

**Mendelova univerzita v Brně**

**Agronomická fakulta**

**Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin**

---



**Vliv vermikompostu na růst rostlin a rozvoj  
mykorhizní symbiózy**

Diplomová práce

*Vedoucí diplomové práce:*

Ing. Michaela Stroblová, Ph.D.

*Vypracovala:*

Bc. Ladislava Prokopová

---

Brno 2015

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Vliv vermikompostu na růst rostlin a rozvoj mykorhizní symbiózy vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne: 29. 04. 2015

## Poděkování

Chci poděkovat mojí vedoucí diplomové práce Ing. Michaele Stroblové, Ph.D. za vedení při zakládání nádobovém experimentu a pravidelnou zálivku rostlin. Dále za připomínky, vedení a kontrolu v celé práci.

Poděkování patří též vedení společnosti Bioaktiv CZ, s. r. o. za umožnění skloubit práci se studiem.

## Vliv vermikompostu na růst rostlin a rozvoj mykorhizní symbiózy

### Abstrakt

Teoretická část práce je věnována výrobě vermikompostu, chovu žížal a arbuskulární mykorhizní symbióze.

Praktická část se zabývá postupem nádobového pokusu se salátem (*Lactuca sativa*), dále vyhodnocením a zpracováním výsledků do tabulek a grafů. Cílem práce je experimentálně zjistit vliv vermikompostu na růst rostliny a potvrdit vliv kolonizace kořene mykorhizními houbami.

Vliv vermikompostu na průměrnou hmotnost sušiny nadzemní i podzemní hmoty se potvrdil a byl pozorován významný rozdíl. Vermikompost měl také vliv na délku mimokořeného mycelia na cm<sup>2</sup> membránového filtru. Vliv na procento kolonizace kořene se jednoznačně nepotvrdil. U přípravku Symbivit se potvrdil vliv na nadzemní i podzemní biomasu a také na délku mimokořeného mycelia. Vliv na procento kolonizace kořenů se nijak významně neprojevil.

Klíčová slova: *Vermikompost, arbuskulární mykorhizní symbióza, Eisenia andrei*

# **Influence vermicompost on plant growth and development of micorrhizal symbiosis**

## **Abstract**

The theoretical part is devoted to the production of vermi compost, earthworm breeding and arbuscular mycorrhizal symbiosis.

The practical part of the procedure followed in establishing container experiment with lettuce (*Lactuca sativa*), further evaluation and processing of results in tables and graphs. The aim was to experimentally determine the effect on plant growth vermi compost. Furthermore, it aims to validate the influence of colonization root mycorrhizal fungi.

Effect of vermi compost to an average dry weight of aboveground and underground materials was confirmed and significant difference was observed. Vermicompost had also an influence on the length outer root root hyphae per cm<sup>2</sup> membrane filter. Impact on the percentage of root colonization was clearly confirmed. In addition, as of Symbivit mycorrhizal positive influence on above and below ground biomass and the length outside the root hyphae. Impact on the percentage of root colonization was not significantly manifested.

**Keywords:** *Vermicompost, arbuscular micorrhizal symbiosis, Eisenia andrei*

## OBSAH

<b>1. Úvod .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Přehled literatury .....</b>	<b>2</b>
2. 1 Vermikompostování .....	2
2. 1. 1 Technologie vermikompostování .....	2
2. 1. 2 Žížala červená kalifornská .....	9
2. 1. 3 Ekonomické aspekty vermikompostování a přínos pro uživatele .....	10
2. 1. 4 Přínosy vermikompostování .....	12
2. 2 Mykorhizní symbióza .....	12
2. 2. 1 Význam mykorhizy pro růst rostlin .....	15
2. 2. 2 Arbuskulární mykorhizní symbióza .....	16
<b>3. Cíl práce .....</b>	<b>22</b>
<b>4. Materiál a Metody .....</b>	<b>23</b>
4. 1 Založení pokusu .....	23
4. 2 Vyhodnocení vzorků .....	26
4. 2. 1 Hmotnost sušiny nadzemní a podzemní biomasy .....	26
4. 2. 2 Kolonizace kořenů mykorhizními houbami .....	26
4. 2. 3 Hodnocení rozvoje mimokořenového mycelia .....	28
4. 3 Statistické vyhodnocení .....	29
<b>5. Výsledky .....</b>	<b>30</b>
<b>6. Diskuze .....</b>	<b>38</b>
<b>7. Závěr .....</b>	<b>40</b>
<b>8. Seznam citované literatury .....</b>	<b>41</b>

# 1. ÚVOD

Půda je základním prvkem obživy nejen lidí, ale i zvířat. Žádná složka životního prostředí bez půdy neobejde. Proto je třeba se o půdu starat, aby splňovala trvalou udržitelnost. Jedním ze způsobů je dodání kvalitního organického materiálu.

K získání kvalitního organického materiálu slouží systém zpracování biologicky rozložitelných odpadů, zvané vermikompostování. Vermikompostování je technologie, kdy organický materiál zpracují žížaly a výsledný produkt má velmi pozitivní vliv na kvalitu půdy a mikrobiologickou aktivitu. Vermikompostování je proces, kdy minerální látky se mění nejen vlivem chemických, ale i biochemických přeměn.

Součástí každého ekosystému, tudíž i půdy, jsou také mykorhizní houby. Jsou to houby, které žijí v symbióze s kořeny rostlin a vzájemně prosperují. Základem vztahu je dvousměrný tok živin. Na jedné straně uhlíkaté sloučeniny směřují od rostlin k houbě a anorganické látky od houby k rostlině. Těmto houbám rostliny vděčí za zvýšení příjmu některých živin, zlepšení vodního režimu rostliny, odolnosti rostlin proti kořenovým patogenům a zvýšení odolnosti rostlin vůči některým abiotickým faktorům. Prospěšné jsou i pro půdu, kde zlepšují půdní strukturu pomocí mycelia.

Díky potvrzení prospěšnosti mykorhizních hub se stále hledají způsoby, jak podpořit vznik této symbiózy v praxi. Toto se provádí různými způsoby, jak zapravením do půdy, očkovaním kořenů nebo semen rostlin.

Technologie s použitím mykorhizních hub se stále rozšiřují, proto se dá usoudit, že jsou stále více zahrnovány jako podpůrně prostředky ke zlepšení efektivity hospodaření v zemědělské, lesnické ale i zahradnické sféře. Dle poznatků a ověření lze také usoudit, že jsou částečnou alternativou či doplňkem konvenčního hnojení. V budoucnu možná i nahrazení dávky minerálních hnojiv. Detailnější výzkum by mohl být klíčem k efektivnějšímu a ekologičtějšímu způsobu hospodaření.

## **2. PŘEHLED LITERATURY**

### **2. 1 Vermikompostování**

Vermikompostování je jeden ze způsobu kompostování, kdy je využívána činnost žížal. Pomocí jejich enzymů v trávicím traktu se přeměňuje bioodpad na velmi kvalitní organické hnojivo – vermikompost.

Vermikompostování je biooxidační a stabilizační proces přeměny organických materiálů, který na rozdíl od klasického kompostování využívá interakce mezi intenzivní činností žížal a mikroorganismů a nezahrnuje termofilní fázi rozkladu (Dominguez a Edwards, 2011).

Technologie vermikompostování mění neblahé vlastnosti bioodpadů, které mohou být zdrojem znečištění životního prostředí (procesy hniloby, zápach a líhnutí choroboplodných zárodků), snižuje objem odpadu a zlepšuje strukturu odpadu. Při procesu je získáván produkt k výživě rostlin, k udržení půdní úrodnosti, zamezení půdní únavy (Zajonc, 1992).

Vermikompost má ve srovnání s klasickým kompostem výrazně lepší vlastnosti. Je bohatý na živiny, ale také obsahuje vysoce kvalitní humus, růstové hormony, enzymy a látky, které jsou schopné chránit rostliny před škůdci a chorobami. Dále zvyšuje nutriční hodnotu produktů a omezuje vstup cizorodých látek do rostlin. Hnojení vermikompostem tedy šetří producentům plodin peníze za průmyslová hnojiva a pesticidy (Sinha et al., 2010)

#### **2. 1. 1 Technologie vermikompostování**

Stejně jak u kompostování, tak i u vermikompostování existuje několik typů systémů zpracování.

1) Malé vermikompostéry

2) Velkoprodukční vermikompostování

- plošné vermikompostování
- vermikompostování v ohraničených záhonech



### 3) Složitější systémy vermikompostování

- vermireaktory
- dvoumodulové vermireaktory
- vermikompostování ve vermireaktorech se souvislým procesem

(Hanč a Plíva, 2013)

#### *Malé vermikompostéry*

Malé vermikompostéry slouží k likvidaci biologicky rozložitelných odpadů z míst, kde vznikají. Vermikompostéry nezabírají mnoho místa a skládají se z podstavce, nádržky na přebytečnou vodu, uzavíracího ventilu, jednotlivých nádob a stříšky (viz obr. č. 1) Jednotlivé nádoby jsou perforované, aby umožnily pohyb žížal, provzdušnění a odtok přebytečné tekutiny

Proces vermikompostování probíhá tak, že se odpadem postupně plní jednotlivé nádoby, žížaly se perforovaným dnem pohybují za novou potravou. Jako podestýlka pro založení se používá např. listí, piliny, papír a tráva. Volba nevhodné podestýlky může zapříčinit špatný proces vermikompostování, např. zbytky jídla obsahující vodu mohou při větším množství snížit stav žížal.



Obr. č. 1 Domácí vermikompostéry (nakompost.cz společnosti HBABio)

## Velkoprodukční vermikompostování

### Vermikompostování v pásových hromadách na volné ploše

Vermikompostování do řad nebo hromad na zpevněném povrchu je klasickým typem zpracování odpadů (viz obr. č. 2). Je jednoduchý a nenáročný na investice. Díky tomuto zpracování není potřeba substrát překopávat, je nutné pouze sledovat vlhkost a teplotu.

Nejrozšířenější variantou je postup s tzv. „přikrmováním žížal“. Přikrmování probíhá tak, že na povrch hromady se v různých intervalech (jedenkrát za týden 10 cm, jedenkrát za 2 týdny 20-30 cm a jedenkrát za 3 týdny 30-50 cm) přidává nový bioodpad. Žížaly se stěhují stále do nového substrátu. Tento způsob je náročný na počet pracovních operací.

Je nutné, aby výška hromad byla více než 50 cm a více než 1 m<sup>3</sup>. Při těchto parametrech žížaly prosperují i při teplotách pod bodem mrazu, protože se stěhují do míst s optimální teplotou.



Obr. č. 2 Vermikompostování v pásových hromadách (envic.cz)

## Vermikompostování v ohraničených záhonech

Tato metoda je dalším ze způsobů vermikompostování na volném prostranství (viz obr. č. 3). Ve většině případů probíhá pod přístřeškem. Záhony jsou chráněny před povětrnostními vlivy a proces je prodloužen i v chladném období. Jako u všech metod vermikompostování je třeba udržovat vlhkost, hlavně při vyšších teplotách.

Nejsložitější operace je rušení procesu, což je oddělení žížal od hotového vermikompostu. Jedním ze způsobů je přidání čerstvého bioodpadu, kam se žížaly přemístí, čelním nakladačem je vrstva odebrána a substrát je použit pro založení nové hromady. Další možností je vedle zpracované hromady začít vrstvit další bioodpad ke zpracování. Žížaly se přemístí za novou potravou.



Obr. č. 3 Vermikompostování v ohraničených záhonech (ekovermes.cz)

## Složitější systémy vermikompostování

### Vermireaktor

Složitější technologické systémy vermikompostování probíhají v uzavřeném prostředí s využitím žížal. Zařízení k tomuto určené se nazývá vermireaktor.

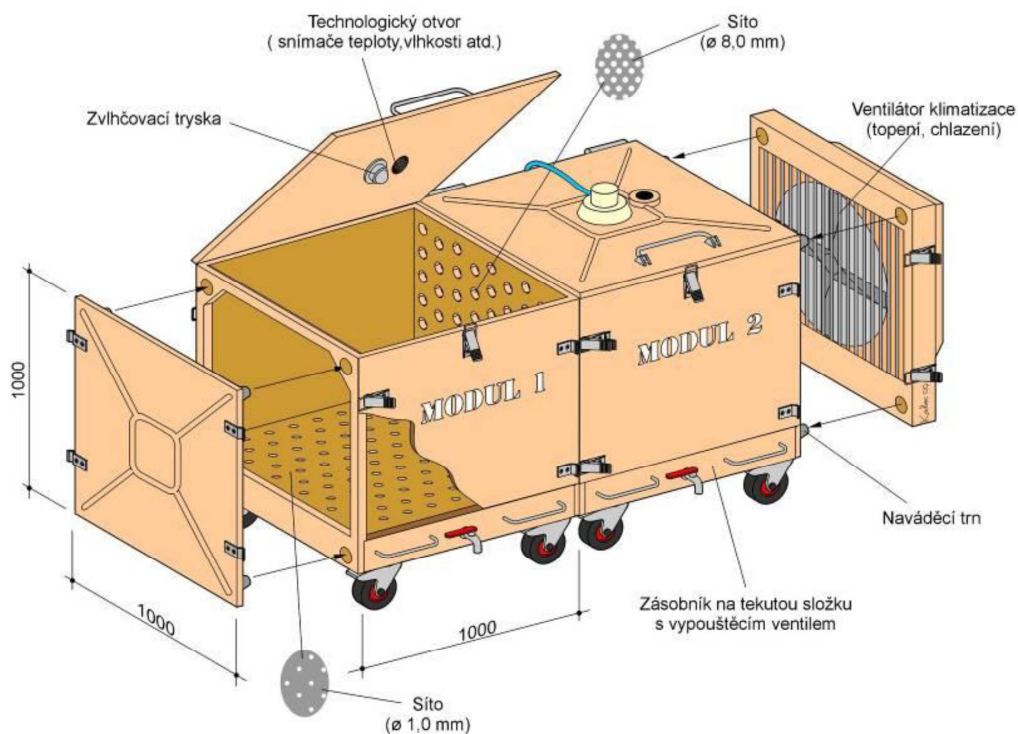
Výhody systému:

- urychlení celého procesu
- omezení vlivu povětrnostních podmínek
- využívání výluhu
- řízení a automatizování celého procesu

V provozu existuje mnoho typů konstrukčních řešení vermireaktorů. Znakem, který vermireaktory spojuje, je monitorování fyzikálních veličin a možnost zpětnovazebně řídit proces v optimálních podmínkách.

### **Systém ve „Dvoumodulovém vermireaktoru“**

Podstata tohoto technického řešení spočívá v tom, že je dvoumodulový vermireaktor složen ze dvou nádob – modulů naprosto identických a je řešen mobilním způsobem (viz obr. č. 4). Moduly mohou být ve dvou pracovních uspořádáních – v rozpojené poloze, kdy je každý modul používán samostatně – jeden je naplňován a následně zde probíhá vermikompostovací proces. V poloze pevného spojení zůstává v případě, že je nutné přemístit žížaly z jednoho modulu, ve kterém jsou suroviny již zpracovány na hotový vermikompost do druhého modulu, kde jsou suroviny předkompostovány. Spojení obou modulů je provedeno pomocí sponkového systému vedle sebe na dobu nezbytně nutnou, po kterou se žížaly instinktivně přesunují přes vystředěné děrované stěny mezi jednotlivými moduly za potravou potřebnou pro jejich existenci (Hanč a Plíva, 2013).



Obr. č. 4 Schéma dvoumodulového vermireaktoru (Hanč a Plíva 2013)

Z důvodu zajištění optimálního prostředí pro žížaly je ve vermireaktoru nezbytné monitorovat průběh kompostovacího procesu s možností jeho zpětného řízení. Proto je dvoumodulový vermireaktor – ať se spojenými či samostatnými moduly – vybaven hlavním panelem, na kterém je umístěna řídicí jednotka a další zařízení, sloužící pro oba moduly, přičemž každý z modulů je navíc osazen modulovým panelem (viz obr. č. 5).



Obr. č. 5 Dvoumodulový vermireaktor v rozpojeném stavu s hlavním řídicím panelem (Hanč a Plíva, 2013)



## Vermikompostování ve vermireaktorech se souvislým procesem

Jako velice perspektivní technologie pro systémy velkoprodukčního vermikompostování jsou obří kontinuální „průtokové“ vermireaktory, ve kterých zpracováváný bioodpad „protéká“ od shora dolů. Suroviny jsou přidávány shora pomocí modifikovaného rozmetadla nebo mobilního portálu a ze spodní části zařízení vybírán hotový vermikompost, který propadl sítí. Všechny operace jsou řízeny automaticky na základě monitorování celého procesu.

Příklad jednoduchého vermireaktoru se souvislým procesem provozovaným na ekologické farmě v Rakousku je vidět na obrázku níže. Vlevo je fungující vermireaktor. Pravá část je rozebrána a lze na ni vidět síto, kterým při provozu propadáva vermikompost. Krmení žížal předkompostovaným materiálem o zrnitosti v řádech mm probíhá každý den. Žížaly se drží v horní části, kde je dostatek vzduchu a čerstvá potrava. Biomasa žížal se drží na přibližně stejné hodnotě (staré žížaly odumírají a nové se rodí). Vermikompostování probíhá celoročně, neboť vermireaktor je umístěn v temperované hale.

Tento způsob je vhodný k plynulému získávání vysoce kvalitního vermikompostu (Hanč a Plíva, 2013)



Obr. č. 5 Vermireaktor se souvislým procesem (Hanč a Plíva 2013)

Při využití jakékoliv technologie je nutné zajistit podmínky pro žížaly. Mezi optimální podmínky se řadí dostatečný přísun biologického odpadu, vlhkost prostředí, provzdušnění, teplota, obsah soli a dalších méně důležitých parametrů.

Důležité je, aby žížaly měly optimální teplotu 15 – 20 °C. Žížaly potřebují k životu i kyslík, proto se musí dbát na výběr správných nádob.

### 2. 1. 2 Žížala červená kalifornská

K vermikompostování můžeme použít náš původní druh žížaly, žížalu hnojní (*Eisenia fetida*), nebo v lepším případě červenou kalifornskou žížalu (*Eisenia andrei*). Popsal ji Bouché z Francie v roce 1972 a v roce 1982 ji uznali za samostatný druh. Od žížaly hnojní se žížala kalifornská (viz obr. č. 6) odlišuje tím, že je jednobarevná, tmavorudá anebo světlorudá a tekutina vylučovaná ze hřbetních pórů je bezbarvá a nezapáchá. Další rozdíl je ve výdeji oxidu uhličitého. Na rozdíl od žížaly hnojní vykazuje větší množství na jednotku hmotnosti těla. Trávení a rozmnožování je intenzivnější, tedy potřebuje ke svému životu více potravy (Zajonc, 1992).

Žížala zkonsumuje potravu, která projde jejím trávicím traktem za 2,5 až 7 hodin. Podstatou vermikompostu jsou jejich výkaly ve formě válečků o rozměru 1 x 0,5 mm. Ty obsahují mikroorganismy, které urychlují rozklad materiálu (např. celulózy), která je hlavním zdrojem energie.



Obr. č. 6 Žížala kalifornská (ekovermes.cz)

### 2. 1. 3 Ekonomické aspekty vermikompostování a přínos pro uživatele

Velmi zajímavé je srovnání klasického kompostování s porovnáním s vermikompostováním. Výsledný produkt (vermikompost) má oproti klasickému kompostu lepší vlastnosti. Stojí tedy za zvážení, zda technologii vermikompostování rozšířit v kompostárnách.

Kompostování biologicky rozložitelných odpadů (BRO) v hromadách na volné ploše je základní a nejrozšířenější technologií. Základ této technologie (pásová hromada na volné ploše) lze využít i na vermikompostování.

Proces kompostování při zpracování bioodpadu nad  $150 \text{ t.r}^{-1}$  musí být zabezpečeno na zpevněné ploše, která je vyspárovaná do jímky. Tato podmínka se týká jak kompostování, tak i vermikompostování.

Výhoda vermikompostování je absence překopávání. Toto zajišťují žížaly. Náklady na pořízení překopávače kompostu, který lze pořídit jako agregovatelný s energetickým prostředkem, jsou od 600 tisíc Kč a více. Samojízdný od 1500 tisíc Kč. Na vermikompostování je nutné pořídit násadu žížal (tzv. žížalový substrát), která se pohybuje:

- 100 t/rok – 1 t BRO – 600,-
- 100 t – 500 t – 1 t BRO – 550,-
- 500 t – 1000 t – 1 t BRO – 500,-
- nad 1000 t – 1 t BRO – 400,-

#### ***Porovnání nákladů***

##### 1) Kompostování

Náklady na překopání jsou počítány pro způsob kompostování v pásových hromadách na volné ploše překopávané překopávačem.

- překopávač kompostu
  - a. agregovaný s energetickým prostředkem 70 W
  - b. hodinový náklad na soupravu 630,-/h (dle metodiky používané pro výpočet nákladů na zemědělské stroje)
  - c. průměrná výkonnost soupravy  $100 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$
  - d. pracovní záběr 2,5 m
- střední objemová hmotnost založených surovin je  $525 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$



- počet překopávání v jednom cyklu – 5
- trvání cyklu kompostování – 90 dní
- zpracované množství – 1000 t

Výpočet nákladů na překopávání v jednom cyklu:

$$1000 \text{ t} \times 5 = 5000 \text{ t} / 0,525 \text{ t} \cdot \text{m}^{-3} = 9523 \text{ m}^3 / 100 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1} = 95,23 \text{ h} \times 630, \text{-Kč} \cdot \text{h}^{-1} = 59995, \text{-}$$

Výpočet nákladů na obsluhu překopávače:

$$95,23 \text{ h} \times 36, \text{- Kč} = 12591, \text{-Kč}$$

**Celkové náklady na překopávání BRO při objemu 1000 t v jednom kompostovacím cyklu je 72 946 Kč.**

## 2) Vermikompostování

- zpracovávané množství BRO – 1000 t
- trvání jednoho cyklu – 300 dní

Výpočet nákladů na překopávání v jednom cyklu:

cena násady žížal pro zpracování 1 t BRO – 500,-Kč

**Celkové náklady na pořízení násady žížal na zpracování 1 000 t BRO v jednom kompostovacím cyklu je 50 000,-Kč (využíván je již vlastní žížalový substrát).**

Náklady na zpracování 1000 t BRO jsou u vermikompostování sice nižší, avšak délka zpracování BRO je 3,3 x delší. Toto náklady na vermikompostování zvyšuje. Ale vzhledem k tomu, že se násada nemusí obnovovat, jsou celkové náklady postupem doby snižovány oproti nákladům na neustálé překopávání substrátu (Hanč a Plíva, 2013).

## 2. 1. 4 Přínosy vermikompostování

### A) KVALITA VERMIKOMPOSTU

Kvalita je podstatně vyšší než u běžného kompostu. Vermikompost obsahuje nejen živiny, ale i organické látky, např. humínové kyseliny. Také obsahuje růstové hormony (auxiny, cytokininy a gibereliny) a také enzymy, které pochází z trávicího ústrojí žížal. Toto složení se odráží v agrochemických a biologických vlastnostech půdy, ale i na výnosech a kvalitativních parametrech.

### B) EKOLOGICKÉ HNOJIVO

V průběhu vermikompostování se do materiálu nepřidávají žádné chemické látky. Tato technologie pro zpracování bioodpadů a následné využívání je vhodná pro ekologické zemědělství. Je to nejen díky obsahu živin, ale i fytohormonům a obsaženým enzymům z trávicího traktu žížal.

### C) DOBA PROCESU

Jediný parametr, který je nepříznivý je doba vermikompostování. Doba na zpracování na kompostovací ploše je cca 3,3 x delší oproti kompostování. Z toho důvodu je dobré zahrnout technologii vermikompostování při zpracování BRO do 150 t/rok<sup>-1</sup>, kde není povinnost použít vodohospodářsky zajištěnou plochu.

## 2. 2 Mykorhizní symbióza

Mykorhizní houby vždy patřily mezi neodmyslitelnou součást půdního prostředí. Slovo mykorhiza popisuje vztah mezi vyššími rostlinami a houbami. Vzniklo z řeckých slov *mykés*, *mykétas* (houba, hřib) a *rhíza*, *ríza* (kořen) a doslova znamená „houbokořen“ (WURZELPILZE/FRANK, 1885).

Je charakterizována obousměrným tokem živin. Uhlíkaté sloučeniny směřují od rostliny k houbovému symbiontu a anorganické látky od houby k rostlině, respektive kořenu (Botanický ústav AV ČR, 2015).

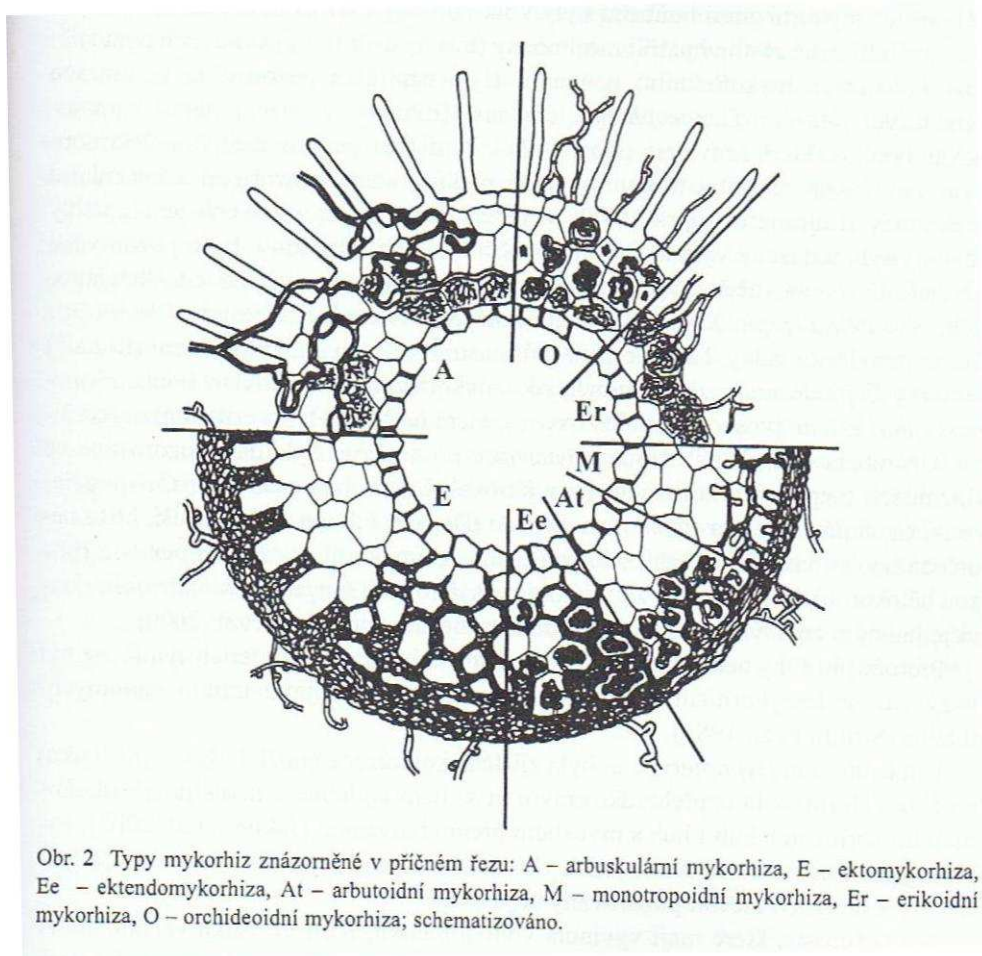
Mykorhizní houby patří mezi stopkovýtrusé (*Basidiomycetes*, *bazidiomycety*), vřekovýtrusné (*Ascomycetes*, *askomycety*) a spájivé (*Zygomycetes*, *zygomycety*). Vlákna těchto hub spojují vnitřní prostor kořenů s půdním okolím. Houby v kořenu

kolonizují pouze některé části jako kořenovou pokožku (rhizodermis) a primární kořenovou kůru, tj. na několik dalších vrstev. Nepronikají tedy do kořenového válce, kde se nacházejí vodivá pletiva.

Mykorhizní houby mohou výrazně ovlivňovat růst a zdravotní stav rostlin. Bylo dokázáno, že zlepšují kořenový systém a tím i příjem živin a vody, tudíž jsou odolnější vůči stresovým faktorům (suchu).

### **Rozeznáváme několik typů mykorhizní symbiózy (viz obr.):**

- **Arbuskulárnímykorhizní symbióza** je v přírodě nejrozšířenějším a vývojově nejstarším typem mykorhizní symbiózy. Je charakteristická mezibuněčnými i vnitrobuněčnými vlákny houby (hyfami) a zejména zvláštními bohatě větvenými vnitrobuněčnými útvary nazývanými arbuskuly.
- **Orchideoidnímykorhizní symbióza** se vyskytuje pouze u orchidejí (rostlin řádu *Orchidales*). Je charakteristická závití hyf (smotky, pelotony) uvnitř buněk hostitele a jeho dvojí kolonizací. První kolonizace nastává záhy po vyklíčení semene v prvoklíčku (protokormu). Druhá kolonizace probíhá v kořenových pletivech. Kolonizovány jsou buňky kořenové kůry, pokožkou houba pouze proniká.
- **Erikoidnímykorhizní symbióza** se vyskytuje u všescotvarých rostlin (řád *Ericales*). Vyznačuje se také závití hyf (smotky) uvnitř buněk. Ta je však způsobena jinými mykorhizními houbami než mykorhizní symbióza orchideoidní. Nejvíce jsou kolonizovány buňky kořenové pokožky, směrem do hloubky kořenových pletiv houbových struktur rychle ubývá.
- **Ektomykorhizní symbióza** je charakteristická tím, že houba neproniká mezibuněčnou stěnou do vnitřního prostoru buněk hostitele. Na rozdíl od výše zmíněných endotrofních typů mykorhizních symbióz je houbou kolonizovaný úsek kořene (mykorhiza) často zduřelý a výrazně se tak tvarem odlišuje od kořenů nekolonizovaných. Hyfy hub v mezibuněčných prostorech zpravidla tvoří tzv. Hartigovu síť a spleť hyf na povrchu kolonizovaného kořene (mykorhizy) bývá označována jako hyfový plášť. Ektomykorhizní symbióza je známa téměř výlučně u dřevin (Gryndler et al., 2004).



Obr. č. 7 Typy mykorhiz znázorněné v příčném řezu (Gryndler et al., 2004)

Není výjimkou, že jeden rostlinný druh je schopen se účastnit různých typů mykorhizní symbiózy. Příkladem je dub *Quercus agrifolia*, u kterého byla popsána jak ektomykorhizní, tak i arbuskulární mykorhizní symbióza (Egerton-Warburton a Allen, 2001) i když u dubu bychom očekávali, že bude tvořit pouze ektomykorhizy. Také u devaterníku *Helianthemum nummularium* se u mladých rostlin vyvíjejí arbuskulární mykorhizy současně s ektomykorhizami (Read et al., 1977).

Někdy pozorujeme, že různé části kořenového systému téže rostliny jsou kolonizovány houbami tvořícími různé typy mykorhiz. U topolu *Populus tremuloides* byly například arbuskulární mykorhizy častější ve větších hloubkách v zemi, zatímco ektomykorhizy převládaly u povrchu půdy (Neville et al. 2002).

Mykorhizní symbióza je charakteristická pro cévnaté rostliny (mají vodivá pletiva specializovaná na rozvod tekutin), které mají dobře vyvinuté kořeny. Náznaky

kolonizace mykorhizními houbami byly však popsány i u rostlin bezcévných. Mezi recentní bezcévné rostliny patří i mechorosty - mechy a játrovky (Gryndler et al, 2004).

Mykorhizní symbióza je značně omezena u čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*), sítinovitých (*Juncaceae*), šáchorovitých (*Cyperaceae*), okřehkovitých (*Lemnaceae*), hvozdíkovitých (*Caryophyllaceae*) a mečíkovitých (*Chenopodiaceae*) (Harley a Harley, 1987).

### 2. 2. 1 Význam mykorhizy pro růst rostlin

- Zvýšení příjmu některých živin rostlinou. Nejlépe je z tohoto hlediska prostudován příjem fosforu. Fosfor se vyskytuje v půdě zpravidla v dostatečném množství, je však silně poután v půdním sorpčním komplexu a je tedy nedostupný pro rostlinu. Mycelium hub může fosfor uvolnit z půdního sorpčního komplexu a rozvádět ve své cytoplazmě do buněk rostliny. Podobný efekt byl popsán pro amonné ionty, zinek, měď a některé další prvky.
- Zlepšení vodního režimu rostliny. Mechanismy přenosu vody jsou bezprostředně spjaté s přítomností mykorhizních struktur, zejména extraradikálního (mimokořenového) mycelia. Voda může být aktivními hyfami AM hub přijímána a translokována do rostliny nebo se může pohybovat na povrchu hyf, jenž spojují jednotlivé částice. AM houby transportují vodu a živiny ze sedmi až deseti násobně většího objemu půdy než samotné kořenové vlášení rostliny.
- Zvýšení odolnosti rostlin proti kořenovým patogenům. Redukce příznaků byla popsána u rodu *Phytophthora*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* nebo *Verticillium* také u patogenních bakterií *Erwinia carotovora* a *Pseudomonas syringae*.
- Zlepšení půdní struktury. Hyfy AM hub prorůstají půdou a tvoří skřetovitou strukturu, která udržuje primární půdní částice pohromadě a tím vytváří podmínky pro tvorbu mikroagregátů. Mikroagregáty a malé makroagregáty jsou základním stavebním prvkem půdní struktury. Hyfy také vytváří stabilní hydrofobní glykoprotein, glomalín, který působí jako pojídlo.

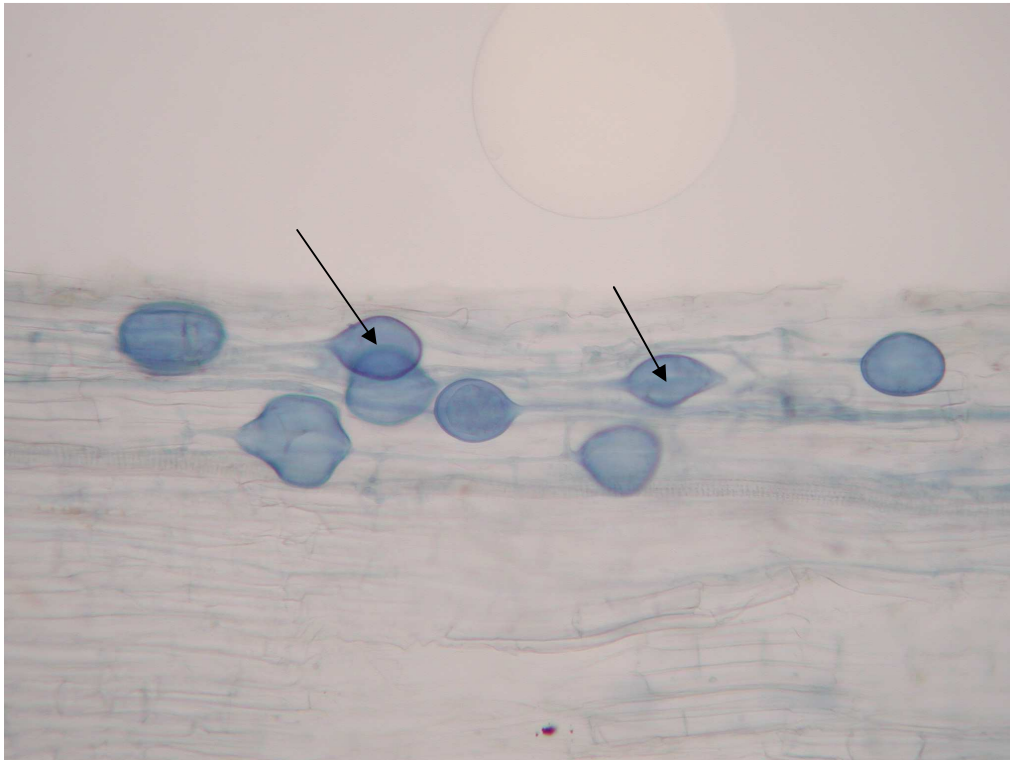
- Zvýšení odolnosti rostlin vůči dalším abiotickým faktorům, jako je např. salinita, nízké pH, vysoká teplota půdy nebo vysoká koncentrace těžkých kovů. Kromě zadržování těžkých kovů intraradikálními strukturami AM hub v kořenech a sorpce těžkých kovů extraradikálním myceliem AM hub může AM symbióza ovlivňovat schopnost rostlin přežít v kontaminovaném prostředí několika dalšími mechanismy – zlepšeným růstem mykorhizních rostlin, změnou kořenové exsudace u mykorhizních rostlin nebo vazbou těžkých kovů organickými sloučeninami vylučovanými AM houbami (Stroblová, 2006).

### 2. 2. 2 Arbuskulárnímykorhizní symbióza

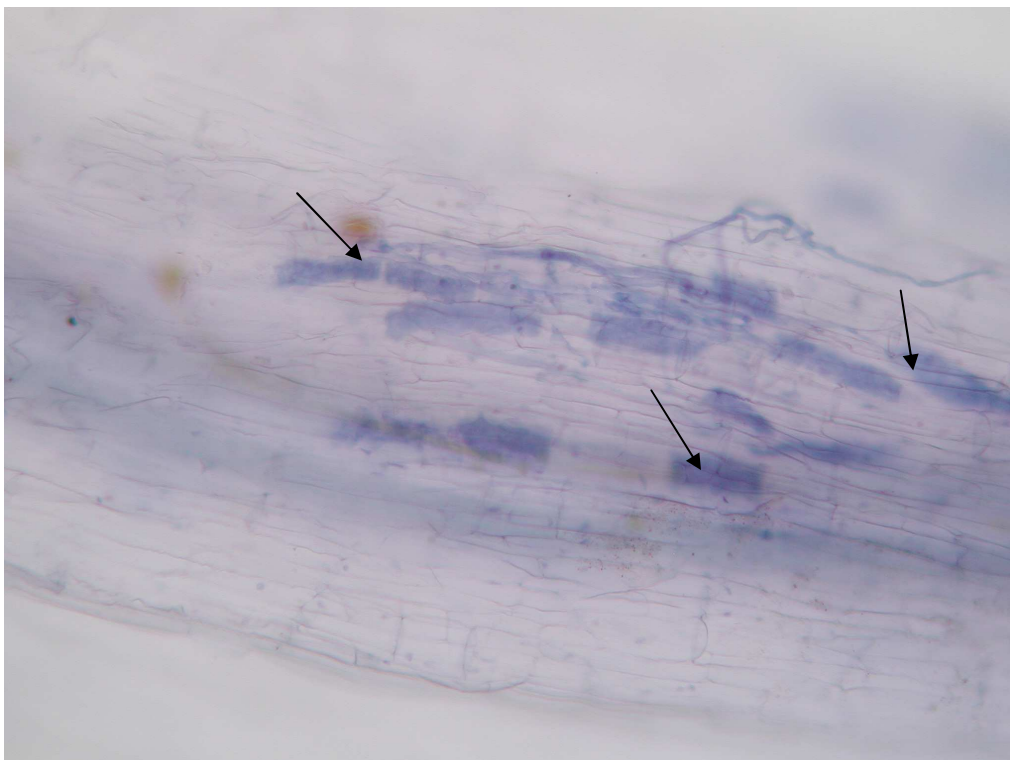
Arbuskulární mykorhizní (AM) symbióza je nejspíše nejvíce rozšířeným typem mykorhizní symbiózy. Vyskytuje se asi u 95 % druhů cévnatých rostlin od mechorostů a kaprad'orostů přes nahosemenné až k rostlinám krytosemenným, což je asi 11 000 rodů obsahující 225 000 druhů (Trappe, 1987). Pro nás je nejdůležitější z hlediska výskytu velké většiny kulturních rostlin. Znalost této symbiózy je důležitá z praktického významu, proto je také intenzivně zkoumána již desetiletí (Gryndler et al, 2004).

Arbuskulární mykorhiza je vytvářena výhradně symbiotickými houbami skupiny *Glomeromycota*, která se dělí na čtyři řády – *Archeosporales*, *Diversisporales*, *Glomales*, *Paraglomales* (Schussler et al., 2001).

Přítomnost AM hub nelze pozorovat pouhým okem, ale lze zjistit jen pod mikroskopem. AM houby vstupují do buněk kořene hostitelské rostliny pomocí hyf (viz obr. č. 10) a vytváří zde útvary zvané arbuskuly (viz obr. č. 9) a vesikuly (viz obr. č. 8). Arbuskuly připomínají malé stromečky a jsou místem, kde probíhá intenzivní výměna živin mezi rostlinou a mykorhizní houbou. Vesikuly mají tvar kulovitých nebo oválných ztlustlin a nachází se na koncích nebo na různých místech hyf. Plní zásobní funkci. Kromě těchto struktur vytvářejí AM houby i síť mycelia, které zasahuje mimo kořen a umožňuje tak rostlině získat živiny, zejména fosfor. Počáteční i konečnou fázi růstu zajišťují spóry - chlamydospory, zygospory (Botanický ústav AV ČR, 2015).

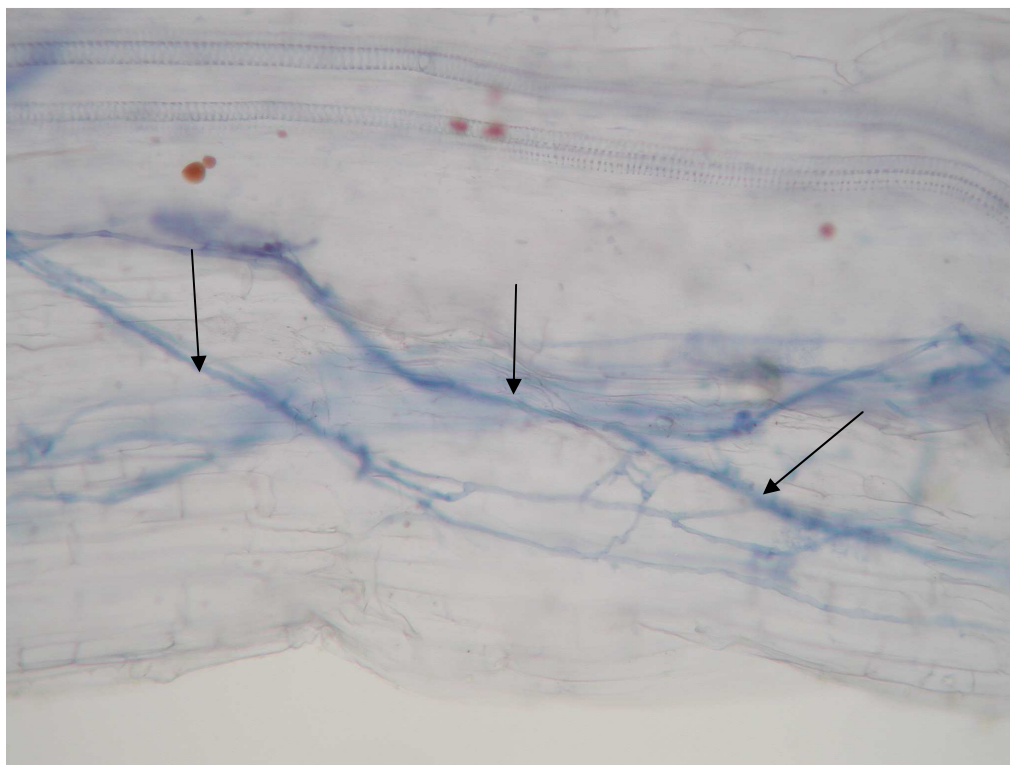


Obr. č. 8 VesikulyAM hub uvnitř kořene salátu (*Lactuca sativa*). Barveno 0,05 % trypanovou modří. Zvětšeno 200x (foto autor)



Obr. č. 9 Arbuskuly AM hub uvnitř kořene salátu (*Lactuca sativa*). Barveno 0,05 % trypanovou modří. Zvětšeno 200x (foto autor)





Obr. č. 10 Hyfy AM hub uvnitř kořene salátu (*Lactuca sativa*). Barveno 0,05 % trypanovou modří. Zvětšeno 200x (foto autor)

Výskyt arbuskulárních mykorhiz byl pozorován nejprve u kosatců (*Iris*), poté u řady dalších hostitelů.

Významným mezníkem v našem poznání se staly až výzkumy vykonané v 50. letech 20. století, kdy byla arbuskulární mykorhizní houba poprvé izolována a kultivována prof. Barbarou Mosse (Mosse, 1953) v nádobové kultuře s hostitelskou rostlinou.

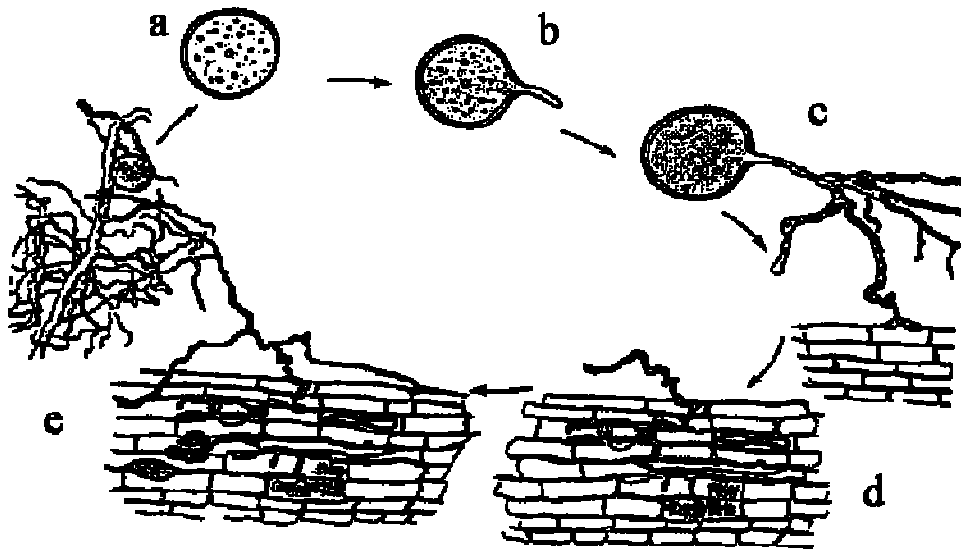
U všech typů mykorhizních symbióz platí, že má-li symbióza vůbec vzniknout, je třeba, aby půda (nebo jiný substrát) obsahovala živé mykorhizní houby. Ty mohou být přítomny buď ve formě klidových stadií – spor, nebo jako již symbiotický rostoucí či vegetativní (dočasně bez hostitele přežívající) podhoubí (mycelium). Symbiotické nebo vegetativní mycelium kolonizuje kořen přímo, spory musí nejprve vyklíčit. Mycelium je citlivé k výkyvům vlhkosti, sucho je může zahubit. Spory naopak mohou přežít nepříznivé podmínky a kolonizovat kořeny po zlepšení stavu prostředí.

Mycelium AM hub je nepřehrádkované (cenocytické) a je tvořeno vlastně jedinou obrovskou větvenou trubicovitou buňkou, která v proudící cytoplazmě obsahuje nesčetné množství jader. Mycelium má v půdě překvapivě krátkou dobu života. Hyfy



žijí průměrně jen asi 5-6 dnů a jsou rychle nahrazovány hyfami novými (Gryndler et al., 2004).

Životní cyklus AM hub (viz obr. č. 11), tvořený mimokořenovou (extraradikální, b, c, e) a vnitřkořenovou (intraradikální) fází vývoje (d, e). Dosud dormantní spora (a) v příznivých ekologických podmínkách klíčí a vytváří mimokořenové hyfy (b), které začínají prorůstat dovnitř kořene (c). Ve vnitřkořenové fázi vývoje se vytváří typické struktury, tj. arbuskuly, vesikuly a inter- nebo intracelulární hyfy (d). Současně s rozvojem interních struktur dochází i k rozvoji rozsáhlé sítě mimokořenového mycelia, tvorbě nových spor (e) (Bonfante-Fasolo, 1987).



Obr. č. 11 Životní cyklus AM hub

### Vliv půdního prostředí na mykorhizní symbiózu

Půda je velmi zajímavým prostředím. Následující pasáž se zabývá jen základním popisem jejich vlastností, které mají vliv nebo mohou mít vliv na život mykorhizních hub.

Půda je vzhledem k hlavní charakteristice především nehomogenní, tj. nerovnoměrná ohledně jejich vlastností. Tvoří půdní profil, což je sled vzájemně odlišných vrstev. Kořeny v půdě jsou nerovnoměrně rozloženy a v různé hloubce je i jiný počet půdních organismů, množství kořenů a tedy i mykorhizních hub.

Na základě skladby půdního profilu a vlastností jednotlivých horizontů byla vytvořena klasifikace půd (Němeček et al., 2001), která půdy systematicky třídí.

Mykorhizní houby se nejvíce vyskytují na povrchu půdy. Je to dáno zejména tím, že půdní povrch bývá dlouhodobě dobře provzdušněn, a také tím, že je při povrchu půdy vysoká hustota kořenů hostitelských rostlin. V nejsvrchnějších vrstvách půdního profilu se také nachází velmi mnoho organické hmoty. Jsou to vrstvy nadložní (fytogetti), tvořené odumřelými částmi rostlin (Gryndler et al, 2004).

Plošná nerovnoměrnost (mozaikovitost) půdních vlastností bývá nejčastěji způsobena různorodostí půdotvorného substrátu, ale i krajinným reliéfem, rostlinným pokryvem a dalšími činiteli a projevuje se v nejrůznějších prostorových měřítkách. Nerovnoměrně jsou v půdě rozloženy vlhkost (půdní voda neboli půdní roztok), různé minerální živiny a vzduch, ale například i teplo, tedy faktory, které velmi významně ovlivňují vše živé, tedy i mykorhizní houby.

### **Půdní voda a mykorhizní houby**

Půdní vlhkost je nezbytná pro všechny organizmy, které v půdě žijí. Voda se v půdě vyskytuje v několika různě silně zadržovaných formách, z nichž pouze gravitační voda (tj. voda, která z půdy volně odtéče, je-li jí to umožněno) a část kapilární vody (tj. vody, která je zachycena v půdních pórech) jsou dostupné živým organismům.

Voda se v půdě pohybuje. Jednak vertikálně (vzlíná, vsakuje se z mělkých vrstev do hlubších a také sleduje do jisté míry i hladinu spodní vody) a jednak horizontálně - přemísťuje se do míst, odkud je odčerpávána – například směrem ke kořenovému systému rostlin (Gryndler et al, 2004).

Bylo prokázáno že, mycelium mykorhizních hub je citlivé k výkyvům vlhkosti. Při snížení množství srážek se sníží i množství mycelia v půdě (Kabrhelová, 2008).

### **Půdní teplota a vliv na mykorhizní symbiózu**

Půdní teplota ovlivňuje mykorhizní houby a tvorbu jejich plodnic (fruktifikaci) velmi výrazně. Jak nás učí každodenní praktická zkušenost, půdní teplota se mění cyklicky, přičemž rozeznáváme dva hlavní cykly půdní teploty: denní a roční. Rozkmit (amplituda) kolísání půdní teploty (tj. rozdíl maximální a minimální teploty) v těchto

cyklech závisí na vlhkosti a typu půdy (na jejím okamžitém měrném teple a tepelné vodivosti).

Mykorhizní houby se s teplotou musí neustále vyrovnávat a musí se jí umět přizpůsobit. Jejich přítomnost v půdách celého světa nám dokazuje, že to umí dokonale. Mykorhizní houba v důsledku nepříznivých teplot se vyskytuje ve formě klidových stadií – spor (Gryndler et al., 2004).

Citlivé k výkyvům teploty je hlavně mycelium, naopak spory snesou i značné výkyvy. Rychlost růstu a metabolismu je nejvýraznější při optimální teplotě. Při překročení teploty (maximální, minimální) se činnost buněk zastavuje následkem denaturace klíčových enzymů nebo žhounčí regulace metabolismu (muni.cz)

### 3. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo posoudit:

- vliv vermikompostu na množství nadzemní a podzemní biomasy salátu (*Lactuca sativa*), délku extraradikálního (mimokořenového) mycelia a procento kolonizace kořenů mykorhizními houbami
- vliv inokulace salátu (*Lactuca sativa*) AM houbami na kvantitativní parametry (nadzemní hmota a kořeny), délku hyf a procento kolonizace mykorhizní houbou
- vliv biopreparátu na množství nadzemní hmoty a kořenů salátu (*Lactuca sativa*), délky hyf a procento kolonizace mykorhizní houbou

## 4. MATERIÁL A METODY

### 4.1 Založení pokusu

Nádobový pokus s rostlinami salátu (*Lactuca sativa*) byl založen v říjnu 2014. Půda pro nádobový pokus byla odebrána z lokality Březová nad Svitavou. Z rozboru vzorků půdy dle Mehlicha III byly stanoveny tyto hodnoty: pH 5,94; obsah P 205,6 mg/kg; K 152,6 mg/kg; Ca 1937 mg/kg; Mg 51,7 mg/kg; vodivost 0,076 mS/cm; 48,7 mg solí/l; Adams Evans 7,66. Rozbor provedl ústav Agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin (AF). Půda byla prosátá přes síto s velikostí ok 4 mm. Květináče o rozměrech 10 x 10 x 11cm byly naplněny půdou dle jednotlivých variant.

U varianty s inokulem mykorhizních hub byla do poloviny objemu vsypána zemina a poté aplikováno 15 g přípravku Symbivit (viz obr. č. 12). Inokulum se rozprostřelo na celou plochu květináčku a lehce promíchalo se zeminou. Následně byl květináček doplněn další půdou. Přípravek Symbivit je vyráběný společností Symbiom® Roztoky u Prahy. Lze ho charakterizovat jako směs přírodních jílových nosičů, 6 druhů mykorhizních hub, přírodních složek podporujících mykorhizu (humáty, mleté horniny, výtažky z mořských organismů) a biologicky rozložitelných granulích absorpčního gelu. Systému lze dobře porozumět z obrázku č. 13.

U variant s vermikompostem byla zemina smíchána s 0,5 dcl (dle doporučení výrobce) jemného vermikompostu a řádně promíchána. Použitý vermikompost je vyráběný společností EKOVERMES – Karel Pecl. Je to sypká směs získávaná činností červených kalifornských žížal (rodu *Eisenia fetida*).

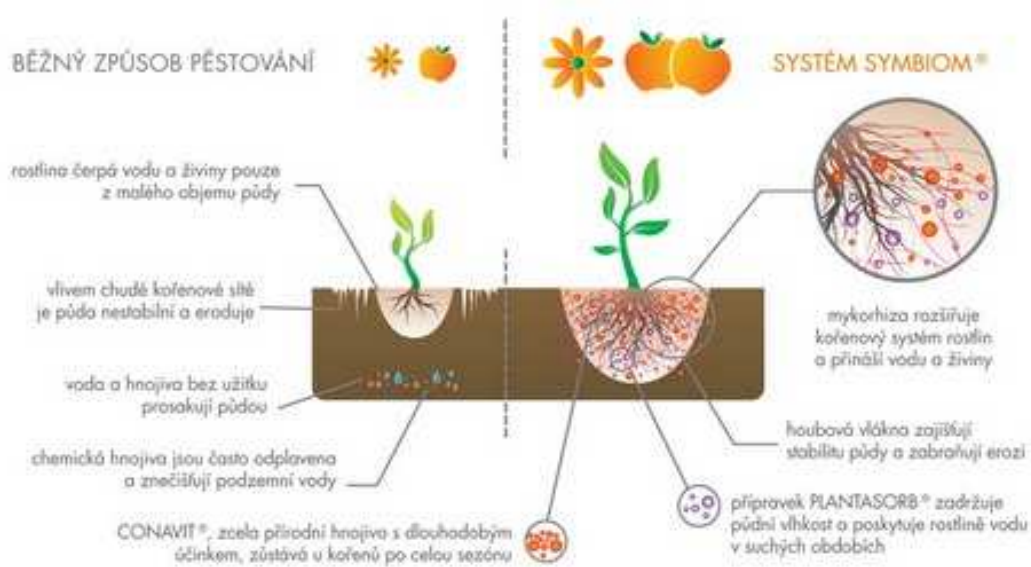
#### **Nádobový experiment měl následující varianty:**

- 1) Kontrola (K)
- 2) Aplikace přípravku Symbivit (M)
- 3) Aplikace přípravku PlantAktiv (PA)
- 4) Přídavek vermikompostu (VK)
- 5) Přídavek vermikompostu a přípravku Symbivit (VK + M)
- 6) Aplikace přípravku Symbivit a PlantAktiv (M + PA)
- 7) Přídavek vermikompostu a aplikace přípravku PlantAktiv (VK + PA)
- 8) Přídavek vermikompostu, aplikace přípravku Symbivit a PlantAktiv (VK + M + PA)

Každá varianta měla 3 opakování.



Obr. č. 12 Aplikace přípravku Symbivit



Obr. č. 13 Vizuální vyobrazení systému Symbiom (Symbiom, 2015)

Do připravených květináčků byly zasety 3 semínka salátu (*Lactuca sativa*) a opatrně zalaty demineralizovanou vodou.



Do každého květináčku byly 2,5 cm pod povrch půdy vloženy 45° výseče nitrocelulózového membránového filtru PRAGOPOR (průměr 50 mm, velikost pórů 0,6  $\mu\text{m}$ ) od firmy PRAGOCHEMA spol. s r.o. (viz obr. 13) pro stanovení délky extraradikálního (mimokořenového) mycelia. Strukturu membránového filtru tvoří systém komůrek, jenž má vysokou porositu a přitom zachycuje i ty nejmenší částice.



Obr. č. 14 Vložení nitrocelulózového membránového filtru

Po vzejití rostlin byl salát jednocen a ponechána 1 rostlina na nádobu. Ve fázi 3 pravých listů byl ve formě zálivky aplikován přípravek PlantAktiv v množství 0,1 g ve 40 ml demineralizované vody na nádobu. Toto dávkování přepočteno z dávky uváděné výrobcem. Přípravek PlantAktiv je výrobkem společnosti BioAktiv GmBh a je vyráběný speciální fyzikální metodou biorezonance. Jako nosič je zde použit sulfát hořčíku, který je vpraven do ultravysokého vibračního pole, kde syntetizátor předá kyslíkové vibrace. Přípravek slouží jako podpůrný rostlinný přípravek, který podporuje množení a zvýšenou aktivitu aerobních bakterií. Ty jsou potřeba k procesu mineralizace, což je proces, kdy se organické látky rozkládají a uvolňují se živiny potřebné k výživě rostliny (bioaktiv.cz).

Zálivka byla v průběhu pěstování stejná pro všechny rostliny, tj. všechny byly zalévány stejným množstvím demineralizované vody a frekvence byla volena dle stupně proschnutí substrátu. Rostliny nebyly v průběhu pokusu přihnojovány. Doba pěstování

činila 34 dnů v období od října do listopadu 2014 a probíhala ve fytotronu Mendelovy univerzity v Brně v pavilonu M s regulovanou teplotou a osvětlením.

## **4. 2 Vyhodnocení vzorků**

### **4. 2. 1 Hmotnost sušiny nadzemní a podzemní biomasy**

U každé z variant byla nadzemní i podzemní hmota vymyta pitnou vodou a vložena do papírového sáčku a sušena do konstantní hmotnosti v horkovzdušné sušárně při 60°C. Suché vzorky nadzemní hmoty i kořenů byly váženy na analytických vahách.

### **4. 2. 2 Kolonizace kořenů mykorrhizními houbami**

Bezprostředně po sklizni bylo z každého květináčku odebráno přibližně 0,5 g čerstvé hmoty pro stanovení kolonizace kořenů AM houbami. Vzorky byly důkladně propláchnuty vodovodní vodou, zbaveny nečistot a vloženy do fixáže FAA (etanol, destilovaná voda, kyselina octová, formalín), kde byly ponechány do vlastního zpracování.

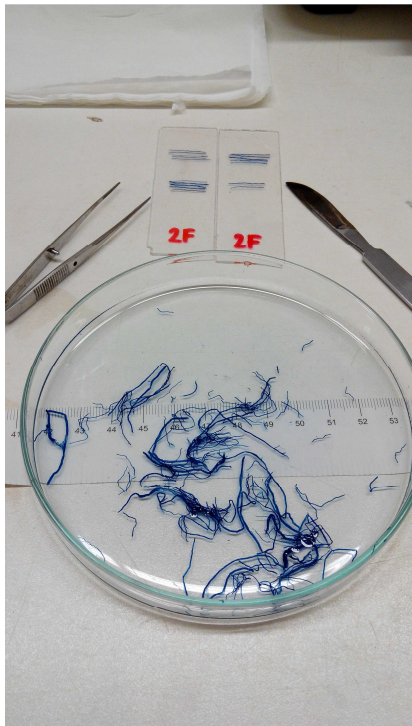
Po fixaci byly vzorky opět promyty vodou. Projasnění kořenů probíhalo v 10 % KOH a to 1 hodinu v sušárně při 90 °C. Vymytím je následně odstraněn buněčný obsah a prakticky zůstala jen buněčná stěna rostliny i zkoumaných hub. Následovalo promytí na jemném sítku pod vodovodní vodou a každý vzorek ještě propláchnut stříčkou s destilovanou vodou.

K okyselení se použila 1% HCl, ve které vzorky ležely 24 hodin při pokojové teplotě. Kořenové segmenty byly po této době vyjmuty a přebytečná 1% HCl odsáta. Nepromývá se! Často se stává, že je barvení nedostatečné v důsledku neproniknutí kyseliny do silnějších kořenů. Je třeba toto brát v potaz.

Následovalo barvení 0,05% trypanovou modří v laktoglycerolu (kyselina mléčná, glycerol, destilovaná voda) po dobu 60 minut při 90 °C v sušárně. Je třeba mít na paměti, že trypanová modř je karcinogenní, a proto je s ní třeba pracovat dle příslušných pravidel. Vzorky byly po této proceduře dostatečně probarvené, ale v barvicím roztoku zůstaly až do vyhodnocení. Kořeny se následně lehce propláchly destilovanou vodou. Propláchnuté kořeny se rozprostřely na Petriho misku a následně se kořeny nařezaly



skalpelem na 1 cm dlouhé segmenty. Dále se vybralo 10 segmentů, které se naskládaly vedle sebe na podložní sklíčko a zalily do glycerinželatiny. Zalité se přikryly krycím sklíčkem a preparáty se nechaly zatuhnout (viz obr. 16).



Obr. č. 16 Zbarvené kořenové segmenty a příprava trvalých preparátů

### Stanovení kolonizace

Kolonizace se hodnotila při zvětšení 200x. Z každého vzorku byl připraven trvalý preparát s 20 kořenovými segmenty a prohlédnuto 200 zornými poli. Do protokolu bylo zapisováno, zda byla mykorhizní struktura přítomna (značeno VAM+) nebo nebyla (značeno VAM-). Kvantitativní zastoupení struktur v rámci segmentu nebylo hodnoceno. Kolonizace kořenů AM houbami byla vypočtena jako procento kolonizace.

Procento kolonizace se poté vypočítá ze vzorce:

$$\%C = \frac{\sum (AM+)}{\sum (AM+) + \sum (AM-)} * 100$$

Kde:  $\sum AM+$  suma zorných polí s výskytem arbuskulárních mykorhizních struktur

$\sum AM-$  suma zorných polí bez výskytu arbuskulárních mykorhizních struktur

#### 4. 2. 3 Hodnocení rozvoje mimokořenového mycelia

Po kultivaci byly membrány opatrně vyjmuty a očištěny. Membrány byly vloženy do Petriho misek a zality 1,5 ml 0,05% trypanové modři v laktoglycerolu. Membrány byly ponechány v barvicím roztoku až do doby pozorování pod mikroskopem. Po celou dobu manipulace bylo s membránami zacházeno velmi šetrně.

Preparáty pro vyhodnocení délky mimokořenového mycelia byly překryty podložním sklem. Připravené preparáty byly pozorovány a foceny pomocí světelného mikroskopu značky Olympus CX-41 a digitální kamery Olympus C-3040ZOOM. Pozorování probíhalo při zvětšení 100x. Z každé ¼ nitrocelulózového membránového filtru bylo nafoceno 12 fotografií. Jedna nádoba obsahovala 2 x ¼ filtru, tj. 24 fotografií. V programu Photoshop S5 byla na každou fotografii přiložena mřížka o rozměrech 170 x 170 µm. Plocha fotografie byla 1360 µm x 1020 µm. Dle průsečkové metody (grid-line intersectmethod, Giovanetti et Mosse 1980). Dále byly sečteny a přepočítány. Výsledek uvádí množství mycelia na 1 cm<sup>2</sup> membránového filtru.

#### Vzorec pro výpočet délky hyf extraradikálního mycelia:

Počet průsečíků \*Délka hrany čtverce mřížky (170µm) / 1,25



Obr. č. 17 Hyfy zachycené na nitrocelulózovém membránovém filtru. Barveno 0,05% trypanovou modří v laktoglycerolu. Zvětšeno 100x (foto autor)

### **4. 3 Statistické vyhodnocení**

Statisticky byly hodnoceny 4 parametry - % kolonizace AM houbami, délka hyf a hmotnost sušiny nadzemní biomasy a kořenů. Všechny parametry byly hodnoceny analýzou rozptylu ANOVA. Z důvodu zabezpečení homogenity rozptylů byly podrobeny také post hoc Tukeyovu HSD testu. Výsledky jsou prezentovány jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka. Výpočty a testování byly prováděny programem Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

## 5. VÝSLEDKY

### Hmotnost sušiny nadzemní a podzemní biomasy rostlin

Nejvyšší průměrná hmotnost sušiny nadzemní biomasy byla zjištěna u salátu, ke kterému byl přidán vermikompost s aplikací přípravku Symbivit a PlantAktiv a dosahovala hodnoty 11,51 g. Druhá nejvyšší hodnota 10,38 g byla u salátu, kde byl přidán vermikompost a přípravek Symbivit. Tyto varianty se statisticky lišily od kontrolní varianty. Naopak nejmenší hmotnost 0,44 g byla u varianty s aplikací přípravku PlantAktiv. Výsledky je možno shlédnout v tabulce č. 1 a grafu č. 1.

Hmotnost sušiny nadzemní biomasy oproti kontrole byli jednoznačně vyšší při přidání přípravku Symbivit. Ta dosáhla hmotnosti 1,79 g a nebyla oproti kontrole statisticky průkazná. Rovněž se průkaznost neprojevila u aplikace přípravku PlantAktiv s hodnotou 2,87 g. Po přidání vermikompostu se zvýšila hodnota na 10,38 g. V kombinaci vermikompostu, přípravku Symbivit a PlantAktiv se hodnota zvýšila na 11,51 g. Obě tyto varianty se statisticky prokázaly.

Přídavek vermikompostu u všech variant statisticky zvýšil hmotnost sušiny nadzemní hmoty u všech variant, jak je vidět na obr. č. 20.

Přidáním vermikompostu k přípravku Symbivit se zvýšila hodnota na 10,38 g. Zvýšila se také při kombinaci přípravků Symbivit a PlantAktiv s přidáním vermikompostu na hodnotu 11,51 g. Obě tyto varianty se statisticky prokázaly. Po přidání přípravku PlantAktiv se hodnota sice zvýšila, avšak se statisticky neprokázala.

Vyhodnocení hmotnosti kořenů je vypracováno v tabulce č. 1. Nejvyšší hmotnost podzemní biomasy v sušině 3,44 g dosahovala varianta s vermikompostem po přidání přípravku PlantAktiv. Druhá nejvyšší hmotnost 3,36 byla u varianty s vermikompostem po přidání přípravku Symbivit. Naopak nejnižší hmotnost 0,16 g byla zjištěna u varianty K a varianty PA.

Proti kontrole se varianta s přípravkem Symbivit navýšila na 0,7 g a varianta s přípravkem PlantAktiv zůstala stejná 0,16 g, ale ani jedna se statisticky neprokázala. Varianta s vermikompostem dosáhla hodnoty 2,44 g a byla statisticky průkazná.

Oproti variantě s přípravkem Symbivit se zvýšila hodnota po přidání vermikompostu na hodnotu 3,36 g. Hodnota byla vyšší u varianty s vermikompostem po

přidání přípravku Symbivit a PlantAktiv a to 3,28 g. Obě tyto varianty byly statisticky průkazné. Varianta s přípravkem PlantAktiv se sice navýšila na 1,25 g, ale statistická průkaznost se nepotvrdila.

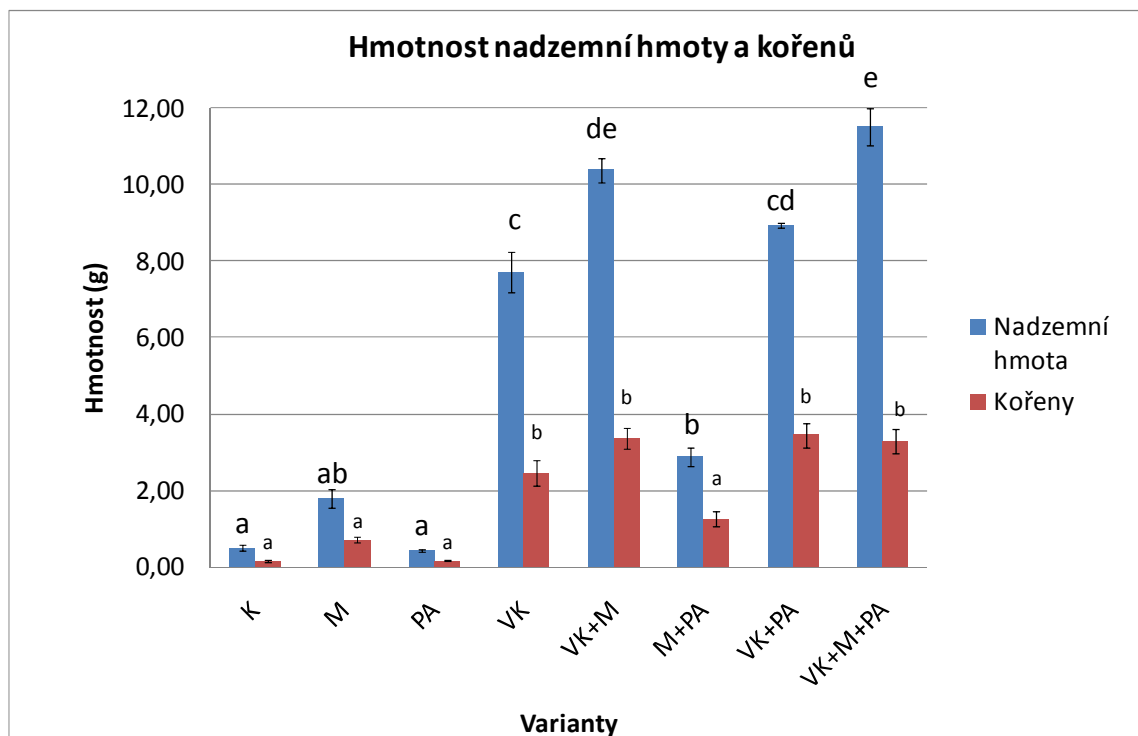
Velmi pozitivního nárůstu dosáhla varianta s vermikompostem a přípravkem Symbivit s hodnotou 3,36 g proti variantě s vermikompostem. Nárůst také zaznamenala varianta s přípravkem PlantAktiv 1,25 g a kombinace přípravku Symbivit a PlantAktiv 3,28 g. Žádná s variant nebyla statisticky průkazná.

Proti variantě s přípravkem PlantAktiv zaznamenalo zvýšení u varianty s přípravkem Symbivit 1,25 g, ale nebyla prokázána statistická průkaznost. Po přidání Vermikompostu se zvýšila hodnota 3,44 g nejvíce, méně poté u varianty po přidání přípravku Symbivit s vermikompostem 3,28 g. U posledních dvou variant byla prokázána statistická průkaznost.

Tabulka č. 1 Hmotnost sušiny (v g) nadzemní hmoty a kořenů salátu (*Lactucasativa*). Tabulka zobrazuje 3 opakování u 8 variant ( $\pm$  směrodatná odchylka). Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné ( $P < 0,05$ ). Označení variant: M – inokulace AM houbami, PA – přípravek PlantAktiv, VK – vermikompost

Varianta	Hmotnost nadzemí hmoty (v g)	Hmotnost kořenů (v g)
1. K	0,5 ( $\pm$ 0,07)a	0,16 ( $\pm$ 0,03) a
2. M	1,79 ( $\pm$ 0,23)ab	0,70 ( $\pm$ 0,08) a
3. PA	0,44 ( $\pm$ 0,03) a	0,16 ( $\pm$ 0,01) a
4. VK	7,70 ( $\pm$ 0,53)c	2,44 ( $\pm$ 0,33) b
5. VK+M	10,38 ( $\pm$ 0,32) de	3,36 ( $\pm$ 0,28) b
6. M+PA	2,87 ( $\pm$ 0,25)b	1,25 ( $\pm$ 0,19)a
7. VK+PA	8,94 ( $\pm$ 0,06) cd	3,44 ( $\pm$ 0,33)b
8. VK+M+PA	11,51 ( $\pm$ 0,49) e	3,28 ( $\pm$ 0,32)b

Graf č. 1 Hmotnost sušiny nadzemní hmoty u salátu (*Lactuca sativa*). Tabulka zobrazuje 3 opakování u 8 variant ( $\pm$  směrodatná odchylka). Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné ( $P < 0,05$ ). Označení variant: 1. K, 2. M, 3. PA, 4. VK, 5. VK+M, 6. M+PA, 7. VK+PA, 8. VK+M+PA



### Délka mimokořenového mycelia na $\text{cm}^2$ membránového filtru (cm)

Dalším hodnoceným parametrem byla délka mimokořenového mycelia (v cm) na  $\text{cm}^2$  nitrocelulózového membránového filtru (viz tabulka č. 2 a graf č. 2). Nejvyšší hodnoty 34,23 cm dosáhla varianta s vermikompostem. Naopak nejnižší 9,22 cm byla u varianty kontrolní.

Proti kontrole se zvýšila varianta s přípravkem Symbivit 20,31 cm, PlantAktiv 17,18 cm a s přidáním vermikompostu 34,23 cm, avšak ani jedna hodnota se neukázala jako statisticky průkazná.

Proti variantě s přípravkem Symbivit se zvýšila varianta s přidavkem vermikompostu a přípravku Symbivit 28,88 cm. Hodnoty 21,24 cm byly vyšší u varianty s přípravkem Symbivit a PlantAktiv. Potvrdilo se i zvýšení u varianty

s přidavkem vermikompostu a přípravků Symbivit a PlantAktiv 30,85 cm. Ani jedna z varianty se statisticky nepotvrdily.

### **Procento kolonizace kořenů mykorhizními houbami**

I když se hodnoty od sebe lišily, jak je patrné z tabulky č. 2 a grafu č. 3, ani v jednom případě nebyla prokázána statistická průkaznost. Nejvyšší hodnoty dosáhla varianta kombinace přípravku Symbivit a PlantAktiv 47,83 %. Nejnižší varianta kombinace přidavku vermikompostu s přípravky PlantAktiv a Symbivit s hodnotou 20,17 %.

Proti kontrole se snížily hodnoty u varianty s přípravkem PlantAktiv 39,83 % a s přidavkem vermikompostu 41,67 %. Naopak se zvýšil u varianty s přípravkem Symbivit 45,5 %.

Oproti variantě s přidavkem vermikompostu se navýšila hodnota 44,00 % po přidání vermikompostu a přípravku Symbivit. Snížily se hodnoty 39,17 % ve variantě s vermikompostem a přípravkem PlantAktiv a ve variantě s vermikompostem, přípravkem Symbivit a PlantAktiv s hodnotou 20,17 %.

V porovnání s variantou M se snížila hodnota na 44,00 % po přidání vermikompostu s přípravkem Symbivit. Také se snížila hodnota na 20,17 % u varianty v kombinaci přidavku vermikompostu, přípravku Symbivit a PlantAktiv.

U varianty s přípravky Symbivit a PlantAktiv 47,83 % jsme mohli pozorovat zvýšení proti variantě s přípravkem PlantAktiv. A naopak se snížila hodnota u varianty s přidavkem vermikompostu a přípravku PlantAktiv s hodnotou 39,17 % a u varianty s vermikompostem, přípravkem Symbivit a Plantaktiv s výsledkem 20,17 %.

Jak je vidět z grafu č. 3, téměř všechny hodnoty jsou si podobné, jedinou výjimkou je varianta v kombinaci s přidavkem vermikompostu, přípravku Symbivit a PlantAktiv.

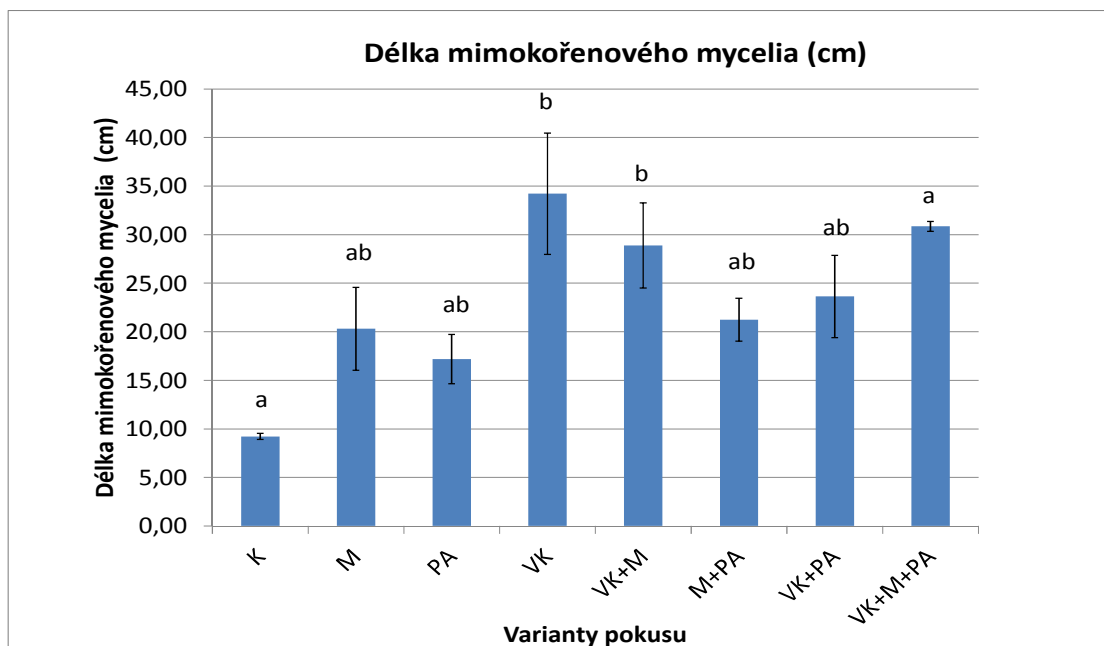
Tabulka č. 2 Délka mimokořenového mycelia (v cm) na cm<sup>2</sup> membránového filtru a procento kolonizace kořene salátu (*Lactuca sativa*). Tabulka zobrazuje 3 opakování u 8 variant

(± směrodatná odchylka). Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné (P<0,05). Označení variant: M – inokulace AM houbami, PA – přípravek PlantAktiv, VK – vermikompost

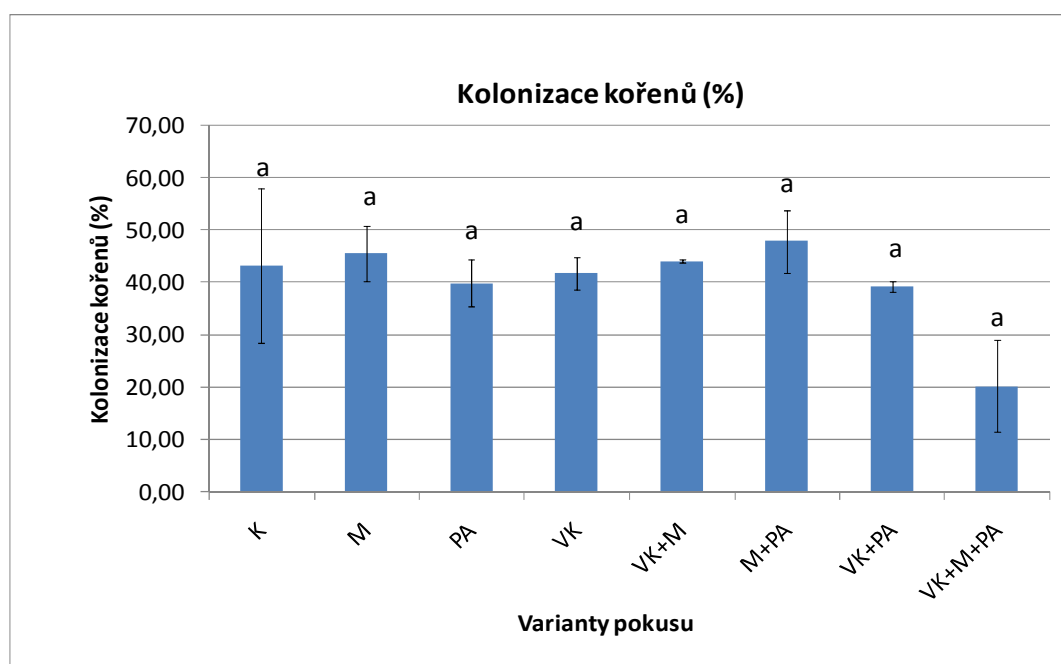
Varianta	Délka mimokořenového mycelia na cm <sup>2</sup> membránového filtru (cm)	% kolonizace kořenů
1. K	9,22 (± 0,33) a	43,17 (± 14,81) a
2. M	20,31 (± 4,26) ab	45,50 (± 5,25) a
3. PA	17,18 (± 2,53) ab	39,83 (± 4,48) a
4. VK	34,23 (± 6,25) b	41,67 (± 3,18) a
5. VK+M	28,88 (± 4,38) b	44,00 (± 0,29) a
6. M+PA	21,24 (± 2,21) ab	47,83 (± 5,99) a
7. VK+PA	23,62 (± 4,22) ab	39,17 (± 0,93) a
8. VK+M+PA	30,85 (± 0,52) b	20,17 (± 8,76) a



Graf č. 2 Délka mimokořenového mycelia (v cm) na cm<sup>2</sup> membránového filtru u salátu (*Lactuca sativa*). Tabulka zobrazuje 3 opakování u 8 variant (± směrodatná odchylka). Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné (P<0,05). Označení variant: 1. K, 2. M, 3. PA, 4. VK, 5. VK+M, 6. M+PA, 7. VK+PA, 8. VK+M+PA



Graf č. 3 Kolonizace kořenů AM houbami u salátu (*Lactuca sativa*). Tabulka zobrazuje 3 opakování u 8 variant (± směrodatná odchylka). Sloupce označené různými písmeny jsou statisticky průkazně odlišné (P<0,05). Označení variant: 1. K, 2. M, 3. PA, 4. VK, 5. VK+M, 6. M+PA, 7. VK+PA, 8. VK+M+PA



## Průběh pokusu

Fotografie č. 18 byla pořízena po 11 dnech od zasetí semínek. Již po této době bylo možné pozorovat náskok v růstu u variant s přidavkem vermikompostu a přidavkem přípravku Symbivit.



Obr. č. 18 Fotografie pořízena 14. října 2014 (Pořadí zleva: 1. K, 2. VK, 3. PA, 4. M, 5. VK+PA, 6. VK+M, 7. M+PA, 8. VK+M+PA)

Po 28 dnech od zasetí byl rozdíl mezi variantou bez přidavku vermikompostu a přípravku Symbivit opravdu razantní. Na fotografii č. 19 lze pozorovat rozdíl mezi aplikovanou a neaplikovanou variantou.



Obr. č. 19 Fotografie experimentu pořízena 31. října 2014 (Pořadí zleva: 1. K, 2. VK, 3. PA, 4. M, 5. VK+PA, 6. VK+M, 7. M+PA, 8. VK+M+PA)

Fotografie č. 20 je pořízena těsně před ukončením experimentu. Už na první pohled lze jednoznačně říci, že rostliny s přídavkem vermikompostu byly mnohonásobně větší a předpokládáme, že i kořenový systém.



Obr. č. 20 Fotografie experimentu pořízena 14. listopadu 2014 (Pořadí zleva: 1. K, 2. VK, 3. PA, 4. M, 5. VK+PA, 6. VK+M, 7. M+PA, 8. VK+M+PA)

## 6. DISKUZE

Všechny hodnocené parametry (hmotnost nadzemní hmoty v sušině, hmotnost kořenů v sušině, délka hyf (v cm) na cm<sup>2</sup> nitrocelulóзовého membránového filtru a procento kolonizace AM houbami) si kladou za cíl prokázat pozitivní vliv vermikompostu na růst rostlin a rozvoj mykorhizních symbióz. Dalším experimentem v rámci této diplomové práce bylo zjistit, jaký vliv na hodnocené parametry měl přípravek Symbivit (směs mykorhizních hub a dalších pomocných látek) a přípravek PlantAktiv (kyslíkem aktivovaný sulfát hořčíku).

Na vývoj a zavádění různých technologií na udržení či zvýšení půdní úrodnosti je v současné době kladen čím dál větší důraz. V posledních letech stoupá poptávka po ekologicky šetrných produktech, technologiích a biopotravinách, proto jsou biotechnologie stále více zkoumány.

Vliv vermikompostu na množství nadzemní hmoty byl nepopíratelný. U kontroly činila hmotnost v sušině 0,50 g. Varianta s vermikompostem dosáhla 7,70 g hmotnosti sušiny nadzemní hmoty. Potvrzují to také dílčí výsledky vegetačního pokusu na salátu prováděného Státním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Opavě v roce 1994. Rostliny pěstované v zemině doplněné naturhumusem (vermikompostem) v poměru 1:10 zvýšil výnos ze 100 % na 312 % (Duží a Kukulka, SZKÚZ Opava) Všeobecně se uvádí, že organická hmota v půdě velmi významně ovlivňuje půdní úrodnost. Z výsledků se nám potvrdilo, že po přidání vermikompostu a inokula mykorhizních hub v přípravku Symbivit mnohonásobně zvýšil hmotnost nadzemní biomasy a to na 10,38 g v sušině.

Ve výsledcích se potvrdil přínos přípravku Symbivit, který dokázal zvýšit délku mimokořenového mycelia v kombinaci s vermikompostem. Toto potvrzuje výrok, že velká část výzkumu mykorhizy v agrosystémech se soustředí na možnost jejího využití ke zlepšení výnosů plodin a snížení dávek průmyslových hnojiv. Pozitivní vliv mykorhizních hub na kolonizaci kořenů byl sledován u řady zemědělských plodin (ZAK et al., 1998). Též se uvádí, že přírůstek organické hmoty ve formě kompostu podporuje růst hyf AM hub v půdě (Roldán et al., 2006). AM houby totiž vyhledávají v půdě organické částice, které kolonizují svým myceliem (StJohn et al., 1983).



Kolonizace kořenů rostlin AM houbami může být ovlivněna i organickými hnojivy. Pozitivní vliv přídavku organické hmoty do půdy na rozvoj mykorhizní infekce jsme zaznamenali u salátu, kde hnojení kompostem zvýšilo procento kolonizovaných kořenů AM houbami. Navíc rostliny vykazovaly nejvyšší produkci nadzemní biomasy (Strobová, 2006). Přídavek inokula mykorhizních hub v přípravku Symbivit též zvýšil procento kolonizace kořene po přidání vermikompostu.

V posledních letech stoupají v oblibě podpůrné půdní látky na nejrůznějších principech, které řeší nejrůznější nedostatky, jako je zlepšení půdní struktury, zvětšení kořenového systému nebo podpory půdních mikroorganismů. Jeden ze zkoumaných přípravků byl preparát PlantAktiv. Dle výsledků se nárůst nadzemní a podzemní biomasy nezvýšil. Jednou z možností je krátké působení přípravku (34 dní). PlantAktiv je používán v provozních podmínkách, tudíž má delší dobu působení. Druhou variantou může být snížené množství organických látek v půdě, protože po přidání PlantAktivu k vermikompostu se oproti variantě pouze s vermikompostem navýšil o 1,24 g. Pozitivní vliv měl také v kombinaci s přípravkem Symbivit. Z toho vyplývá, že přípravek s největší pravděpodobností lépe účinkuje v kombinaci s organickým materiálem nebo funguje dobře s přípravkem Symbivit, kde kyslíkem podporuje mykorhizní houby. Přípravek podporuje také půdní mikroorganismy, hlavně aerobní bakterie, které fungují jako dekompozitoři v půdním prostředí. Mnoho studií ale jasný pozitivní účinek přípravku dokazuje. Akcelerace mineralizačního procesu přípravkem PlantAktiv v naprosté většině jednorázových polních pokusů zvýšila výnos kukuřičné siláže jak po kvantitativní, tak po kvalitativní stránce – co do využitelnosti k biotechnologickým procesům. Na základě statistického vyhodnocení bylo prokázáno, že užití přípravku může zvýšit výnos kukuřičné siláže o 7 %, při dodržování klasických výživářských zásad (Maroušek a Braun, 2013). Účinky dokazuje též pokus ze Španělska na salátu odrůdy Murcia, kdy váha dvou hlávek salátu po 40 dnech v polních podmínkách s PlantAktivem činila 2 040 g, bez přípravku byla váha 1 665 g (Bioaktiv Ibera, 2011).

Nejlépe dopadla kombinace s přídavkem vermikompostu a přípravků Symbivit a PlantAktiv. Žádná studie ale zatím tento výsledek nepotvrzuje.

## 7. ZÁVĚR

Nádobový experiment zaměřený na vliv vermikompostu na růst rostlin a rozvoj mykorhizních symbióz u salátu (*Lactuca sativa*) uskutečněných v 8 variantách a 3 opakováních prokázal, že:

- průměrná hmotnost sušiny nadzemní biomasy u salátu (*Lactuca sativa*) se pohybovala v rozmezí 0,50 – 11,51 g. U variant s vermikompostem se projevil zvýšený nárůst a oproti kontrole hmotnost dosáhla rozdílu 7,20 g. U přípravku Symbivit jsme pozorovali oproti kontrole též zvýšení hmotnost, rozdíl byl 1,29 g. U varianty s přípravkem PlantAktiv se rozdíl nepotvrdil. V kombinaci s vermikompostem a Symbivitem rozdíl byl.
- průměrná hmotnost sušiny podzemní biomasy u salátu (*Lactuca sativa*) se pohybovala v rozmezí 0,16 – 3,44 g. U variant s vermikompostem byl rozdíl oproti kontrole 2,28 g. U varianty s přípravkem Symbivit byl rozdíl oproti kontrole 0,54 g. Vliv přípravku PlantAktiv se proti kontrole neprojevil. Též jako u průměrné hmotnosti nadzemní hmoty v kombinaci se vliv přípravku potvrdil.
- Procento kolonizace kořenů se nijak významně nelišilo
- Délka mimokořenového mycelia na cm<sup>2</sup> membránového filtru (cm) se zvýšila oproti kontrole ve všech případech, jak po přidání vermikompostu, tak po aplikaci přípravku Symbivit a PlantAktiv.

## 8. SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

Aleš Hanč, Petr Plíva (2013): *Vermikompostování bioodpadů*, ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA, v. v. i., 2013, 35 s. ISBN 978-80-213-2422-0.

Bonfante-Fasolo P. (1980): Occurrence of a basidiomycete in living cell of mycorrhizal hair root of *Calluna vulgaris*. Transaction of the British Mycological Society 75.

Domínguez J., Edwards C. A. (2011): Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. In: *Vermiculture Technology*, Ed. Edwards C. A., Arancon, N. and Sherman R.: Press

Egerton-Warburton L., Allen M. F. (2001): *Endo- and ectomycorrhizas in Quercus agrifolia* Nee. (*Fagaceae*): patterns of root colonization and effects on seedling growth. *Mycorrhiza* 11

Frank, A. B. (1885): Über die auf Wurzel symbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. Bericht der Deutschen Botanischen Gesellschaft 3

Giovanetti M, Mosse B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84.

GRYNDLER, Milan. a kol, (2004): *Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin*. 1. vyd. Praha: Academia, 366 s. ISBN 80-85368-80-3.

Harley J. L., Harley E. L. (1987): A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New Phytologist*

Ivo Zajonc (1992): *Chov žížal a výroba vermikompostu*, ANIMAPRESS, 57 s. ISBN 80-85567-07-5

Josef Maroušek, Petr Braun (2013): *Nová opatření ke zlepšení kvality půdní organické hmoty při použití přípravku PlantAktiv*

Koske, R. E., Gemma, J. N. (1989): *A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas*. Mycological Research 92: 486-505;

Michaela Stroblová (2006): *Úloha endomykorhizních hub při pěstování vybraných zemědělských plodin*, disertační práce Mendelova univerzita v Brně

Němeček J., Macků J., Vokoun J., Vavříček D., Novák P. (2001): *Taxonomický klasifikační systém půd České republiky*. ČZU, Praha

Neville J., Tessier J. L., Morrison I., Scarratt J., Canning B., Klironomos J. N. (2002): *Soil depth distribution of ecto and arbuscular mycorrhizal fungi associated with Populus tremuloides within a 3-year-old boreal forest clear-cut*. Applied Soil Ecology 19:

Read D. J., Kianmehr H., Malibari A. (1977): *The biology of mycorrhiza in Helianthemum Mill.* New Phytologist 78,

Roldán, A., Carrasco, L., Caravaca, F., 2006: *Stability of desiccated rhizosphere soil aggregates of mycorrhizal Juniperus oxycedrus grown in a desertified soil amended with a composted organic residue*. Soil Biology and Biochemistry 38

Sinha R. K., Agarwal S., Chauhan K., Valani D. (2010): *The wonder soil earth worms and its vermicompost in farm production: Charles Darwin's friends of farmers, with potential to replace destructive chemical fertilizers from agriculture*. Agric. Sci, 1.

StJohn, T. V., Coleman, D. C., Reid, C. P. P., (1983): *Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles*. Ecology 64

Varma, A., Hock, B. (2008): *Mycorrhiza – structure, function, molecular biology and biotechnology*



Zuzana Kabrhelová (2008): *Vliv sucha na kolonizaci rostlin mykorhizními houbami a vliv na mykoparazitické houby*, diplomová práce Mendelova univerzita v Brně

ZAK, J. C., McMichael, B., Dhillion, S., Friese, C., (1998): Arbuscular-mycorrhizal colonization dynamics of cotton (*Gossypiumhirsutum*L.)growing under several production systems on theSouthernHigh Plains, Texas. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 68

### **Internetové zdroje**

Botanický ústav AV ČR, *Oddělení pro mykorhizní symbiózu* (online) 2015. Dostupné z: <http://www.ibot.cas.cz/mykosym/mykorhiza.html>

Masarykova univerzita, *Ekologie a význam hub* (online) 2015. Dostupné z: <http://www.sci.muni.cz/botany/mycology/ekolgub.htm>

Bioaktiv Ibera I. L. Field trials in Spain for various plants (online) 2011. Dostupné z: [http://bioaktivgmbh.de/wp-content/uploads/2013/04/1\\_spain-2011-eng.pdf](http://bioaktivgmbh.de/wp-content/uploads/2013/04/1_spain-2011-eng.pdf)

Duží Lea a Kukulka Václav, SZKÚZ Opava