

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroekologie a rostlinné produkce



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv bakterií mléčného kvašení a mykoparazitických
a entomopatogenních hub na vitalitu osiva luskovin**

Diplomová práce

Bc. Jan Roh

Pěstování rostlin – Výživa a ochrana rostlin

Ing. Pavel Procházka Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci **“Vliv bakterií mléčného kvašení a mykoparazitických a entomopatogenních hub na vitalitu osiva luskovin“** jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4. 2023

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu své diplomové práce za pomoc při tvorbě práce, za konzultace a vyhodnocování pokusů. Dále bych rád poděkoval celé své rodině za podporu a vytvoření vhodného prostředí pro studium.

Vliv bakterií mléčného kvašení a mykoparazitických a entomopatogenních hub na vitalitu osiva luskovin

Souhrn

Diplomová práce je zaměřena na hodnocení vlivu biologických látek v ochraně osiva luskovin na jejich vitalitu. Kromě vlivu na samotná semena byl zkoumán i vliv na časně vývojové fáze rostlin. Rostliny bývají často napadány komplexem kořenových chorob a moření je nejlepší možnou obranou proti těmto patogenům. V rámci pokusu byly vybrány 3 druhy luskovin – sója luštinatá, hrách setý a lupina bílá a každá plodina byla mořena biologickým preparátem založeným na bakteriích mléčného kvašení (BMK), na Trichodermě (organismus z třídy hub) nebo kombinaci těchto organismů.

Pro hodnocení vlivu byly použity testy v laboratorních podmínkách – test konduktivity, laboratorní klíčivost a energie klíčení, laboratorní vzcházivost a test urychleného stárnutí (TUS). Testy v laboratořích probíhaly pro všechny varianty za stejných podmínek i ve stejném čase.

Jednotlivé zkoušky nám měly ukázat, jak jednotlivé plodiny reagují na moření biologickými látkami, a to pozitivně i negativně. Mezi pozitivní dopady se řadila všechna hlediska, která zvětšují výnosový potenciál. Do negativních hledisek byl zařazen pravý opak, tedy např. nižší klíčivost, horší vzcházení, méně vzešlých rostlin, horší výsledek konduktometrického měření.

Výsledky testů nám ukázaly, že v rámci plodin jsou výsledky značně variabilní. Testy, které byly zaměřené na tvorbu biomasy, nebyly průkazné v žádném testu napříč plodinami. U sóji byl zjištěn negativní vliv na klíčivost u osiva po TUS oproti všem variantám i neošetřené kontrole. Hrách vykázal pozitivní vliv na ošetření biologickými látkami při testu konduktivity a zároveň měly ošetřené varianty vyšší klíčivost než neošetřená kontrola. Při testování lupiny nebyly zjištěny žádné prokazatelné účinky na moření biologickými látkami napříč všemi testy.

Klíčová slova: vitalita osiva, luskoviny, bakterie mléčného kvašení, mykoparazitické a entomopatogenní houby

Effect of lactic acid bacteria and mycoparasitic and entomopathogenic fungi on legume seed vitality

Summary

The diploma thesis is focused on the evaluation of the influence of biological substances in the protection of leguminous seeds on their vitality. In addition to the effect on the seeds themselves, the effect on the early stages of plant development was also investigated. Plants are often attacked by a complex of root diseases, and pickling is the best possible defense against these pathogens. As part of the experiment, 3 types of legumes were selected - soybean, pea and lupine, and each crop was pickled with a biological preparation based on lactic acid bacteria (LAB), an organism from the Trichoderma fungus class, or a combination of these organisms.

Tests in laboratory conditions were used to evaluate the effect - conductivity test, laboratory germination and germination energy, laboratory germination and accelerated aging test. Tests in laboratories took place for all variants under the same conditions and at the same time.

Individual tests were supposed to show us how individual crops react to pickling with biological substances, both positively and negatively. Among the positive impacts were all aspects that increase the revenue potential. The opposite was included in the negative aspects, i.e. lower germination, worse germination, fewer emerged plants, worse result of conductometric measurement.

Test results have shown us that results are highly variable within crops. No significant effects on the seed could be confirmed for soybean and lupine. With peas, the situation was different, and peas reacted positively in certain tests and rather negatively in others, but the differences between the untreated control were demonstrable.

The diploma thesis is focused on the evaluation of the influence of biological substances in the protection of leguminous seeds on their vitality. In addition to the effect on the seeds themselves, the effect on the early stages of plant development was also investigated. Plants are often attacked by a complex of root diseases, and pickling is the best possible defense against these pathogens. As part of the experiment, 3 types of legumes were selected - leguminous soybean, field pea and white lupine, and each crop was pickled with a biological

preparation based on lactic acid bacteria (LAB), an organism from the Trichoderma fungus class or a combination of these organisms.

Tests in laboratory conditions were used to evaluate the effect - conductivity test, laboratory germination and germination energy, laboratory germination and accelerated aging test. Tests in laboratories took place for all variants under the same conditions and at the same time.

Individual tests were supposed to show us how individual crops react to pickling with biological substances, both positively and negatively. Among the positive impacts were all aspects that increase the revenue potential. The opposite was included in the negative aspects, i.e. lower germination, worse emergence, fewer emerged plants, worse result of conductometric measurement.

Test results have shown us that results are highly variable within crops. Tests that focused on biomass production were not conclusive in any test or crop. In soybean, a negative effect on seed germination was found after TUS compared to all variants and the untreated control. Peas showed a positive effect on the treatment with biological substances in the conductivity test, and at the same time the treated variants had higher germination than the untreated control. In lupine testing, no demonstrable effects on pickling by biological agents were found across all tests.

Keywords: seed vitality, legumes, lactic acid bacteria, mycoparasitic and entomopathogenic fungi

Obsah

1	Úvod	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3	Literární rešerše.....	11
3.1	Botanické zařazení, historie, význam a využití jednotlivých plodin	11
3.1.1	Sója luštinatá.....	11
3.1.2	Hrách setý	11
3.1.3	Lupina bílá	12
3.2	Pěstování	12
3.2.1	Pěstování sóji	12
3.2.2	Pěstování hrachu	13
3.2.3	Pěstování lupiny.....	13
3.3	Osivo	14
3.3.1	Osivo sóji	14
3.4	Choroby.....	14
3.4.1	Choroby sóji.....	15
3.4.2	Choroby hrachu.....	15
3.4.3	Choroby lupiny	16
3.5	Půdní podmínky působící na klíčící osivo	16
3.6	Inokulace a moření osiv	17
3.7	Biologické látky v rostlinné produkci.....	18
3.7.1	Bakterie mléčného kvašení	18
3.7.2	Trichoderma (TVI)	20
3.7.3	Výtažky z rostlin a řas	22
4	Metodika	24
4.1	Test konduktivity	24
4.1.1	Průběh testu – konduktivita	24
4.2	Test urychleného stárnutí (TUS)	25
4.2.1	Průběh testu – TUS.....	26
4.3	Laboratorní klíčivost	26
4.3.1	Průběh testu – laboratorní klíčivost	26
4.3.2	Energie klíčení	27
4.4	Laboratorní vzcházivost	28
4.4.1	Průběh testu – laboratorní vzcházivost	29
4.5	Produkce biomasy	29
4.6	Statistické hodnocení	29
5	Výsledky.....	30

5.1	Test konduktivity	30
5.1.1	Statistické hodnocení – konduktivita.....	31
5.2	Laboratorní klíčivost	32
5.2.1	Statistické hodnocení – laboratorní klíčivost.....	35
5.2.2	Energie klíčení	36
5.2.2.1	Statistické hodnocení – energie klíčení	37
5.3	Laboratorní vzházivost	39
5.3.1	Statistické hodnocení – laboratorní vzházivost.....	40
5.4	Produkce biomasy	41
5.4.1	Statistické hodnocení – tvorba biomasy	41
6	Diskuze	43
6.1	Kvalita osiva	43
6.2	Bakterie mléčného kvašení.....	43
6.3	Trichoderma	44
6.4	Konkurence půdních mikroorganismů	44
7	Závěr.....	45
8	Literatura.....	46

1 Úvod

Diplomová práce se opírá o rozsáhlý výzkum zaměřený na ochranu luskovin biologickými přípravky. Toto téma je v dnešní době velice aktuální, zejména jako odpověď na snahu snížit množství chemických látek v zemědělství. Projekt je složen z laboratorních a polních pokusů, které zkoumají vlivy bakterií mléčného kvašení a mykoparazitických a entomopatogenních hub na osivo a klíčící rostliny.

Luskoviny velice často trpí napadením chorob kořenového systému. Je to způsobeno hlubším setím a tedy i delší dobou vzcházení. Po celou tuto dobu jsou rostliny odkázány na zásobní látky v semeni a jejich energie na obranu proti patogenům je omezená. Nejlepším řešením je tedy moření semen. Díky moření je možné zacílit přesně na potřebné místo (semeno) a zároveň aplikovat v nižší dávce s vyšším účinkem. Kromě ochrany před patogeny je možné mořidla doplnit o výživu pro lepší vzcházení semen.

Jako vhodné preparáty pro moření osiv byly vybrány dvě skupiny organismů – bakterie a mykoparazitické a entomopatogenní houby. Za doménu bakterií byly použity bakterie mléčného kvašení (BMK), které se hojně vyskytují v půdě i na rostlinách. O moření osiva a dodání bakterií se postaral Výzkumný ústav mlékárenský Praha. Za třídu hub byla vybrána *Trichoderma*, která je stejně jako BMK hojně přítomná, zejména v půdách.

Pro diplomovou práci se staly základem laboratorní pokusy prováděné na České zemědělské univerzitě v Praze. Jednalo se o pokusy zaměřené na vitalitu osiv a rostlin v raných fázích vývoje mořených biologickými preparáty. V rámci pokusu byly provedeny testy laboratorní klíčivosti a energie klíčení, laboratorní vzcháživosti, test urychleného stárnutí (TUS) a konduktometrické měření. Test urychleného stárnutí a konduktometrické měření vodivosti sloužily pro hodnocení vitality osiva a zbylé testy zahrnovaly osivo i mladé rostliny.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce bude jednak vytvořit kvalitní literární rešerši na zvolené téma a jednak ověřit možný vliv bakterií mléčného kvašení a mykoparazitických a entomopatogenních hub na vitalitu osiva luskovin.

Hypotézy:

- 1) Aplikace bakterií mléčného kvašení, respektive mykoparazitických a entomopatogenních hub má vliv na vitalitu osiva luskovin.
- 2) Aplikace bakterií mléčného kvašení, respektive mykoparazitických a entomopatogenních hub má vliv na časné růstové fáze luskovin.

3 Literární rešerše

Část literární rešerše bude věnována informacím o jednotlivých plodinách, osivu, moření a funkci jednotlivých biologických látek v ochraně rostlin.

3.1 Botanické zařazení, historie, význam a využití jednotlivých plodin

Sója luštinatá, hrách setý i lupina bílá se v botanickém systému řadí do říše *Plantae*, oddělení *Magnoliophyta* – rostliny krytosemenné, třída *Rosopsida* – vyšší dvouděložné rostlina, řád *Fabales* – bobotvaré, čeleď *Fabaceae* – bobovité (Lahola et al. 1990). Všechny zmíněné rostliny mají pozitivní vliv na pěstování následných plodin, proto se řadí mezi zlepšující plodiny s vysokou předplodinovou hodnotou, zejména díky fixaci vzdušného dusíku pomocí symbiotických bakterií. Sója, hrách i lupina mají stálé zastoupení v krmivech pro hospodářská zvířata (jako bílkovinná složka), ale nezanedbatelná je i jejich popularita ve výživě člověka jako náhrada živočišných bílkovin. Tyto plodiny jsou také často využívány jako složka luskovino-obilních směsí nebo jako jedna plodina pro směsi zeleného hnojení (Mezlík, 2020).

3.1.1 Sója luštinatá

Sója luštinatá (*Glycine max*), tak jak ji známe dnes, je vývojovým potomkem divoké sóji s původem v Číně a východní Asii. Oproti planě rostoucím druhům je sója luštinatá rostlina se vzpřímenou lodyhou a semeny s vyšším obsahem oleje (Shurleft & Aoyagi, 2004). Ačkoli je sója řazena mezi luskoviny (botanicky i agrotechnicky), její hospodářský význam je především v získávání rostlinného oleje (Peterová, 2005). Kromě získávání kvalitního oleje je sója dále pěstována jako pícnina a její využití je možné jako krmivo pro hospodářská zvířata (Anderson et al. 2019). Díky zlepšujícím vlivům na půdu se plochy oseté sójou v posledních letech zvyšují (Štranc & Procházka, 2022).

3.1.2 Hrách setý

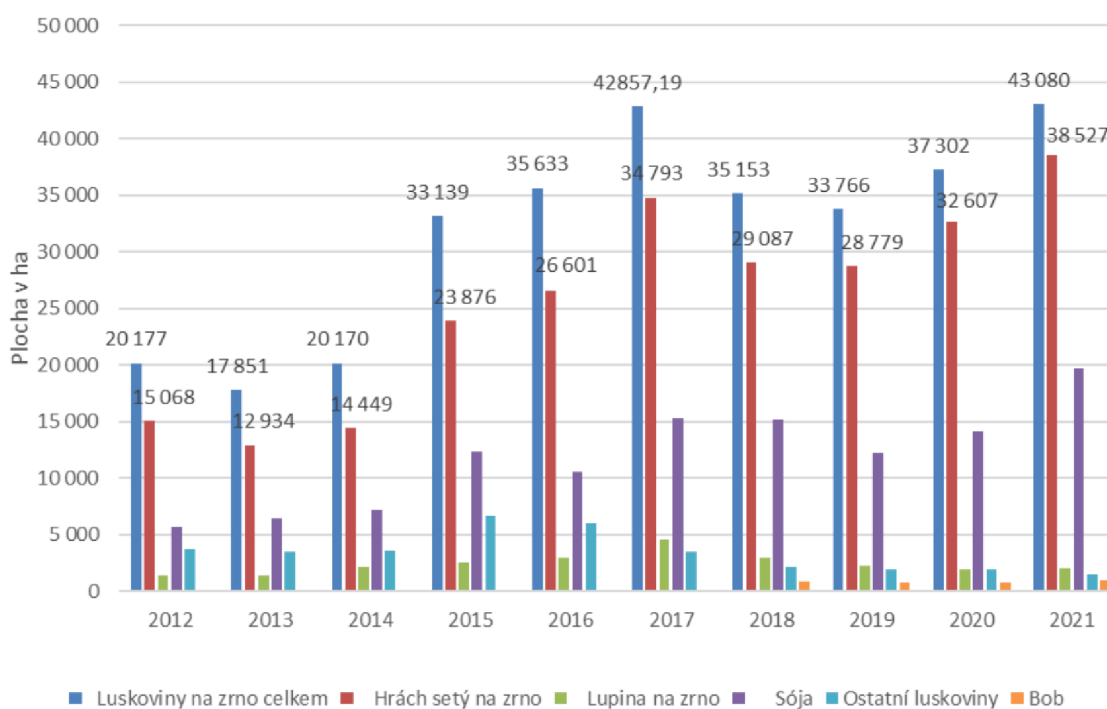
Hrách setý (*Pisum sativum*) je jednoletá bylina pěstovaná prakticky po celém světě. Hlavním směrem pěstování je produkce semen, které je možné konzumovat jak v plné zralosti (po úpravě), tak i v průběhu dozrávání. Hrách je jednou z nejdéle pěstovaných plodin a jeho původ není zcela jednoznačný, ale divoce rostoucí rostliny je možné nalézt zejména v oblasti Středozemního moře (Britannica, 2023). V České republice je hrách nejpěstovanější

luskovinou a zaujímá 87 – 89 % plochy luskovin v ČR s průměrným výnosem 2,5 – 3,0 t/ha (Ministerstvo zemědělství, 2020).

3.1.3 Lupina bílá

Lupina bílá neboli vlčí bob bílý (*Lupinus albus*) je rostlina tradičně pěstovaná v oblasti řeky Nil (Huyghe, 1997). Odhaduje se, že na světě roste přibližně 250 druhů lupiny s různým produkčním potenciálem. Největším světovým producentem je Austrálie a evropským Německo. Lupinu lze pěstovat se zaměřením na produkci semen, výnosy jsou obdobné jako u ostatních luskovin nebo i mírně vyšší. Kvalita semen se hodnotí zejména obsahem proteinů, který bývá podobný jako u sóji, ale lupina má menší množství oleje (Vaculík, 2019).

Graf 1 - Vývoj ploch osevů vybraných luskovin (2012 – 2021)



Zdroj: ČSÚ

3.2 Pěstování

3.2.1 Pěstování sóji

Ideální pro pěstování sóji jsou teplé lokality s dostatkem srážek. Z hlediska půdy jsou pro sóju vhodné hluboké, černozemní nebo písčito-hlinité či hlinito-písčité stanoviště. Dále je pro pěstování sóji důležité pH, které by mělo být slabě kyselé až neutrální (6 – 7). Pro sóju nejsou vhodné přemokřené pozemky (Houba, 2019). Správná příprava půdy má velký vliv na výnos sóji. Přípravu je vhodné začít podzimní orbou, kterou je možné doplnit podzimním

rozbitím hrud. Orbu je možné nahradit hlubokým kypřením radličkami. Přípravu před setím provádíme mělkou asi 5 cm, abychom zamezili ztrátám vody výparem. Setí provádíme do prohřáté půdy, což bývá koncem dubna nebo začátkem května. Hloubka setí se pohybuje kolem 5 cm, mělce zaseté porosty mohou poškozovat škůdci nebo preemergentně aplikované herbicidy (Průša, 2022).

Sója, jako plodina vázající vzdušný dusík, není zcela závislá na hnojení dusíkem. Pro podporu fixace je doporučeno očkovat osivo bakteriemi rodu *Bradyrhizobium japonicum*, popřípadě aplikovat startovací dávku dusíku v množství do 30 kg N/ha. Hnojení fosforem a draslíkem řešíme dle rozborů půd (Sorensen & Penas, 1978).

3.2.2 Pěstování hrachu

Hrách setý je možné pěstovat jak v orebním, tak i v bezorebním systému. Při setí jarního hrachu je nutné omezit zpracování půdy v jarních měsících z důvodu udržení dostatku vláhy. Půdní reakce by se měla pohybovat od 6,0 – 6,8. Tato hodnota zaručí hrachu namnožení dusík vázajících bakterií, které poté dodávají dusík rostlinám během vegetace, a zároveň se jedná o vhodné půdní podmínky pro přístupnost živin. Výživa hrachu je podobná jako u sóji nebo lupiny. Setí hrachu probíhá v našich podmínkách od začátku dubna do konce tohoto měsíce, výsevy po první polovině května mají prokazatelně negativní vliv na výnos (Endres & Kandel, 2009).

3.2.3 Pěstování lupiny

Lupina, má podobné nároky jako ostatní luskoviny, ale díky množství existujících variet, je adaptabilnější na prostředí. Tato adaptace spočívá zejména ve snášenlivosti nízké půdní reakce. Pro lupinu bílou je vhodné pH mírně kyselé (6,5), ale pro lupinu mnoholistou jsou přijatelné hodnoty i kolem 5. Podobně jako ostatní luskoviny nejsou pro lupinu vhodné těžké, zamokřené, utužené pozemky, takže i proto se doporučuje pěstovat lupinu v orebné technologii. Setí lupiny se provádí dle půdních podmínek, nejčastěji však na přelomu března a dubna. Hloubka setí se pohybuje od 4 – 5 cm (Editors of PGRO, 2021).

Lupina se řadí mezi zlepšující plodiny a její nároky na hnojení nejsou vysoké. Co se týče hnojení dusíkem, je díky symbióze s hlízkovými bakteriemi soběstačná. Dávka fosforu dle odběrového normativu se doporučuje 20 kg P/ha a dávka draslíku 40 – 50 kg K/ha. Dále je možné zařadit hnojení sírou v dávce 20 – 30 kg S/ha (Kalembasa et al. 2020).

3.3 Osivo

Semeno rostliny je úsporná a efektivní forma přenosu genetické informace z generace na generaci a tím i prostředek zachování kontinuity rostlinného druhu a odrůdy. Osivo je nejdůležitějším vstupem při pěstování rostlin. Osivo musí být klíčivé, zdravé a bez příměsí plevelů, dále musí být zachována jeho genetická kvalita a odrůdová identita, což je nejdůležitější vlastnost každého osiva (Portál farmáře, 2023).

3.3.1 Osivo sóji

Kvalita semen sóji je nejvíce ovlivněna v období těsně před sklizní. Nejlepším obdobím pro sklizeň semen s nejlepší vitalitou je fyziologická zralost. Klíčivost semen sóji při skladování rychle klesá a je jednou z nejhorších v porovnání s ostatními plodinami pro produkci oleje. Nejvíce negativně ovlivňuje vitalitu osiva mikroklima ve skladu osiv. Časté střídání tepla a zimy spojené se změnami vlhkosti snižuje klíčivost semen a může docházet k problémům s klíčivostí. Semena sóji jsou také velice náchylná na mechanické poškození. Během skladování dochází k manipulaci s osivem, které může vést k poškození osiva. Nevhodné podmínky skladování vyvolávají v semenech peroxidaci lipidů, což vede ke ztrátě klíčivosti (Shelar et al. 2008).

Z hlediska stavby semene má největší vliv na klíčivost jeho obal. U semen se správně vyvinutým obalem, který obsahuje dostatek ligninu, je mnohem menší náchylnost k mechanickému poškození. Kromě mechanické odolnosti je obal semen zodpovědný také za propustnost látek do semene nebo odolnosti proti vzniku houbových či bakteriálních chorob. Tyto vlastnosti nejsou podstatné pouze při skladování osiva, ale také ovlivňují vitalitu po zasetí v polních podmínkách (Dübbern de Souza, 2001). V případě produkce semen ostatních luskovin jsou podmínky pro jejich produkci, posklizňovou úpravu a skladování podobné. Semena jsou velikostně podobná a jejich kvalitu ovlivňují stejné parametry podobně jako u sóji (Kumar et al. 2020).

3.4 Choroby

Choroby semen a klíčících rostlin jsou běžné a mohou způsobovat významné problémy. Mohou snížit množství rostlin, což vede k řídkým porostům a ztrátám výnosech i kvalitě. Tato onemocnění může způsobit několik různých patogenů a nejběžnějšími jsou *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora* a *Pythium*. Tyto patogeny poškozují mladé

rostliny i semena před vyklíčením. Nejčastěji se vyskytují v období, když je půda v prvních týdnech po setí velmi vlhká a v těžkých, nepropustných půdách (Malvick, 2018).

3.4.1 Choroby sóji

Mezi nejčastější choroby sóji patří bakteriální plíseň sóji. Jsou-li mladé rostlinky napadeny již při vzcházení, na klíčnicích listech vznikají hnědé skvrny a při napadení růstového vrcholu dochází k odumření rostliny. Na starších rostlinách se zvláště na mladších listech tvoří žluté drobné skvrny nepravidelného tvaru, které hnědnou a mohou se spojovat. Kolem skvrn se tvoří žlutý okraj. Pletivo uvnitř skvrn nekrotizuje a vypadává. Po vypadnutí pletiva vznikají na listech trhliny a někdy může dojít k opadu listů. Patogen napadá i lusky a stonky, nejčastěji však listy zejména ve středních a horních částech rostliny (Mižík, 2017). Další chorobou, která napadá porosty sóji je plíseň sóji. Prvními příznaky, které se objevují na mladých listech, jsou žlutozelené skvrny nepravidelného tvaru, které jsou ostře ohraničeny žilnatinou. V centrální části skvrny hnědnou a kolem se vytváří chlorotický lem. Silně napadené listy se zkrucují a někdy předčasně opadávají. Infikované mohou být také lusky a semena v nich. Z infikovaných semen, pokud vyklíčí, vyrůstají systémově infikované rostliny, které jsou menší s deformovanými listy. Semena z takových rostlin jsou malá a lusky někdy mohou být zcela sterilní (Mižík, 2017).

3.4.2 Choroby hrachu

Největší výnosové ztráty u hrachu způsobují ve všech oblastech choroby, které napadají krčky rostlin a kořenový systém. V teplejších oblastech pak ztráty zvyšují ještě virózy. V obou případech se jedná o komplexní onemocnění způsobené více patogeny. Kořenové a krčkové choroby způsobují převážně tyto houby: *Pythium*, *Aphanomyces*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium avenaceum*, *Rhizoctonia*, *Phoma* a další. Jejich rozvoj a tím škodlivost je do značné míry dána průběhem počasí během vegetace (Selgen, 2021). Dalšími chorobami, které napadají hrách i v pozdějších fázích vývoje jsou Sclerotinia, rez hrachu nebo plíseň hrachová. Sclerotinia se projevuje šedými výstupky na lodyhách hrachu. Při bližším zkoumání objevíme uvnitř šedivého výstupku černá sklerocia. Rostliny mají porušené vodivé cesty a dochází k redukci výnosu. Sklerocia přežívají v půdě, proto je ochranou před nimi kromě fungicidů i orba a delší odstup v pěstování. Rez hrachu poznáme podle typických rezavých skvrn na listech. Jedná se o piknidy s výtrusy, které jsou následně větrem přenášeny na další rostliny. Plíseň hrachu tvoří na spodní straně listů typický

šedohnědý, jemný povrch. Zde dochází k vývoji spor, které se následně šíří na okolní rostliny. Plíseň přežívá na rostlinných zbytcích (Bayer, 2023).

3.4.3 Choroby lupiny

Nejpodstatnějšími chorobami jsou stonková antraknóza lupiny (*Colletotrichum gloeosporioides*, teleom. *Glomerella cingulata*) a antraknózová vrcholová spála lupiny (*Colletotrichum lupini*). Jedná se o nejzávažnější choroby lupin. Jimi jsou nejvíce postiženy lupina bílá a žlutá. Rozvoj choroby závisí na průběhu počasí, kdy vyšší vlhkost šíření infekce podporuje. Patogeny napadají listy, lodyhy, lusky i semena. Na napadených částech vznikají světle hnědé oválné skvrny s tmavohnědým okrajem, navíc za vlhka povrch lézí bývá pokrytý světle lososově oranžovým povlakem mycelia s ohromnou masou oválných spor (konidií). V místě napadení se pletivo kroutí, lodyhy se typicky stáčejí a vegetační vrcholy zasychají (Bačová, 2021).

Dále je lupina napadána komplexem kořenových chorob - fuzáriové vadnutí lupiny (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lupini*), fuzáriová kořenová hniloba lupiny (*Fusarium solani*), hnědá kořenová hniloba lupiny (*Rhizoctonia solani*), černá kořenová hniloba lupiny (*Thielaviopsis basicola*) a *Verticillium albo-atrum*. Symptomy napadení většinou bývají nejdříve viditelné v době kvetení, kdy zelené části rostlin nejdříve zavadají nebo žloutnou, později zasychají a celá rostlina nakonec odumírá. Po vyjmutí takovéto rostliny z půdy jsou na kořenech a kořenových krčcích vytvořeny nejprve tmavě zbarvené skvrny, později se kořen zbarvuje celý do tmavě-hněda a odumírá. Za vlhka dochází k pokrytí napadeného pletiva myceliem původce (Bačová, 2021).

3.5 Půdní podmínky působící na klíčící osivo

Klíčení semen je parametr prvořadého významu a zásadní pro produkci celkové biomasy a výnosu a spočívá ve složitém jevu mnoha fyziologických a biochemických změn vedoucích k aktivaci embrya (Riaz et al. 2019). V procesu klíčení semen je voda absorbována embryem, což má za následek rehydrataci buněk. Krátce po začátku příjmu vody se rychlost dýchání zvyšuje a obnovují se různé metabolické procesy, které byly pozastavené nebo výrazně snižené během dormance. Tyto děje jsou spojeny se strukturálními změnami v organelách (membranózních tělesech zabývajících se metabolismem) v buňkách embrya (Hesslop-Harrison, 2022).

Většina luskovin roste a vyvíjí se lépe v neutrálních půdách, s výjimkou lupiny, která roste při pH 4,0–5,0 (dle druhu). Kořeny luskovin se lépe tvoří při pH 6,5 – 7,0

a při hodnotách pH nižších než 3 se cytoplazma kořenových buněk rozpadá. Při pH vyšším než 8 mají rostliny nedostatek dusíku, fosforu, železa, manganu, mědi a zinku. V kyselých půdách přebytek hliníku inhibuje příjem fosforu, vápníku, draslíku, železa, sodíku a boru kořenovými buňkami. Čím vyšší je kyselost, tím obtížnější je asimilovat půdní hořčík. Nedostatek hořčíku vede ke snížení fotosyntézy a snížení transportu cukru ke kořenům. V důsledku toho se zastaví fixace dusíku a listy rostliny žloutnou a opadávají (Zavalin et al. 2019).

Půda představuje jeden z nejrozmanitějších ekosystémů na naší planetě s interagujícím společenstvím bakterií, archeí, virů, hub a prvoků - souhrnně označované jako půdní mikrobiom. Půdní mikrobiom řídí biogeochemický koloběh makroživin, mikroživin a dalších prvků nezbytných pro růst rostlin a živočichů (Jansson & Hofmockel, 2020). Řada studií odhalila, že půdní mikrobi mají významný vliv na klíčení semen, vitalitu sazenic a na růst rostlin, výživu, nemoci a produktivitu. Půdní mikrobi ovlivňují semena a rostliny tím, že stimulují produkci rostlinných hormonů, dodávají rostlinám půdní živiny, inhibují aktivitu rostlinných patogenů a zvyšují toleranci rostlin k biotickým a abiotickým stresům. Například kmeny *Pseudomonas* nejen zlepšují klíčení semen a prodlužování kořenů produkcí auxinů, ale mají také potenciál potlačovat choroby přenášené půdou produkcí těkavých a rozpustných sekundárních metabolitů. *Enterobacter cloacae* produkuje životně důležitý enzym, 1-aminocyklopropan-1-karboxylátdeaminázu, která snižuje hladinu ethylenu v kořenech vyvíjejících se rostlin, čímž prodlužuje délku kořene. Kromě toho mají půdní mikrobi nepřímé mechanismy, které ovlivňují rostliny, včetně inhibice rostlinných houbových a bakteriálních patogenů (Hu et al. 2019).

3.6 Inokulace a moření osiv

Inokulace a moření osiva jsou nejvýznamnějšími procesy ošetření osiva před setím. Inokulace osiva se používá pro lepší kolonizaci kořenů rostlin symbiotickými bakteriemi rodu *Rhizobium*. Tyto bakterie se sice nachází i běžně v půdě, ale pro každou plodinu jsou vhodné jiné druhy těchto bakterií. Při pěstování luskovin se tedy často volí jejich dodání do půdy a nejlépe přímo do oblasti výsevu semen, což lze provádět dvěma způsoby. První z nich je častější a jedná se o aplikaci přímo na jednotlivá semena. Očkovací látka je smíchána společně se semeny a následně zabalena a expedována. Méně často jsou poté doručovány spotřebiteli odděleně, zemědělec tedy musí smíchat osivo a inokulant sám, což vyžaduje technologii a je to proces náročný. Další variantou je aplikace bakterií do výsevní rýhy při setí. Tato technologie je založena na principu aplikačních trysek. Semeno je uloženo

do rýhy a následně je na něj nastříknut kapalný inokulant. Tato metoda se využívá zejména v precizním zemědělství (Erker & Brick, 2014).

Moření osiv je operace, která má podpořit tvorbu výnosu a ochránit rostliny. K tomuto účelu je možné používat chemické látky (fungicidy, insekticidy a jiné pesticidy) nebo látky biologické (bakterie mléčného kvašení, mykoparazitické houby, ...). V dnešní době je velký tlak na snižování chemických vstupů při pěstování plodin, proto roste podpora biologických přípravků (Rocha et al. 2019). Chemické přípravky totiž svým složením a zaměřením i na necílové organismy dlouhodobě poškozují nejen zdraví lidí, ale i životní prostředí. Konzumace chemicky ošetřených potravin, při nedodržení ochranných lhůt, způsobuje poškození organismu (rozvoj nemocí). V neposlední řadě je necílovost chemických přípravků zodpovědná i za poškozování mikrobiomu v okolí kořenů námi pěstovaných plodin. To má za následek horší příjem živin rostlinou a tedy i snížení výnosu. Biologické přípravky jsou založeny na bázi bakterií, mykoparazitických hub, výtažku z rostlin nebo řas. Tyto látky jsou v životním prostředí běžně přítomné a pouze jejich zacílení a zvýšená koncentrace na konkrétní místo poskytuje rostlinám ochranu před škůdci nebo chorobami, a zároveň nepoškozují houbové endofyty, které pomáhají rostlinám s osvojením živin (Lamichhane et al. 2022).

3.7 Biologické látky v rostlinné produkci

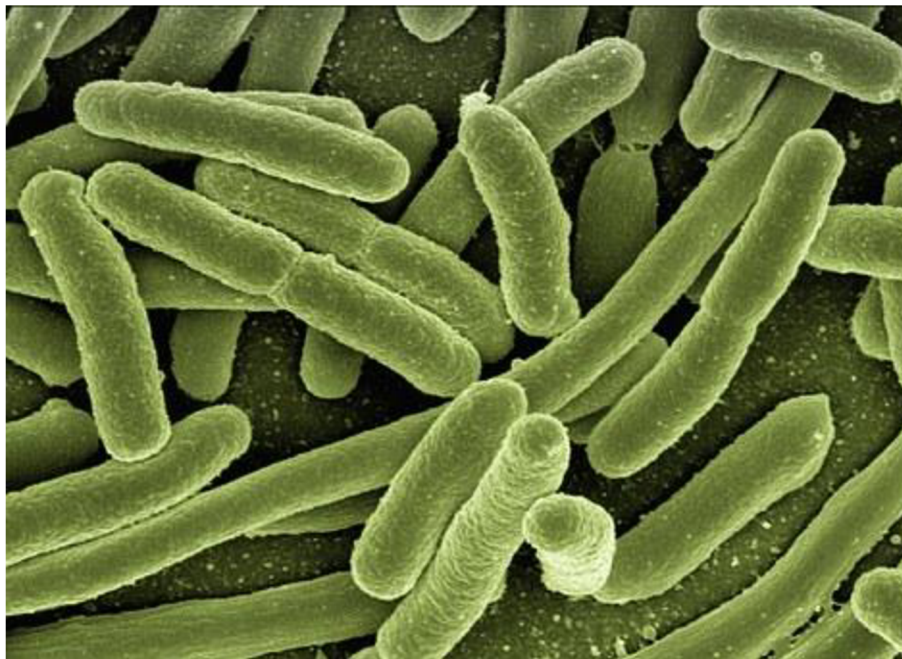
Rostlinám prospěšné látky, jako bakterie mléčného kvašení, rhizobia, mykorhizní houby nebo trichoderma, podporují přístupnost živin, zvyšují výnos a potlačují negativní efekty biotických a abiotických stresů (Rocha et al. 2019). Globální změny klimatu a extrémní teploty významně ovlivňují produkci plodin a zemědělské škůdce. Změna klimatu může zvýhodnit populace hmyzu a škůdců a prodloužit jejich životnost i míru přežití. Škůdci a hmyz však způsobují vážné ekonomické škody na mnoha plodinách a ovocných stromech. Agrochemický průmysl proto celosvětově vyrábí řadu insekticidů a pesticidů. Organofosfát je chemický pesticid, který způsobuje akutní otravu u lidí a zvířat. Vědci a agrofarmářský průmysl proto hledají alternativní nástroje, jak zabránit zemědělským škůdcům. Biopesticidy jsou alternativou ke konvenčním chemickým pesticidům a jsou šetrné k životnímu prostředí a cíleně specifické (Karami-Mohajeri et al. 2017).

3.7.1 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou všudypřítomné mikroorganismy, které mohou být prospěšné v rostlinné i živočišné výrobě. S jejich dlouhou historií použití při konzervaci

potravin mnoha světovými kulturami, BMK jsou obecně uznávané jako bezpečné pro lidskou spotřebu, produkující kyselinu mléčnou jako fermentační metabolit. Tyto mikroorganismy prodlužují skladování, zachovávají nutriční hodnotu, a zvýrazňují chuť jinak rychle se kazících potravin (Ikeda et al. 2013). *Lactobacillus* je všudypřítomný na rostlinách a rychle se množí při poškození rostlinných tkání a uvolnění buněčného obsahu bohatého na sacharidy. Snadná kultivace divokých laktobacilů bez použití laboratorního vybavení nebo mikrobiologické expertizy, ve spojení s jeho schopností zachovat, a dokonce zlepšit nutriční kvalitu a chuť potravin, přispěly k širokému využití těchto mikrobů ze strany zemědělců a široké veřejnosti. Bakterie mléčného kvašení, a zejména *Lactobacillus*, jsou označovány za nepostradatelnou součást udržitelného zemědělství – hubí škůdce, upravuje půdu a stimuluje růst rostlin (Katz, 2012).

Obrázek 1: *Bacillus* spp.



Zdroj: IPA

Rostliny interagují s velkým množstvím mikroorganismů a je na každé rostlině, aby podporovala jí prospěšné mikroorganismy a zároveň potlačovala patogeny. Bakterie mléčného kvašení se vyskytují kromě půdy (kořenů) i na listech. Pokud se bakterie vyskytují mimo půdu, jsou vystavené zejména stresu suchem nebo při srážkách přebytku vody, dále nedostatku živin i ultrafialovému záření. BMK jsou schopné fungovat s rostlinou i jako endofyt a bylo zjištěno, že se nachází nejen v zelených částech rostlin, ale i v semenech. Fakt, že bakterie mléčného kvašení byly nalezeny i uvnitř semen, dal základ myšlence, že vztah rostlina a BMK je v zásadě prospěšný (Lamont et al. 2017).

Kmeny BMK podporují zdraví půdy a úrodnost. Proto jim byla věnována velká pozornost, pokud jde o udržitelné nebo regenerativní zemědělství. Metabolity BMK podporují růst rostlin a stimulují růst výhonků a kořenů. U využití hnojiv mohou BMK podporovat biodegradaci, zvyšovat obsah organických látek v půdě, produkovat organické kyseliny a jiné metabolity – bakteriociny. BMK však vykazují antagonistický účinek proti fytopatogenům, inhibují populace hub a bakterií v rhizosféře a fylosféře. Kromě efektů na rostlinu jsou BMK používány i při bioremediaci po kontaminaci toxickými látkami a těžkými kovy (Raman et al. 2022).

Kmeny BMK vytvářejí různé třídy chemických sloučenin. Mezi nimi je nejlépe prozkoumaná skupina bakteriocinů. Bakteriociny jsou toxické pro mikroby, jsou to peptidy nebo proteiny syntetizované ribozomy, které inhibují růst a reprodukci různých bakterií tím, že mohou inhibovat syntézu nukleových kyselin a proteinů. Bakteriociny původu vykazují antibakteriální, antimykotické, antimykoplazmové a antivirové vlastnosti. Biosurfaktanty způsobují poškození membrány u patogenů, vytvářejí póry na lipidových membránách a narušují poréznost a integritu membrány. Biosurfaktanty navíc oddělují mikrobiální buňky z povrchů, což zabraňuje kolonizaci prostředí. Kromě bakteriálních a houbových patogenů mohou BMK regulovat i hmyzí škůdce (Raman et al. 2022).

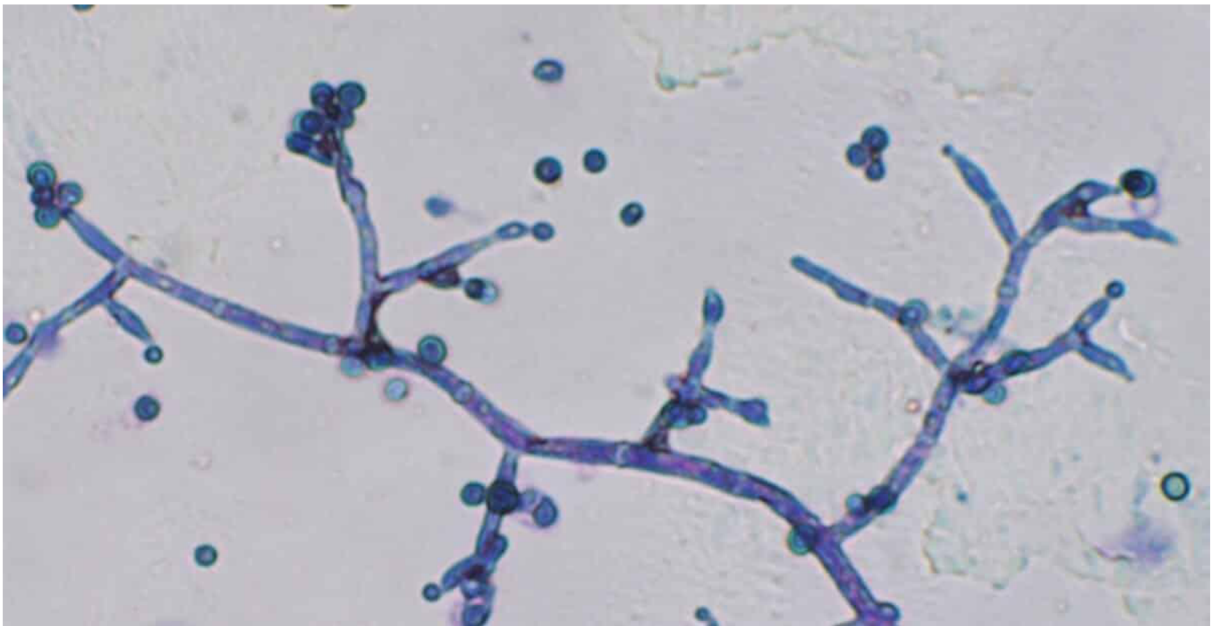
Je dobře známo, že některé bakterie mléčného kvašení produkují metabolity, které inhibují růst hub a jiných druhů bakterií. Organické kyseliny, jako je kyselina mléčná a kyselina octová, produkované bakteriemi mléčného kvašení, jsou důležitými antimikrobiálními sloučeninami a uvádí se, že mají i antifungální aktivitu. Výzkumy zjistily, že aktivita sloučenin produkovaných *Lactobacillus brevis* produkuje organické kyseliny a proteinové sloučeniny, které jsou účinné proti *Fusarium*. Některé výzkumy uvádějí, že *Lactobacillus* může produkovat antifungální látky, jako je kyselina benzoová, methylhydantoin, mevalonolakton a mastné kyseliny s krátkým řetězcem (Wang et al. 2012).

3.7.2 Trichoderma (TVI)

Trichoderma je houba extrémně dobře přizpůsobená různým ekologickým podmínkám. Je to proto, že má pozoruhodně rozmanitý metabolismus schopný katabolizovat širokou škálu substrátů a také produkovat širokou škálu sekundárních metabolitů, z nichž nejvíce studovanými jsou peptaiboly, polyketidy, pyrony, terpeny a sloučeniny podobné diketopiperazinu. Genomy Trichoderma odhalily četné shluky genů pro tvorbu sekundárních metabolitů, i když je stále zapotřebí hlubší pochopení metabolických drah vedoucích k nim. Trichoderma a její metabolity hrají klíčovou roli v chemické obraně a komunikaci a některé

z nich prokázaly důležité antibiotické schopnosti v aplikacích biologické ochrany (Hermosa et al. 2014). Trichoderma je také dobrým přírodním dekompozitorem, který zvyšuje rychlost procesu rozkladu organických látek. Bylo potvrzeno, že významně zvyšuje rychlost rozkladu biologického materiálu ze 4 – 6 měsíců na 21 – 45 dní. Je známo, že buněčná stěna rostlin se skládá z celulózy a hemicelulózy, které jsou zodpovědné za její tuhost, pevnost a stabilitu. Obě tyto složky může Trichoderma štěpit díky své produkci enzymu degradujícího buněčnou stěnu (Zin & Badaluddin, 2020).

Obrázek 2: Trichoderma spp.



Zdroj: Agronomy

Druhy Trichoderma jsou široce uváděny jako stimulatory růstu rostlin. Tento znak je spíše izolovaný než druhově specifický, přičemž jednotlivé varianty vykazují různé stupně rostlinné specifčnosti. Zvýšená biomasa kořenů nebo výhonků je nejčastějším projevem podpory růstu. Jsou ale také hlášeny změny v morfologii a vývoji rostlin. Podpora růstu může být velmi variabilní kvůli několika omezujícím faktorům, jako jsou typy plodiny, pěstební podmínky a typ formulace. Trichoderma stimuluje růst ovlivněním rovnováhy hormonů, jako je IAA, kyselina giberelinová a etylen (Stewart & Hill, 2014).

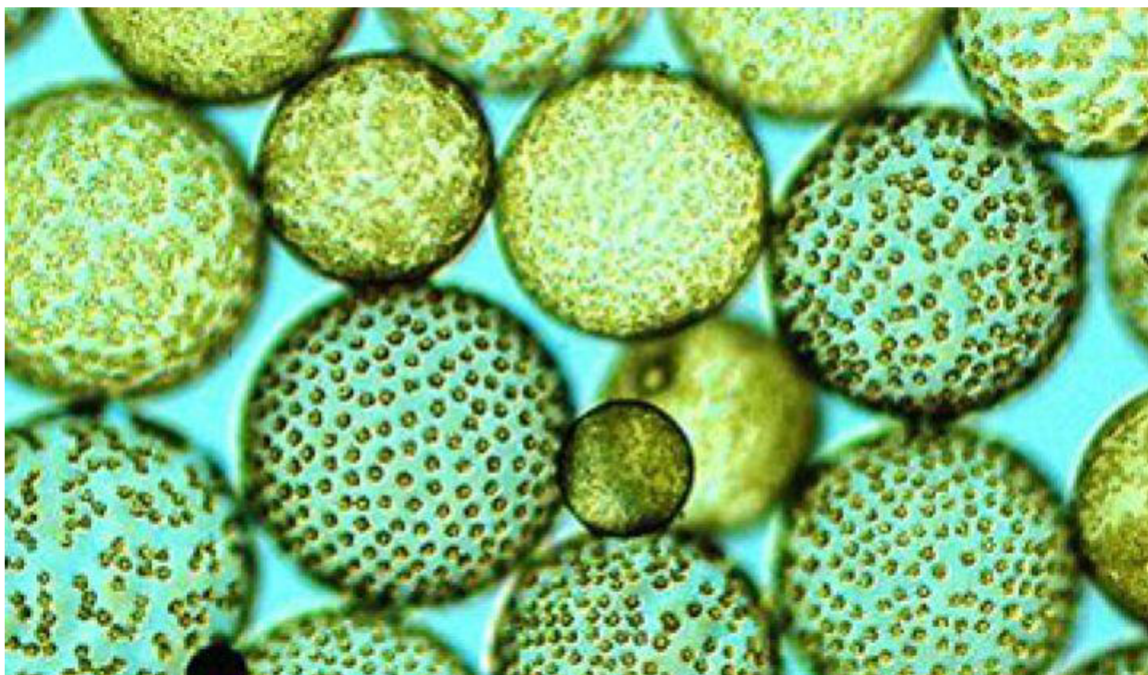
Trichoderma využívá přímého antagonismu a kompetice, zejména v rhizosféře, kde moduluje složení a interakce s jinými mikroorganismy. Při kolonizaci rostlin, na kořenech nebo jako endofyt, Trichoderma vyvinula schopnost komunikovat s rostlinou a produkovat četné mnohostranné výhody pro svého hostitele. Složitost tohoto spojení rostlina-mikroorganismus podnítila značný zájem o výzkum Trichodermie, od její schopnosti jako stimulatoru růstu rostlin až po její schopnost připravit systémové obranné reakce proti

biotickým a abiotickým stresům a aktivovat transkripční paměť ovlivňující reakce rostlin na budoucí stresy (Woo et al. 2022). Dále to jsou úspěšní antagonisté se schopnostmi biologické kontroly proti široké škále ekonomicky důležitých fytopatogenních hub, jako je *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Phythium*, *Fusarium*, *Sclerotinia* a *Galumannomyces*. *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* a *Trichoderma koningii* jsou hlavní druhy používanými v ochraně rostlin. Tyto druhy dosahují nepřímého účinku antagonismu na cílový patogen interakcí s hostitelskou tkání, indukci hostitelské rezistence, která chrání proti patogenu, podporou růstu rostlin a kořenů, jakož i zlepšením tolerance rostlin vůči stresu. Mnoho úspěšných látek biologické kontroly používá kombinaci různých způsobů účinku k vytvoření vyšší úrovně antagonismu, tedy i vyššího stupně biologické ochrany rostlin (Kubheka & Ziena, 2022).

3.7.3 Výtahy z rostlin a řas

Celkově je možné řasy považovat za mnohostranný organismus s všestranným metabolismem, který jim pomáhá prospívat v různých podmínkách a na různých typech substrátů. Mnoho druhů řas má komerční význam ve formě biopaliv, farmaceutického průmyslu a zařízení na zpracování odpadu. Pro levné a udržitelné pěstování těchto důležitých druhů řas lze použít různé odpadní materiály bohaté na organické látky a odpadní vody (Kumar & Bera, 2020).

Obrázek 3: Řasy



Zdroj: Cellana

Modrozelené řasy jsou populární biohnojiva kvůli jejich nesčetným výhodám pro agroekosystém. Sice nevykazují okamžité výsledky, ale vykazují kumulativní účinek po 3 – 4 letech. Hlavní výhodou řas je biologická fixace dusíku, také obohacují půdy o organickou hmotu a snižují poměr C:N. Další výhodou řas je zvýšená solubilizace imobilních fosfátů a produkce látek podporujících růst v půdě. Zlepšují fyzikální, chemickou a biologickou povahu půdy a jsou odpovědné za dlouhodobou úrodnost půdy (Aastha, 2018).

4 Metodika

V této kapitole jsou popsány jednotlivé zkoušky, kterým bylo osivo podrobeno. Všechny testy vychází z certifikované metodiky ÚKZÚZ.

4.1 Test konduktivity

Test konduktivity (test vodivosti) je zkouška, pomocí které se měří množství iontů, které bylo uvolněno z osiva do vody za určitý čas. Jedná se o test nepřímý, protože nepřímo zkoumáme vitalitu osiva bez přímého vzcházení. Obecný předpoklad je takový, že mezi uvolněním iontů a vitalitou osiva existuje negativní korelace, to znamená, že vyšší vodivost (více uvolněných iontů) značí horší vitalitu daných semen. Nejčastěji se test konduktivity používá u semen sóji luštinaté, fazolu nebo hrachu. V rámci mé diplomové práce byl zařazen i test pro lupinu.

4.1.1 Průběh testu – konduktivita

Nejprve jsme si připravili kádinky, které je nutné mít čisté, bez usazenin a umyté destilovanou vodou. V rámci pokusu jsme měli 4 varianty pro každou plodinu a u každé jsme počítali se čtyřmi opakováními. Na stole jsme tedy měli 16 + 16 kádinek.

Do každé kádinky jsme napočítali 50 semen a zároveň zjistili jejich hmotnost. Poté jsme je přesunuli do kádinky a každou zalili 250 ml destilované vody. Takto připravené vzorky jsme přikryli filtračním papírem, abychom zamezili kontaminaci a nechali 24 hodin louhovat.

Po uplynutí 24 hodin jsme opatrně sundali filtrační papír a přistoupili k měření jednotlivých vzorků. Každou variantu je třeba zamíchat. My jsme přistoupili k formě, že každý vzorek byl přes sítko přecezen do čisté kádinky, čímž došlo k zamíchání a zároveň jsme zamezili kontaktu sondy se semeny. Po přefiltrování byl každý vzorek změřen konduktometrem. Sonda byla umístěna do filtrátu tak, aby byla vždy volně v látce a nedotýkala se kádinky. Poté jsme sledovali obrazovku konduktometru a po ustálení jsme odečetli výsledek.

Po každém měření byla sonda opláchnuta v kádince s destilovanou vodou, abychom zamezili zkreslení výsledků dalších měření. Kádinka s čistou vodou na oplach sondy byla měněna každých 10 měření, nebo když vzrostla její vlastní vodivost přes $5 \mu\text{S}/\text{cm} \times \text{g}$.

Naměřené hodnoty byly zaneseny do tabulky a výslednou hodnotu jsme získali výpočtem za použití následujícího vzorce:

$$\frac{\text{naměřená vodivost vzorku} - \text{vodivost pozadí}}{\text{hmotnost vzorku}}$$

Výsledná hodnota pro každou variantu byla spočítána jako průměr 4 opakování.

Obrázek 4: Test konduktivity



Zdroj: archiv vedoucího práce

4.2 Test urychleného stárnutí (TUS)

Testem urychleného stárnutí se rozumí krátkodobé vystavení semen vysoké vzdušné vlhkosti (cca. 95 %) a zejména vysoké teplotě (41 °C). Jedná se tedy o zkoušku vlivu životního prostředí, které je vytvořeno v laboratorních podmínkách. Teplota společně s vysokou vlhkostí způsobí rychlé stárnutí semen. Pro hodnocení výsledků platí, že semena, která si po testu zachovají větší klíčivost, mají lepší předpoklad pro klíčení i v běžných

polních podmínkách. Pro komplexnost celé zkoušky je vhodné kombinovat klíčivost semen po TUS s klíčivostí semen nevystavených stresu.

4.2.1 Průběh testu – TUS

Jelikož je test urychleného stárnutí předstupněm pro test laboratorní klíčivosti je nejprve nutné stanovit si hmotnost semen, která nám zaručí jejich dostatečný počet pro následující zkoušku. Tento problém byl vyřešen zvážením minimálního počtu semen a k této hmotnosti byla přidána dostatečná rezerva. Pro všechny varianty jsme se pohybovali v navážce od 30 – 40 g. Dle metodiky se standardně používá navážka 42 g, my jsme ale museli vycházet z potřeb ostatních plodin.

Po odvážení jednotlivých variant jsme si připravili misky, celkem tedy 16×4 , a do každé z misek vložili sítko na nožičkách. Na sítko jsme umístili odvážená semena a do misky pod sítko nalita voda (40 ml). Semena byla rozprostřena v jedné vrstvě a hladina vody se nedotýkala sítka.

Všechny misky byly následně opatřeny víčkem bez otvorů a poté byly vloženy do klimaboxu bez přístupu světla, který byl nastaven na zmiňovanou teplotu 41 °C a dále zde byly umístěny misky s vodou, pro zajištění dostatečné vlhkosti vzduchu. Celý proces trval 72 hodin.

4.3 Laboratorní klíčivost

Cílem obecného testu klíčivosti je zjistit, jakou schopnost vyklíčit má dané osivo za přesně daných podmínek. Tyto podmínky je potřeba nastavit tak, aby bylo možné je opakovat a zároveň, aby byly pro klíčení vhodné. Za vhodné podmínky pro laboratorní testy klíčivosti se považuje dostatečná vlhkost a teplota bez přístupu světelného záření. Pro náš pokus bylo hlavní zjistit, jak ovlivní klíčivost semen aplikace jednotlivých látek. Výsledek testu je poté zjištěný poměr mezi vyklíčenými a nevyklíčenými semeny.

4.3.1 Průběh testu – laboratorní klíčivost

Pro průběh laboratorního testu klíčivosti jsme použili jednak semena, která prošla pouze běžným skladovacím procesem, ale i semena po testu urychleného stárnutí TUS (vizte 4.2).

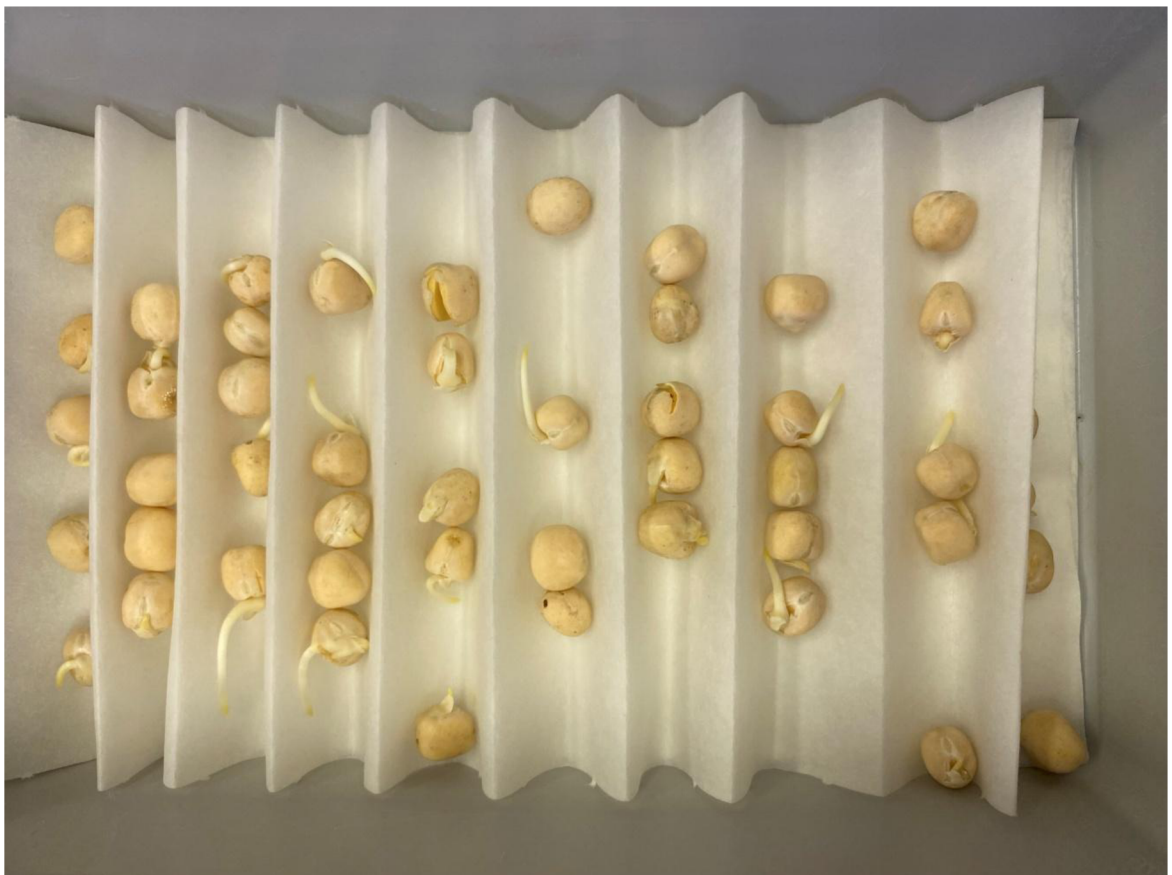
Pro každou plodinu a variantu bylo připraveno 8 misek, polovina byla pro semena po TUS a druhá polovina byla pro nestresovaná semena, každá varianta po čtyřech

opakováních. Do každé misky jsme na dno vložili filtrační papír, který odpovídal velikosti dna a na něj byl umístěný druhý, tentokrát skládaný filtrační papír. Vytvořené žlábkové úložky byly následně obsazeny v každé misce 50 semen, co nejvíce rovnoměrně a bez přímého kontaktu semen. Poté jsme podél stěny nalili do krabičky 30 ml vody a překryta víčky s otvory.

Krabičky jsme dále umístili do klimaboxu při 20 °C, bez přístupu světla a na volné místo jsme vložili krabičky s vodou pro udržení vysoké relativní vzdušné vlhkosti. Vyhodnocování klíčivosti probíhalo ve 3., 5. a 8. dni od zahájení pokusu. Správně vyklíčená semena byla určována dle metodiky ÚKZÚZ a po odečtení počtu byla z misek odstraněna. Osmý den byl považován za ukončení testu.

Výsledné počty sledované v určitých dnech byly zaneseny do tabulky a výsledná hodnota pro každou variantu vznikla aritmetickým průměrem 4 opakování.

Obrázek 5: Laboratorní klíčivost semen (semena hrachu setého)



Zdroj: archiv vedoucího práce

4.3.2 Energie klíčení

Doplňkovým testem k laboratorní klíčivosti byl test energie klíčení. Jedná se o pozorování, kdy zaznamenáme počet vyklíčených semen už při první kontrole, v našem

pokusu to bylo třetí den, a zjistíme podíl vyklíčených rostli ku celkovému počtu semen na misce. Kromě samotné klíčivosti bývá zkouška energie klíčení dobrým ukazatelem vitality osiva – tedy i jeho kvality. Energie klíčení nám udává, jaká je v daném osivu dosažena uniformita, což ovlivňuje porosty v době vzcházení. Pokud je osivo uniformní, vzcházení bude rovnoměrnější.

4.4 Laboratorní vzcházivost

Testování vzcházivosti lze zkoušet v polních (polní vzcházivost) a laboratorních podmínkách (laboratorní vzcházivost). Zkoušky jsou podobné a vyhodnocení probíhá stejně, tak že se zjišťuje procento vzešlých rostlin z celkového počtu. V polních podmínkách jsou však semena vystavena stresu (sucho, půdní mikroorganismy, ...). Laboratorní vzcházivost se zakládá na vzcházivosti z inertního materiálu, půdní stresové podmínky jsou odbourány a vlivy sledovaného moření biologickými látkami jsou snadněji pozorovatelné.

Obrázek 6: Test laboratorní vzcházivosti (rostliny lupiny bílé)



Zdroj: archiv autora

4.4.1 Průběh testu – laboratorní vzcházivost

Pro samotný test bylo potřeba připravit plastové misky, pro každou variantu 4 opakování, dohromady 48 misek. Dalším krokem bylo nasypání 240 g křemičitého písku do každé misky.

Písek se v misce rovnoměrně rozprostřel a poté se jamkovačem vmáčklo do každé misky 50 jamek, do kterých jsme umístili semena. Dalším krokem bylo zasypání semen křemičitým pískem (480 g) tak, aby byla všechna semena zakrytá.

V poslední řadě jsme do misky nalili 40 ml vody a víčkem zavřené misky byly umístěny jednotlivě do klimaboxů. V průběhu testu bylo nutné rostliny zalévat v pravidelných intervalech. Test probíhal v období od 16.11. – 30.11. 2022 a průběžné vyhodnocení bylo provedeno 2. den, 5. den a 10. den testu. Každý kontrolní den bylo spočteno množství vzešlých rostlin, které ovšem nebyly vyřazené. Desátý den byl považován za ukončení testu.

4.5 Produkce biomasy

Kromě testů, které byly zaměřené na schopnost klíčení a vzcházení osiva, bylo do pokusu zařazeno i vyhodnocení vlivu biologických látek na počáteční růstové fáze jednotlivých plodin. Tento efekt byl zkoumán na tvorbě biomasy jednotlivými rostlinami. Test spočívá ve stanovení sušiny nadzemní a kořenové biomasy, kterou rostliny vyprodukují během testu laboratorní vzcházivosti.

Po skončení testu laboratorní vzcházivosti jsme z misek opatrně vyjmuli rostliny a pod tekoucí vodou jsme je opatrně zbavili křemičitého písku. Oplach je nutné provádět pečlivě, abychom odstranili všechnen písek a zároveň nepoškodili kořenový systém. Následně se oddělila nadzemní a kořenová biomasa a každá zvlášť byla vložena do papírového pytlíku a ten vložen do sušárny na 48 hodin. Po uplynutí doby sušení došlo ke zvážení a zanesení výsledků do tabulky. Výsledné hmotnosti byly nadále přepočítány a výsledná hodnota byla stanovena jako hmotnost biomasy (nadzemní nebo podzemní) na 1 rostlinu.

4.6 Statistické hodnocení

Statistické hodnocení jednotlivých testů bylo prováděno v programu STATISTICA. V rámci experimentu byl zvolen statistický test jednofaktorová ANOVA s hladinou významnosti 5 % (0,05).

5 Výsledky

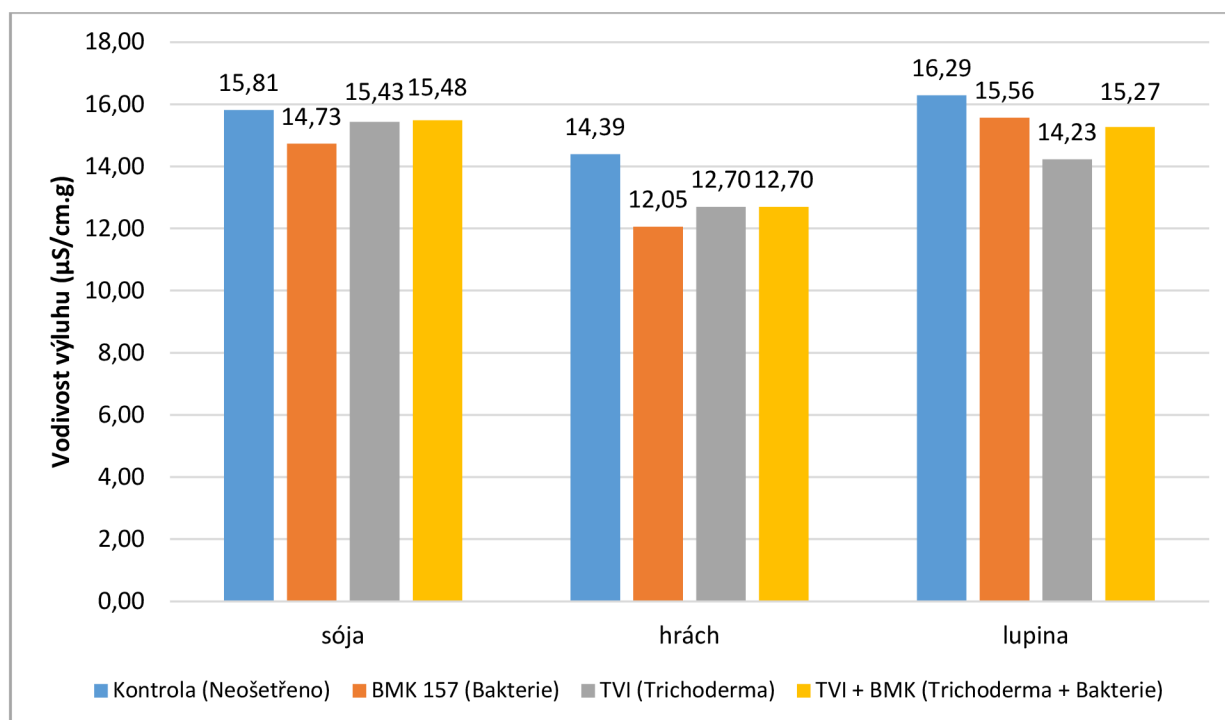
V následující kapitole se zaměříme na vyhodnocení provedených testů z kapitoly metodika.

5.1 Test konduktivity

V grafu 1 jsou zaznamenány výsledky testu konduktivity. Výsledná vodivost se u sóji pohybovala v intervalu 14,73 – 15,81 $\mu\text{S}/\text{cm}\times\text{g}$ a nejvyšší hodnota byla zaznamenána u varianty „kontrola“. Vodivost hrachu byla v intervalu 12,05 – 14,39 $\mu\text{S}/\text{cm}\times\text{g}$ a nejvyšší hodnota byla neměřena u kontroly. Lupina se pohybovala v intervalu 14,23 – 16,29 $\mu\text{S}/\text{cm}\times\text{g}$ a nejvyšší hodnota byla u varianty „kontrola“.

Z výsledků znázorněných v grafu 1 je možné usuzovat, že moření biologickými látkami má pozitivní vliv na vitalitu osiva, jelikož mezi množstvím uvolněných iontů existuje negativní korelace a kontrolní neošetřené varianty dosahují nejvyšších hodnot.

Graf 2 – Test konduktivity



5.1.1 Statistické hodnocení – konduktivita

Tabulka 1 – Konduktivita sója

kontrola		0,293074	0,939933	0,912315
BMK 157 (Bakterie)	0,293074		0,582292	0,632556
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,939933	0,582292		0,999776
TVI (Trichoderma)	0,912315	0,632556	0,999776	

Tabulka 2 – Konduktivita hrách

kontrola		0,001275	0,012705	0,001102
BMK 157 (Bakterie)	0,001275		0,505912	0,999564
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,012705	0,505912		0,447105
TVI (Trichoderma)	0,001102	0,999564	0,447105	

Tabulka 3 – Konduktivita lupina

kontrola		0,870612	0,711130	0,187752
BMK 157 (Bakterie)	0,870612		0,988845	0,518912
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,711130	0,988845		0,700223
TVI (Trichoderma)	0,187752	0,518912	0,700223	

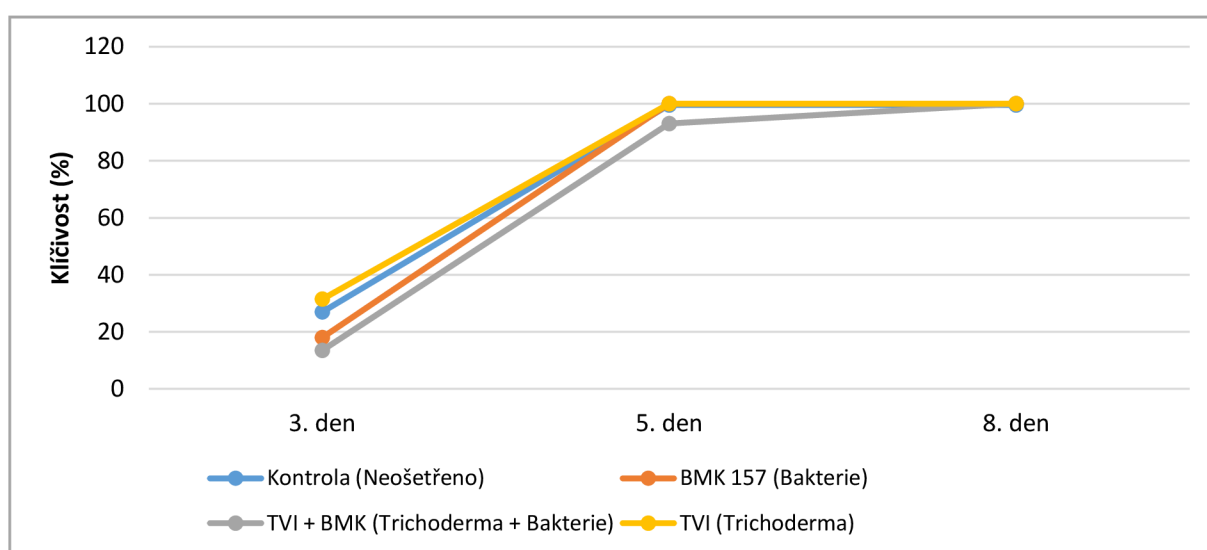
Dle statistického šetření je možné usoudit, že u sóji a u lupiny nevykazovala žádná z dvojic statisticky významné rozdíly. Výsedky hrachu ukazují, že naměřené hodnoty u kontroly (neošetřené osivo) jsou statisticky významné oproti ostatním třem variantám. Vzhledem k faktu, že mezi množstvím uvolněných iontů a potenciální vitalitou osiva existuje negativní korelace, vyplynulo tedy, že u hrachu mají biologická ošetření pozitivní vliv na vitalitu.

5.2 Laboratorní klíčivost

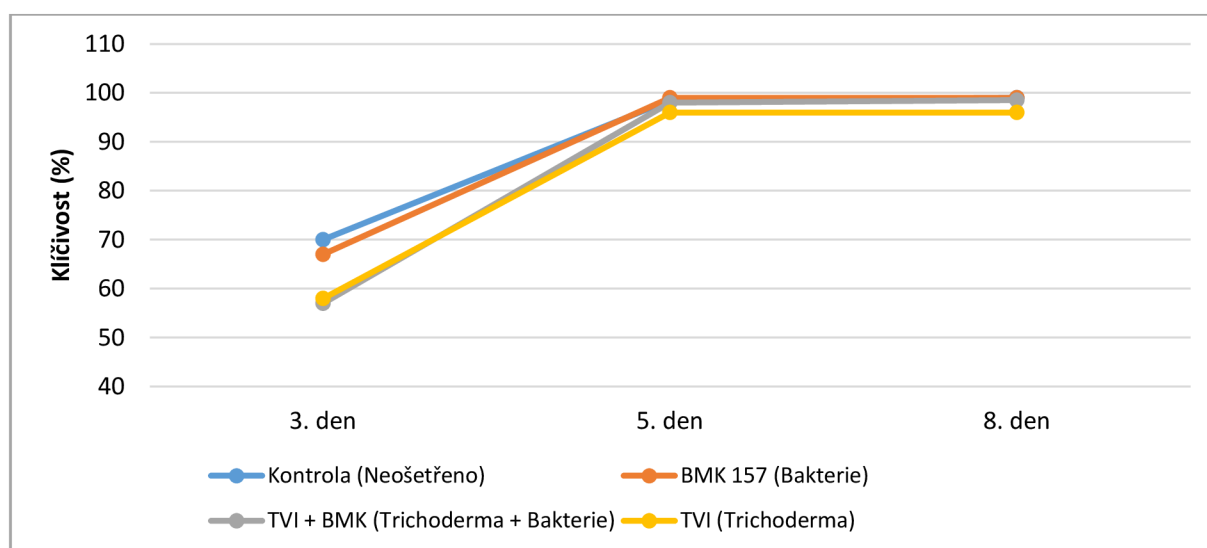
Výsledky laboratorní klíčivosti jsou zaznamenány v následujících grafech. Grafy jsou tříděné podle plodiny a vždy je na prvním místě výsledek klíčivosti bez TUS.

V grafu 2 a 3 můžeme vidět výsledky klíčivosti sóji. Výsledná klíčivost se u varianty bez stresu pohybovala kolem 100 %. Výsledky u stresované varianty nabídly větší variabilitu. Semena ošetřená TVI (Trichoderma) měla nejnižší klíčivost (96 %), oproti ostatním variantám, které dosahovaly 98,5 – 100 %.

Graf 3: Klíčivost sóji

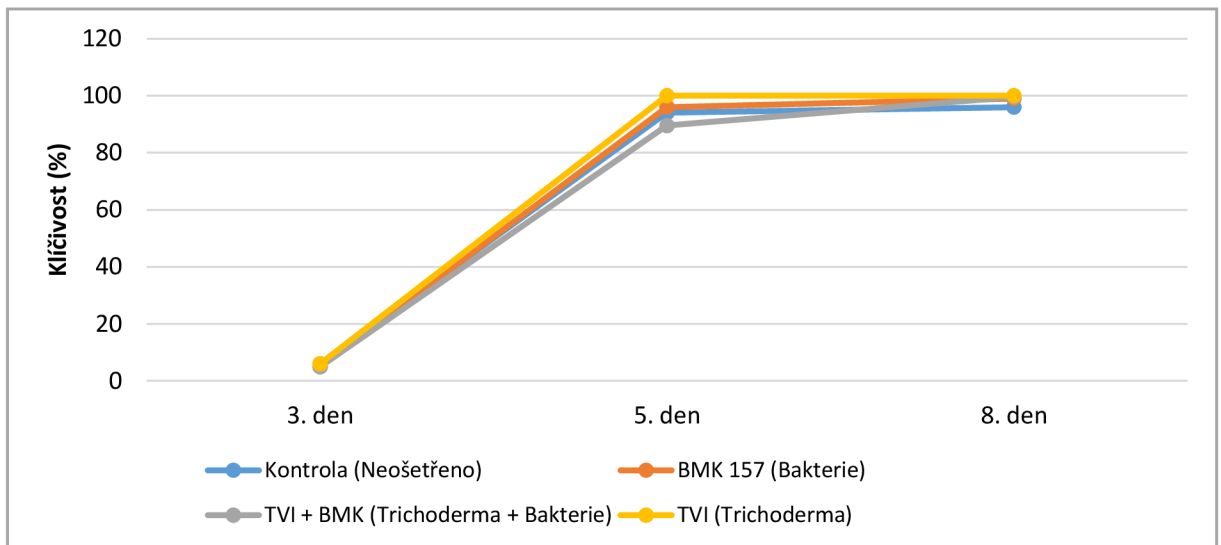


Graf 4: Klíčivost sóji po TUS

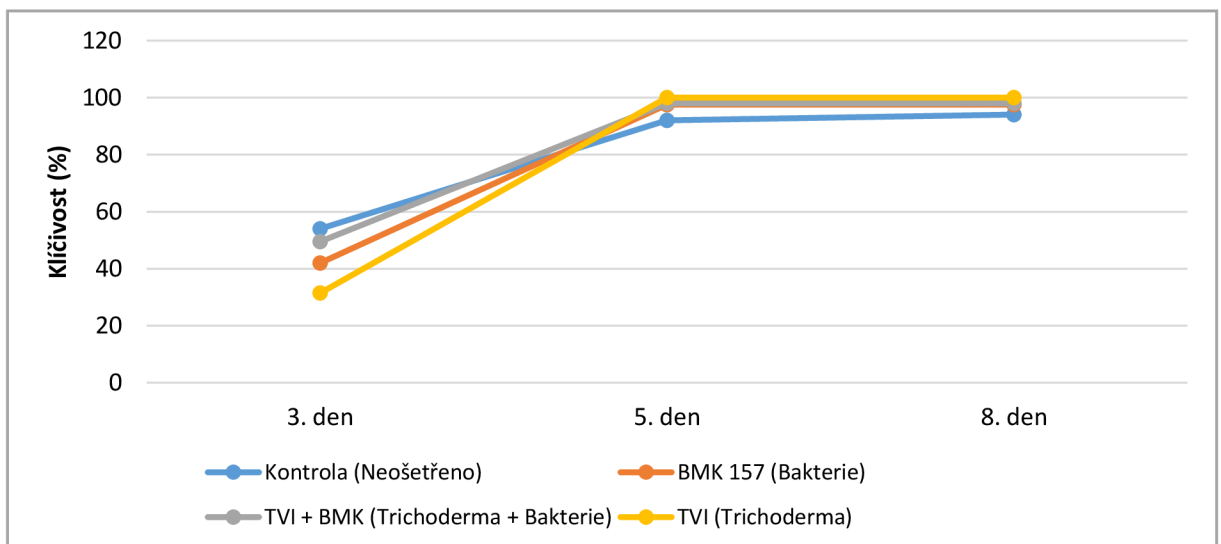


Laboratorní klíčení hrachu je zaznamenáno na následujících grafech. Hrách bez TUS vykazoval mírně lepší výsledky na mořených variantách (99 – 100%) oproti kontrole, která měla nejmenší klíčivost (96 %). Podobné výsledky byly zaznamenány i u variant po TUS. „Kontrola (neošetřeno)“ vykazovala nižší výsledek klíčivosti (94 %) než ošetřené varianty (97,5 – 100 %).

Graf 5 – Klíčivost hrachu

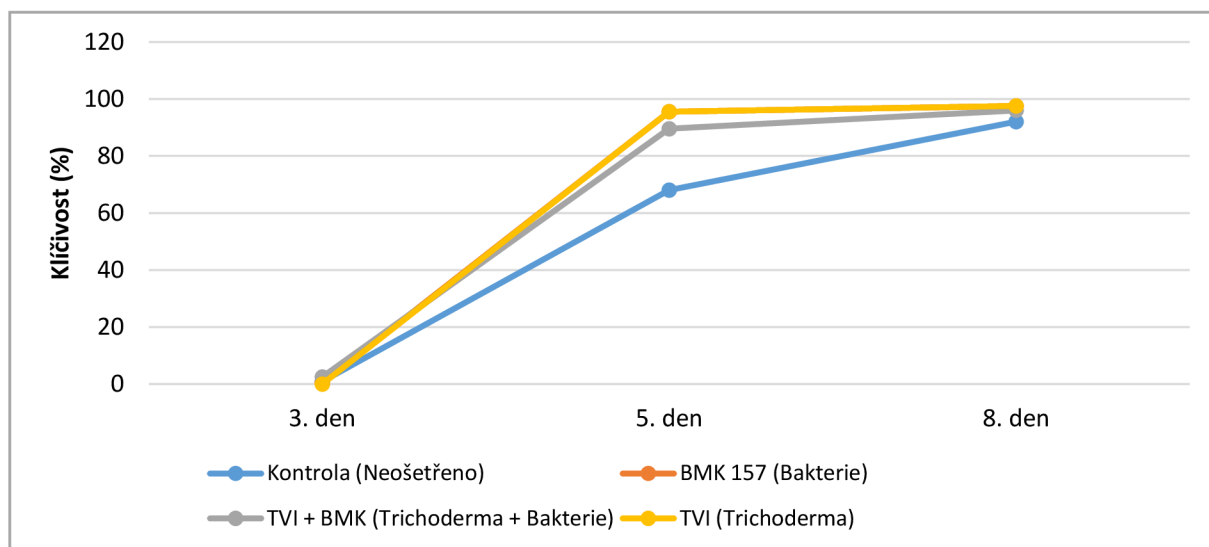


Graf 6 – Klíčivost hrachu po TUS

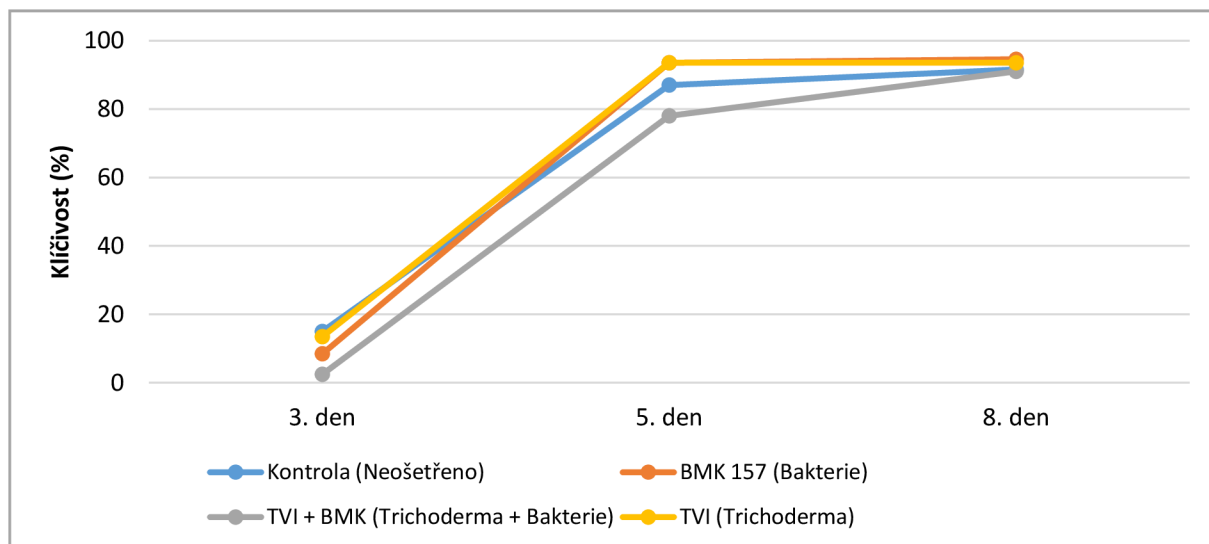


V dalších grafech je zaznamenán výsledek testu klíčivosti u lupiny. U nestresovaných variant vyšla s nejnižší klíčivostí neošetřená kontrola (92 %). Ošetřené varianty měly podobné výsledky (96 – 97 %). Varianty stresované měly podobné výsledky. Nebylo možné mezi nimi najít nějaký významnější rozdíl.

Graf 7 – Klíčivost lupiny

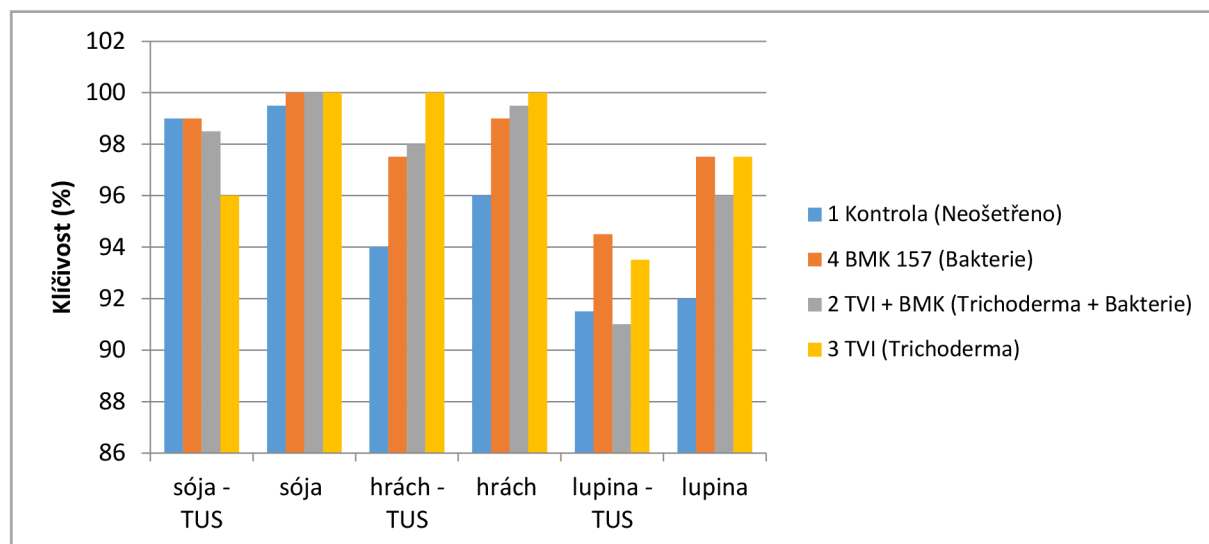


Graf 8 – Klíčivost lupiny po TUS



V následujícím grafu je zaznamenána výsledná klíčivost dle plodin. Z grafu je patrné, že stresované varianty dosahovaly obecně nižší klíčivosti. Kromě sóji, kde u osiva TUS byla nejhorší varianta TVI (Trichoderma), dosahovaly nejhorších výsledků klíčivosti neošetřené kontroly.

Graf 9 - Výsledná klíčivost



5.2.1 Statistické hodnocení – laboratorní klíčivost

Tabulka 4 – Klíčivost sója

Soja kontrola		0,514714	0,514714	0,514714
BMK 157 (Bakterie)	0,514714		1,000000	1,000000
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,514714	1,000000		1,000000
TVI (Trichoderma)	0,514714	1,000000	1,000000	

Tabulka 5 – Klíčivost sója po TUS

Soja TUS kontrola		1,000000	0,879791	0,004065
BMK 157 (Bakterie)	1,000000		0,879791	0,004065
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,879791	0,879791		0,014230
TVI (Trichoderma)	0,004065	0,004065	0,014230	

U nestresovaného osiva sóji nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly mezi ošetřeními. Statisticky významné rozdíly ovšem byly nalezeny u osiva, které prošlo TUS. Ošetření TVI (Trichoderma) se ukázalo prokazatelně negativně ovlivňující klíčivost oproti ostatním variantám.

Tabulka 6 – Klíčivost hrách

Hrách kontrola		0,011929	0,004092	0,001535
BMK 157 (Bakterie)	0,011929		0,919644	0,600559
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,004092	0,919644		0,919644
TVI (Trichoderma)	0,001535	0,600559	0,919644	

Tabulka 7 – Klíčivost hrách po TUS

Hrách TUS kontrola		0,056553	0,027601	0,001753
BMK 157 (Bakterie)	0,056553		0,975076	0,217459
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,027601	0,975076		0,386477
TVI (Trichoderma)	0,001753	0,217459	0,386477	

U hrachu byly nalezeny statisticky významné rozdíly v obou skupinách osiva. Nestresovaná varianta neošetřeného osiva (kontrola) měla prokazatelně horší výsledky klíčivosti, než ošetřené varianty. U osiva po TUS byly nalezeny prokazatelné rozdíly mezi kontrolou a TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie) a zároveň TVI (Trichoderma).

Tabulka 8 – Klíčivost lupina

Lupina kontrola		0,162282	0,392240	0,162282
BMK 157 (Bakterie)	0,162282		0,924873	1,000000
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,392240	0,924873		0,924873
TVI (Trichoderma)	0,162282	1,000000	0,924873	

Tabulka 9 – Klíčivost lupina po TUS

Lupina TUS kontrola		0,825702	0,998952	0,938508
BMK 157 (Bakterie)	0,825702		0,751458	0,991471
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,998952	0,751458		0,889118
TVI (Trichoderma)	0,938508	0,991471	0,889118	

U osiva lupiny nebyl prokázán žádný negativní, ani pozitivní vliv na klíčivost napříč všemi stresovanými i nestresovanými variantami.

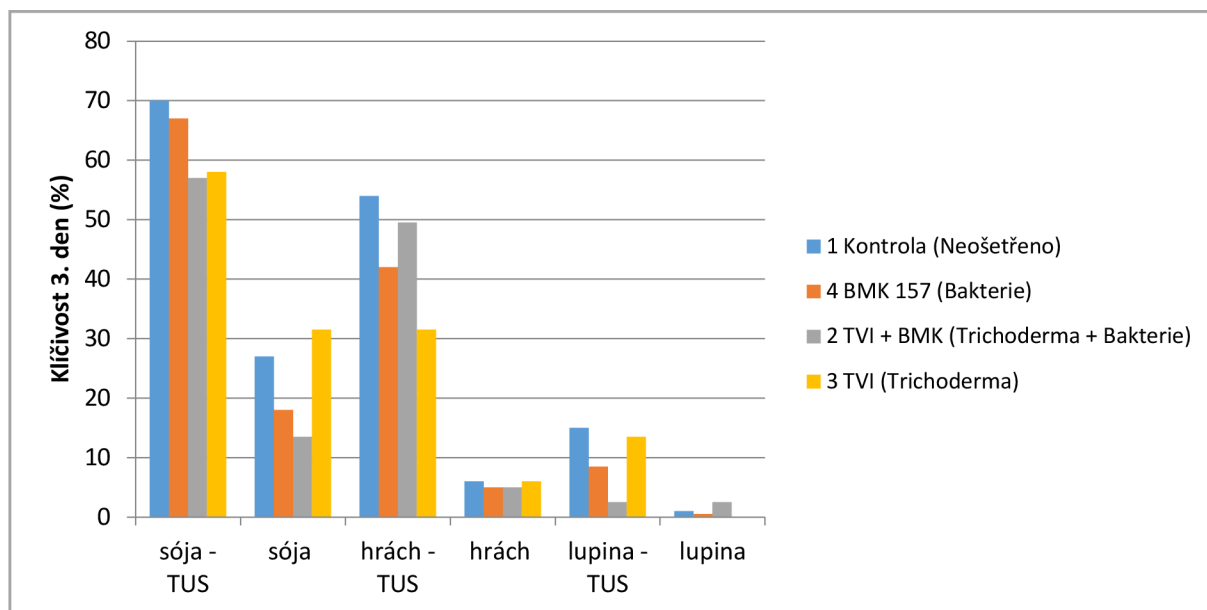
5.2.2 Energie klíčení

Graf energie klíčení kopíroval charakteristiky rychlosti jednotlivých podin, takže sója měla v testech vždy rychlejší klíčení než hrách a lupina. Při testu TUS došlo k iniciaci procesů klíčení, což způsobilo, že varianty po TUS měly vyšší energii než běžně skladované, nestresované varianty osiva (graf 8). K vyrovnání variant po TUS a bez TUS došlo až při ukončení testu (8. den).

U stresovaných variant sóji, hrachu i lupiny dosahovala nejvyšších hodnot neošetřená kontrola. U sóji a lupiny byla kontrola následována ošetřením TVI (Trichoderma), u hrachu byla na druhém místě varianta ošetřená kombinací BMK + TVI. U nestresovaných variant

byla situace mnohem méně jasná. U sóji vykazovala nejlepší výsledky varianta TVI, hrách měl jednotlivé varianty téměř shodné a lupina měla velmi nízkou klíčivost obecně.

Graf 10 – Energie klíčení



5.2.2.1 Statistické hodnocení – energie klíčení

Tabulka 10 – Energie klíčení sója

Soja kontrola		0,523597	0,208664	0,895480
BMK 157 (Bakterie)	0,523597		0,895480	0,208664
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,208664	0,895480		0,067235
TVI (Trichoderma)	0,895480	0,208664	0,067235	

Tabulka 11 – Energie klíčení sója po TUS

Sója TUS kontrola		0,965023	0,233605	0,291959
BMK 157 (Bakterie)	0,965023		0,437714	0,522800
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,233605	0,437714		0,998640
TVI (Trichoderma)	0,291959	0,522800	0,998640	

Tabulka 12 – Energie klíčení hrách

Hrách kontrola		0,982050	0,982050	1,000000
BMK 157 (Bakterie)	0,982050		1,000000	0,982050
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,982050	1,000000		0,982050
TVI (Trichoderma)	1,000000	0,982050	0,982050	

Tabulka 13 – Energie klíčení hrách po TUS

Hrách TUS kontrola		0,742427	0,980246	0,275043
BMK 157 (Bakterie)	0,742427		0,918327	0,809771
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,980246	0,918327		0,452658
TVI (Trichoderma)	0,275043	0,809771	0,452658	

Tabulka 14 – Energie klíčení lupina

Lupina kontrola		0,980810	0,676837	0,872520
BMK 157 (Bakterie)	0,980810		0,460878	0,980810
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,676837	0,460878		0,282586
TVI (Trichoderma)	0,872520	0,980810	0,282586	

Tabulka 15 – Energie klíčení lupina po TUS

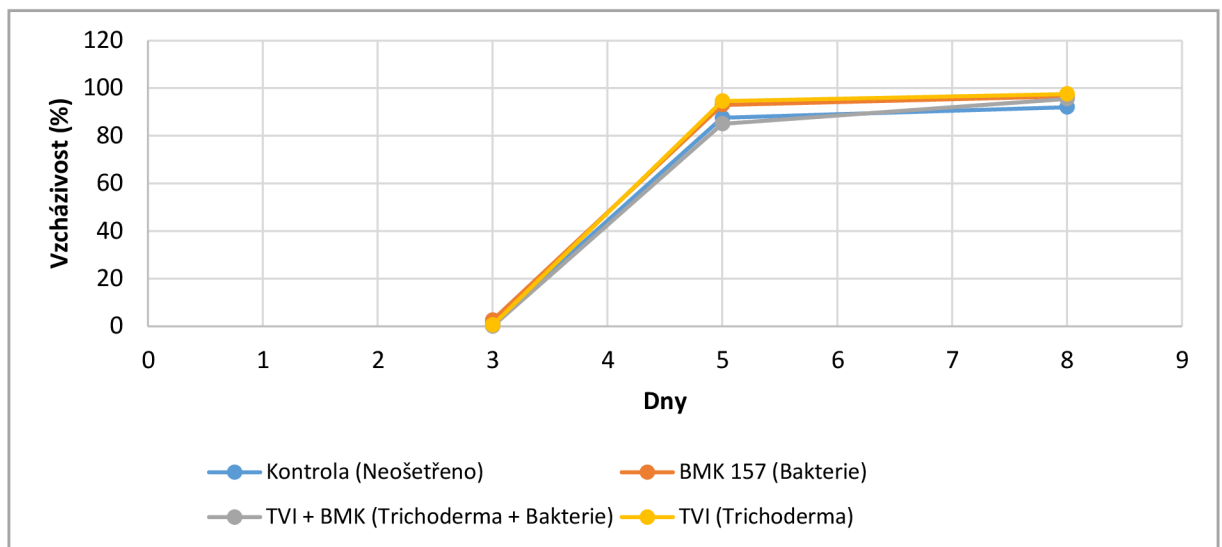
Lupina TUS kontrola		0,766527	0,289347	0,995837
BMK 157 (Bakterie)	0,766527		0,805659	0,875366
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,289347	0,805659		0,390390
TVI (Trichoderma)	0,995837	0,875366	0,390390	

Statistické hodnocení energie klíčení u jednotlivých plodin ukázalo, že ošetření osiva nemá žádné statisticky významné rozdíly na energii klíčení jednotlivých plodin.

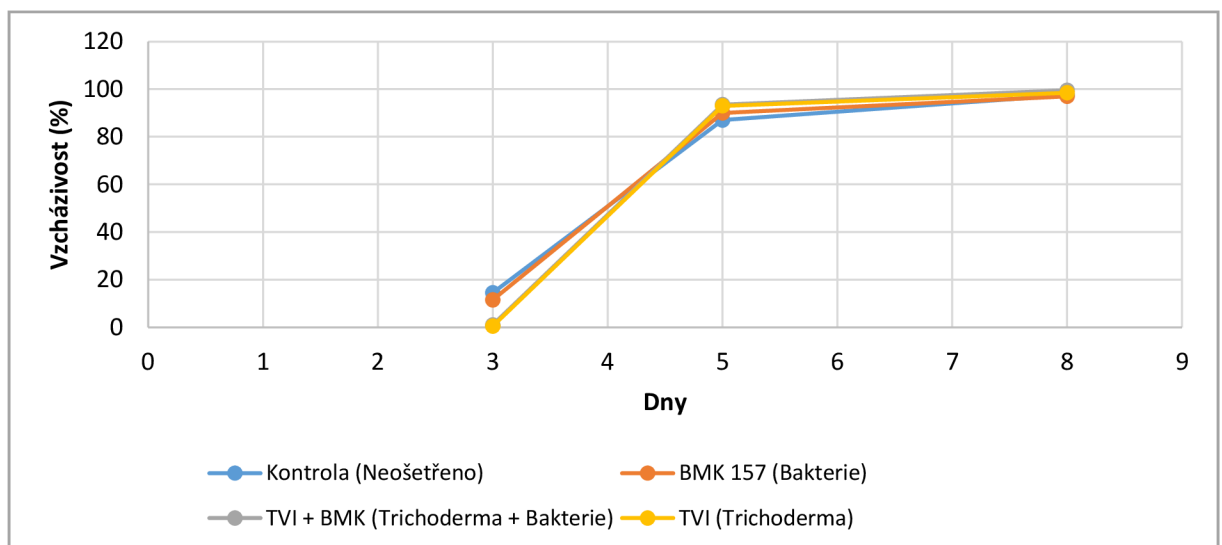
5.3 Laboratorní vzcházivost

Test laboratorní vzcházivosti vyšel pro všechny plodiny velmi podobně. Ani u jedné plodiny nedošlo k výrazným odchýlkám a výsledné grafy mají podobný průběh. U lupiny byla při kontrole 5. den zaznamenána lepší výsledná hodnota u varianty BMK 157 (bakterie). U hrachu si můžeme všimnout, že při první kontrole měla varianta ošetřena TVI mírně horší výsledky v počtu vzešlých rostlin.

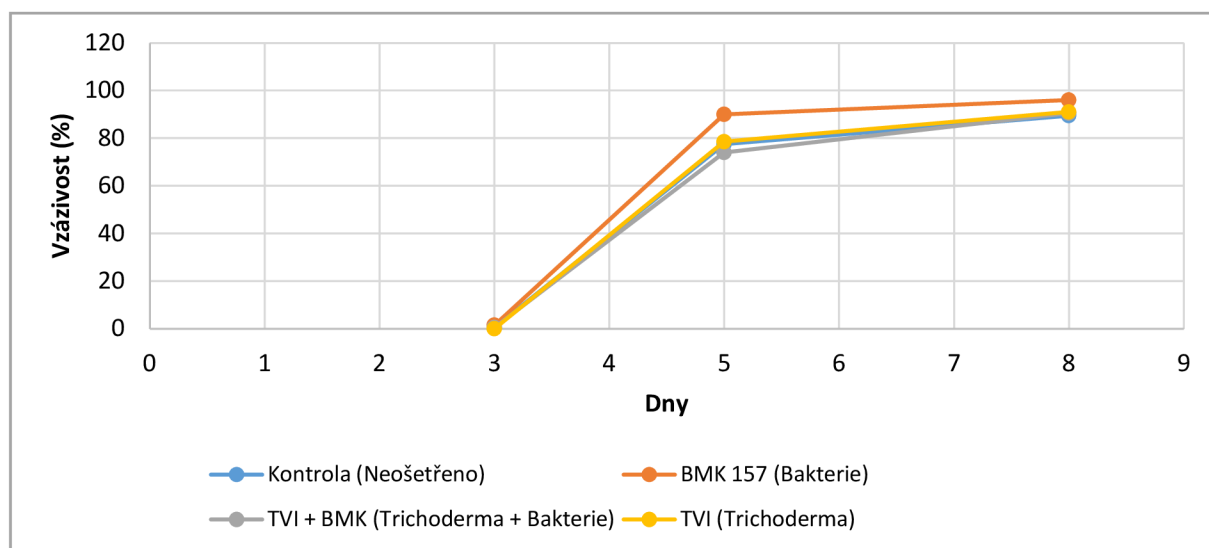
Graf 11 – Vzcházivost sóji



Graf 12 – Vzcházivost hrachu



Graf 13 – Vzcházivost lupiny



5.3.1 Statistické hodnocení – laboratorní vzcházivost

Tabulka 16 – Vzcházivost sója

Sója kontrola		0,347888	0,550493	0,200680
BMK 157 (Bakterie)	0,347888		0,979603	0,979603
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,550493	0,979603		0,865525
TVI (Trichoderma)	0,200680	0,979603	0,865525	

Tabulka 17 – Vzcházivost hrách

Hrách kontrola		0,988842	0,606633	0,921387
BMK 157 (Bakterie)	0,988842		0,431077	0,784085
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,606633	0,431077		0,921387
TVI (Trichoderma)	0,921387	0,784085	0,921387	

Tabulka 18 – Vzcházivost lupina

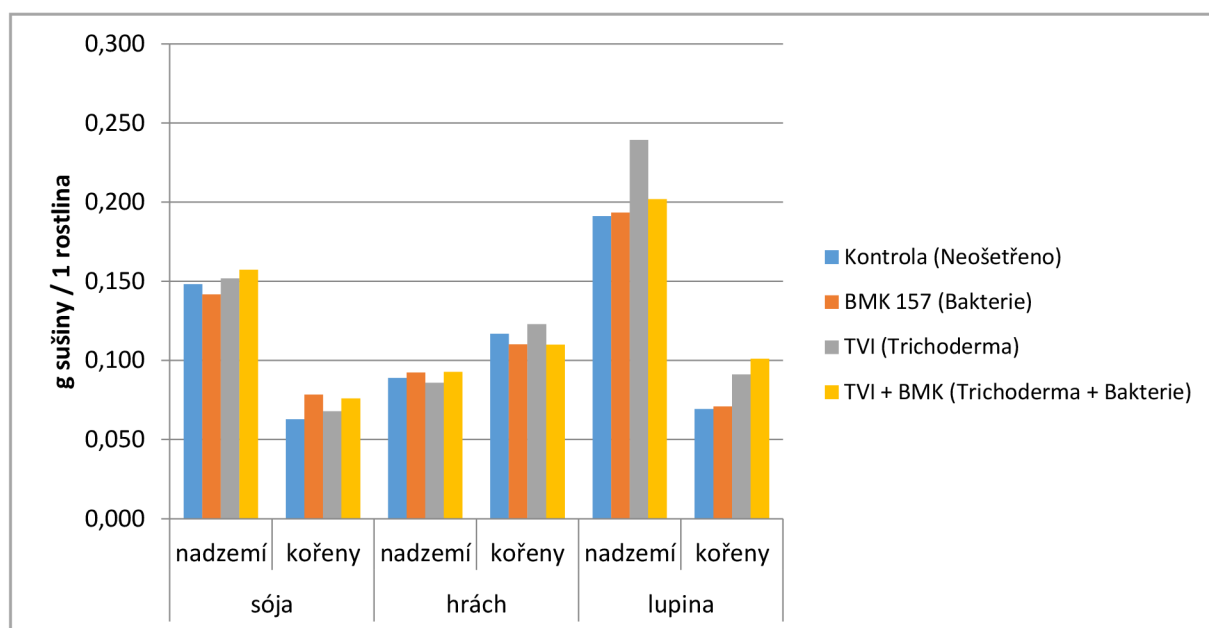
Lupina kontrola		0,213760	0,988120	0,962059
BMK 157 (Bakterie)	0,213760		0,336990	0,413999
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,988120	0,336990		0,998518
TVI (Trichoderma)	0,962059	0,413999	0,998518	

Výsledky statistického šetření neprokázaly statistické rozdíly ani u jedné varianty ve všech plodinách.

5.4 Produkce biomasy

V následujícím grafu jsou výsledky nárůstu biomasy po ukončení laboratorní vzházivosti. Z grafu 12 je možné vyčíst, že sója i lupina měly širší poměr mezi nadzemní a podzemní biomasou. U sóji byla tvorba nadzemní biomasy téměř shodná ve všech variantách, u lupiny byl zaznamenán nejvyšší nárůst u varianty ošetřené TVI (Trichoderma). Tvorba podzemní biomasy byla u hrachu a sóji podobná, u lupiny byla zaznamenána vyšší tvorba u variant TVI (Trichoderma) a TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie).

Graf 14 – Tvorba biomasy



5.4.1 Statistické hodnocení – tvorba biomasy

Tabulka 19 – Tvorba biomasy sója nadzemní

Sója nadzemní kontrola		0,984985	0,112294	0,203290
BMK 157 (Bakterie)	0,984985		0,194721	0,334132
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,112294	0,194721		0,981158
TVI (Trichoderma)	0,203290	0,334132	0,981158	

Tabulka 20 – Tvorba biomasy sója podzemní

Sója podzemní kontrola		0,778863	0,858147	0,968251
BMK 157 (Bakterie)	0,778863		0,998470	0,957617
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,858147	0,998470		0,986106
TVI (Trichoderma)	0,968251	0,957617	0,986106	

Tabulka 21 – Tvorba biomasy hrách nadzemní

Hrách nadzemní kontrola		0,956706	0,761646	0,983562
BMK 157 (Bakterie)	0,956706		0,962300	0,824124
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,761646	0,962300		0,556350
TVI (Trichoderma)	0,983562	0,824124	0,556350	

Tabulka 22 – Tvorba biomasy hrách podzemní

Hrách podzemní kontrola		0,683423	0,891564	0,679294
BMK 157 (Bakterie)	0,683423		0,975225	0,164591
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,891564	0,975225		0,303333
TVI (Trichoderma)	0,679294	0,164591	0,303333	

Tabulka 23 – Tvorba biomasy lupina nadzemní

Lupina nadzemní kontrola		0,931220	0,963233	0,267407
BMK 157 (Bakterie)	0,931220		0,999373	0,561532
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,963233	0,999373		0,492587
TVI (Trichoderma)	0,267407	0,561532	0,492587	

Tabulka 24 – Tvorba biomasy lupina podzemní

kontrola		0,961484	0,143109	0,380367
BMK 157 (Bakterie)	0,961484		0,295589	0,646775
TVI + BMK (Trichoderma + Bakterie)	0,143109	0,295589		0,905744
TVI (Trichoderma)	0,380367	0,646775	0,905744	

Statistické šetření tvorby biomasy nepřineslo žádné průkazné rozdíly v rámci jednotlivých variant vybraných plodin.

6 Diskuze

Hlavním cílem pro biologické přípravky je jejich rozšíření do zemědělského povědomí. Tyto přípravky mají své místo na trhu, ale problémem je, že u biologických přípravků závisí na technologii a načasování aplikace mnohem více než u průmyslových a chemických přípravků. Biologické přípravky jsou živé organismy, které musí odolávat všem půdním i klimatickým podmínkám. Na tyto podmínky je možné organismy připravit – správným časem aplikace, správným výběrem očkovacího plnidla, výběrem správného kmene daného organismu nebo agrotechnickými zásahy během pěstování. S tímto ovšem souvisí fakt, že zejména na našem území není zatím dostatek provedených zkoušek a tedy neexistují přesná doporučení na aplikaci biologických látek (Amar et al. 2022).

6.1 Kvalita osiva

Kvalita osiva je jedním z hlavních parametrů, které následně ovlivňují klíčivost. Hlavními aspekty jsou správná sklizeň a posklizňová úprava. Pokud je osivářský porost sklizen ve správném termínu a ve správném stupni zralosti i vlhkosti, tak kvalita zásobních látek je vysoká a ani při skladování nepodléhá snadno degradaci. To bylo potvrzeno během našich testů, kdy většina kontrolních variant dosahovala podobných výsledků jako ošetřené varianty. Správně vedený porost, na kterém je vyprodukováno zdravé osivo, je poté méně náchylné na napadení chorobami (Rajjou et al. 2007).

6.2 Bakterie mléčného kvašení

BMK jsou v zemědělství, nebo spíše v potravinářství, používány již tisíce let. Jejich vlastnosti při konzervování potravin daly základ uchovávání potravin po celém světě (Rouse et al. 2008). Jejich význam v pěstování rostlin je ovšem zatím nedostatečně prozkoumán. Dají se považovat za organismy, které zlepšují úrodnost půdy (rozkladem organické hmoty) a mají zlepšující účinek na příjem živin rostlinou. Zcela potvrzený ale není jejich vliv na houbovými a jinými chorobami. Dále nebyl potvrzen ani významnější vliv aplikace BMK na zlepšení růstu rostlin (Raman et al. 2022).

BMK dokáží v oblasti rhizosféry svými metabolity upravovat pH, a jelikož její metabolity jsou často kyselé a pH snižují, je možné, že při zvýšené populaci BMK v oblasti kořenů dojde ke snížení příjmu některých živin (Sapkota, 2022). V rámci jednotlivých testů nebylo možné vyhodnotit tento fakt, jelikož testy byly zaměřeny zejména na vitalitu osiva, tedy dobu, kdy rostlina odebírá uloženou energii v semeni.

6.3 Trichoderma

Trichoderma je v zemědělství používána již velmi dlouho a její účinky jsou dobře popsány. Nachází se zejména v půdě, ale byla nalezena i na nadzemních částech rostlin. V půdě jsou prokázány antibiotické i antimykotické účinky a Trichoderma je schopna dobře regulovat většinu houbových chorob. Významná je i role Trichodermy v bioremedeaci, kdy je schopna velice účinně odbourávat chemické látky (pesticidy), které jsou dnes často nadužívány (Zin & Badaluddin, 2020).

Trichoderma jako houba rodu *Actinomyces* produkuje širokou škálu metabolických produktů. Velká část z nich má na rostlinu pozitivní vliv, ale tyto metabolity mohou vytvářet nehostinné prostředí pro ostatní organismy, které se v půdě běžně vyskytují, a jejich vliv na rostliny je také kladný. Trichoderma tedy může zcela kolonizovat oblast rhizosféry a omezit rozvoj jiných mikroorganismů (Sapkota, 2022). V našich výsledcích měly některé varianty ošetřené TVI u sóji horší výsledky klíčivosti, možným důvodem tohoto zhoršeného klíčení je právě testování v laboratorním prostředí. V tomto prostředí se nevyskytují běžně pozorovatelné organismy v půdě, které by bránily nadměrnému rozvoji trichodermy v oblasti kořenů. Ta poté mohla upravit svými metabolity prostředí tak, že došlo ke zpomalení procesu klíčení, zhoršení metabolismu zásobních látek a po vyklíčení i zhoršenému příjmu vody (Yu et al. 2021).

6.4 Konkurence půdních mikroorganismů

Půda je kromě pevné a kapalně složky tvořena i složkou živou. V půdě můžeme nalézt celé spektrum organismů od velikosti jednotlivých buněk až po půdní obratlovce. Všechny tyto organismy se v půdě vyvíjejí miliony let a je mezi nimi nastavena určitá rovnováha (Jansson & Hofmockel, 2020).

Ve velké části našich pokusů nebylo možné najít prokazatelné účinky. Povrch semene je v porovnání s plochou jednotlivých půdních částic a agregátů neporovnatelně menší a každá částice v půdě je kolonizována množstvím mikroorganismů. V půdě se nachází od 300 – 3000 kg mikroorganismů na jeden hektar půdy a většinu z nich není možné izolovat a nadále kultivovat v laboratorních podmínkách. Pokud nejsou půdní mikroorganismy schopné přežít jinde než v půdě, dá se předpokládat, že prošly adaptací na půdní prostředí a zároveň i obrácený proces (vlození nových mikroorganismů do půdního prostředí) nemusí být úspěšný. Tento fakt přispívá k tomu, že námi dodané organismy do půdy jsou vystaveny obrovskému konkurenčnímu tlaku a jejich účinek je tímto velmi snižován (Hoorman, 2010).

7 Závěr

- Hypotéza o vlivu biologického moření na rané vývojové fáze rostlin nebyla potvrzena. V rámci jednotlivých pokusů nás zajímaly negativní a pozitivní vlivy jednotlivých druhů ošetření na vitalitu osiva nebo na časné vývojové fáze rostlin. Pokud se zaměříme na hodnocení vlivu na časná vývojová stádia rostlin, kterému odpovídá test laboratorní vzcházivosti a tvorba biomasy, zjistíme, že nebyl zjištěn prokazatelný vliv biologických látek
- Hodnocení vlivu na vitalitu osiva je rozděleno dle plodin. Hypotéza o vlivu na vitalitu osiva u sóji může být potvrzena, když pouze v rámci tohoto jednoho testu. U sóji nedošlo v průběhu většiny laboratorních zkoušek k dosažení prokazatelných účinků na vitalitu osiva. Statisticky průkazný rozdíl byl pouze u klíčivosti po TUS, kdy varianta ošetřená TVI (Trichoderma) měla horší klíčivost než ostatní varianty včetně neošetřené kontroly.
- Hypotézu o vlivu na osivo hrachu je možné potvrdit s tím, že výsledky byly spíše pozitivní. Hrách dosahoval ze všech plodin největších rozdílů. U testu konduktivity měla neošetřená kontrola nejhorší a zároveň statisticky průkazný výsledek. Dle tohoto testu by bylo možné usoudit, že ošetření biologickými látkami mělo pozitivní vliv. Dále byly prokázány i pozitivní vlivy u testu klíčivosti, kdy neošetřená kontrola zaostávala za ošetřenými variantami.
- Hypotézu o vlivu biologických ošetření na osivo lupiny není možné potvrdit. Lupina nevykazovala žádnou reakci na jednotlivá ošetření. Osivo vykazovalo stále stejné výsledné hodnoty jako u neošetřených variant.
- Většina variant v rámci jednotlivých plodin nevykazovala negativní reakci na moření biologickými preparáty. Tento výsledek je možné považovat za pozitivní, jelikož nedochází k poškození osiva a má tedy smysl pokračovat v testování těchto přípravků
- Zkoušení jednotlivých biologických přípravků probíhalo pouze v laboratorních podmínkách. Podmínky při kontaktu osiva s půdou jsou ovšem značně rozdílné, je tedy nutné zaměřit se i na polní zkoušky, které by mohly napovědět více o vlivech těchto přípravků.

8 Literatura

Aastha T. 2018. Blue Green Algae: Introduction, Production Methods and Application | Biofertilizer. Agriculture in India. Available from [Blue Green Algae: Introduction, Production Methods and Application | Biofertilizer | Agriculture \(agricultureinindia.net\)](https://www.agricultureinindia.net) (accessed February 2023)

Afanador-Barajas LN, Navarro-Noya YE, Luna-Guido ML, Dendooven L. 2021. Impact of a bacterial consortium on the soil bacterial community structure and maize (*Zea mays* L.) cultivation. *Scientific reports* **11**: 13092

Ammar EE, Aioub AA, Elesawy AE, Karkour AM, Mouhamed MS, Amer AA, El-Shershaby NA. 2022. Algae as Bio-fertilizers: Between current situation and future prospective. *Saudi Journal of Biological Sciences*

Anderson EJ, Ali ML, Beavis WD, Chen P, Clemente TE, Diers BW, Tilmon KJ. 2019. Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] breeding: history, improvement, production and future opportunities. *Advances in Plant Breeding Strategies: Legumes* **7**: 431-516

Báčová I. 2021. Možnosti využití a choroby druhů lupiny. *Agromanuál*. available from <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/moznosti-vyuziti-a-choroby-druhu-lupiny> (Accessed February 2023)

Bayer. 2023. Choroby luskovin. Praha. Available from <https://www.bayer.com/en/agriculture> (accessed January 2023)

Britannica. 2023. Pea. *Encyklopedia Britannica*. United Kingdom. available from <https://www.britannica.com/plant/pea> (accessed February 2023)

Dübbern de Souza FH, Marcos-Filho J. 2001. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Brazilian botanic journal* **24**: 2

Editors of PGRO. 2021. *Lupins*. The Research Station. Peterborough. Available from [Lupins | PGRO](https://www.pgro.co.uk) (accessed March 2023)

- Endres G, Kendal A. 2009. Field pea production. NDSU Carrington Research Extension Center. North Dakota
- Erker B, Brick MA. 2014. Legume seedinoculants. State university in Colorado. Available from [Legume Seed Inoculants \(colostate.edu\)](https://colostate.edu) (accessed February 2023)
- Heyndricx M. 2020. Impact of *Bacillus cereus* endospore evolution on food safety and stability. Available from <https://ilvo.vlaanderen.be/en/research-projects/impact-of-bacillus-cereus-endospore-evolution-on-food-safety-and-stability> (accessed February 2023)
- Hermosa R, Cardoza RE, Rubio MB, Gutiérrez S, Monte E. 2014. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Elsevier.
- Heslop-Harrison, J. 2022. germination. Encyclopedia Britannica. Available from <https://www.britannica.com/science/germination> (accessed February 2023)
- Hoorman JJ. 2010. Understanding soil microbes and nutrient recycling. *Agriculture and natural resources* **1**: 5
- Houba M. 2019. Pěstování luskovin: Sója – Glycine. *Agromanuál*
- Hu D, Zhang S, Baskin JM, Baskin CC, Wang Z, Liu R, Huang Z. 2019. Seed mucilage interacts with soil microbial community and physiochemical processes to affect seedling emergence on desert sand dunes. *Plant, Cell & Environment* **42**: 591-605
- Huyghe C. 1997. White lupin (*Lupinus albus* L.). *Field Crops Research* **53**: 147-160
- Ikeda DM, Weinert E, Chang KC, McGinn JM, Miller SA, Kelihoomalulu C, DuPont, MW. 2013. Natural farming: lactic acid bacteria. *Sustain Agric* **8**: 3-4
- Jansson JK, Hofmockel KS. 2020. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology* **18**: 35-46

Kalembasa S, Szukała, Faligowska A, Kalembasa D, Symanowicz B, Becher M, Gebus-Czupyt B. 2020. Quantification of biologically fixed nitrogen by white lupin (*Lupinus albus* L.) and its subsequent uptake by winter wheat using the ¹⁵N isotope dilution method. *Agronomy* **10**: 1392

Karami-Mohajeri S, Ahmadipour A, Rahimi HR, Abdollahi M. 2017. Adverse effects of organophosphorus pesticides on the liver: a brief summary of four decades of research. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **68**: 261-275

Katz SE. 2012. *The Art of Fermentation: an In-depth Exploration of Essential Concepts and Processes from Around the World*. Chelsea Green Publishing, United Kingdom

Kubheka BP, Ziena LW. 2022. *Trichoderma: A Biofertilizer and a Bio-Fungicide for Sustainable Crop Production*

Kumar A, Bera S. 2020. Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. *Bioresource Technology Reports* **12**: 22-24

Kumar A, Hanson J, Abdena A. 2020. Production of high-quality tropical forage legume seeds. *Advances in Seed Production and Management* **1**: 119-137

Lahola J. 1990. *Luskoviny: Pěstování a využití*. Státní zemědělské nakladatelství 134 – 136

Lamichhane JR, Corrales DC, Soltani E. 2022. Biological seed treatments promote crop establishment and yield: a global meta-analysis. *Agronomy for Sustainable Development* **42**: 45

Lamont JR, Wilkins O, Bywater-Ekegärd M, Smith DL. 2017. From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology and Biochemistry* **111**: 1-9

Malvick D. 2018. Soybean seed and seedling diseases. University of Minnesota. Available from <https://extension.umn.edu/pest-management/soybean-seed-and-seedling-diseases> (accessed February 2023)

Mezlík T. 2020. Seznam doporučených odrůd 2020 - hrách polní jarní, sója a přehled odrůd 2020 hrách polní ozimý, lupina úzkolistá. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno

Ministerstvo zemědělství. 2020. Situační a výhledová zpráva luskoviny. Česká republika

Peterová J. 2005. Pěstování sóji v ČR a srovnání se světem. Available from http://www.agris.cz/Content/files/main_files/76/154379/09_Peterova_PESTOVANI_SOJI_V_CR_A_SROVNANI_SE_SVETEM.pdf (accessed February 2023)

Portál farmáře. 2023. Osivo a sadba. Praha, Česká republika. Available from <https://eagri.cz/public/web/mze/farmar/> (accessed February 2023)

Průša O. 2022. Jak na pěstování sóji. Agromanuál

Rajjou L, Lovigny Y, Job C, Belghazi M, Groot S, Job D. 2007. Seed quality and germination. In Seeds: biology, development and ecology. Proceedings of the Eighth International Workshop on Seeds, Brisbane, Australia

Raman J, Kim JS, Choi KR, Eun H, Yang D, Ko YJ, Kim SJ. 2022. Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: Advantages and limitations. International Journal of Molecular Sciences **23**: 7784

Riaz M, Arif MS, Ashraf MA, Mahmood R, Yasmeen T, Shakoob MB, Fahad S. 2019. A comprehensive review on rice responses and tolerance to salt stress. Advances in rice research for abiotic stress tolerance **7**: 133-158

Rocha I, Ma Y, Souza-Alonso P, Vosátka M, Freitas H, Oliveira RS. 2019. Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops. Frontiers in Plant Science **10**: 1357

Rouse S, Harnett D, Vaughan A, Sinderen DV. 2008. Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. Journal of Applied Microbiology **104**: 915-923

Sapkota A. 2022. Microorganisms found in soil with effects and examples. Available from [Microorganisms found in soil with effects and examples \(microbenotes.com\)](https://microbenotes.com) (accessed February 2023)

Selgen. 2020. Hrách setý. Praha. Available from <https://selgen.cz/agrotechnicka-doporuceni/hrach-sety-agt/> (accessed February 2023)

Shelar VR, Shaikh RS, Nikam AS. 2008. Soybean seed quality during storage. *Agricultural reviews* **29**: 125-131

Shurleft W, Aoyagi A. 2004. *The Soybean Plant: Botany, Nomenclature, Taxonomy, Domestication, and Dissemination*. Soyfood Center, California. Available from https://www.soyinfocenter.com/HSS/soybean_plant1.php (accessed January 2023)

Sorensen RC, Penas EJ. 1978. Nitrogen Fertilization of Soybeans 1. *Agronomy Journal* **70**: 213-216

Stewart A, Hill R. 2014. *Applications of Trichoderma in plant growth promotion. Biotechnology and biology of Trichoderma*. Elsevier.

Štranc P, Procházka P. 2022. Výhled produkce olejnin a zejména sóji v roce 2022. *Agromanuál*

Vaculík A. 2019. Pěstování lupiny bílé a možnosti jejího využití v krmivářství. *Úroda* **3**: 84-85

Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W. 2012. Production and Characterization of Antifungal Compounds Produced by *Lactobacillus plantarum*. *Plos one* **7**

Wesoff E. 2017. Hard lessons from the great Algae biocel bubble. Available from <https://www.greentechmedia.com/articles/read/lessons-from-the-great-algae-biofuel-bubble> (accessed February 2023)

Woo SL, Hermosa R, Lorito M, Monte E. 2022. Trichoderma: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology* **1**: 15

Yu L, Zhao X, Gao X, Jia R, Yang M, Yang X, Siddique KH. 2021. Effect of natural factors and management practices on agricultural water use efficiency under drought: A meta-analysis of global drylands. *Journal of Hydrology* **594**: 125

Zavalin AA, Sokolov OA, Shmyreva NYa, Lukin SV. 2019. Legume reaction to soil acidity. *Amazonia investiga* **8**: 162 – 170

Zin NA, Badaluddin NA. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences* **65**: 168-178