	50	87	$1,9 \times 10^3$
	12 h	38	47	$1,7 \times 10^3$
	24 h	26	33	$1,4 \times 10^3$
	48 h	26	17	$8,0 \times 10^2$

Tab 20 – Počty kolonií tvořící jednotky na 1 ml aerovaného výluhu z vermikompostu na bázi kuchyňského bioodpadu.

