

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra rostlinné výroby**



**Způsoby snížení potřeby minerálních hnojiv při pěstování  
kukuřice použitím Trichodermy**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Lucie Vyleťalová**

**Obor studia: N-AMBU2-AMBU2**

**Vedoucí práce: Ing. Jaroslav Tomášek, Ph.D.**

© 2018 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Způsoby snížení potřeby minerálních hnojiv při pěstování kukuřice použitím Trichodermy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Jaroslavu Tomáškoví, Ph.D. za vedení mé diplomové práce.

# Způsoby snížení potřeby minerálních hnojiv při pěstování kukuřice použitím *Trichodermy*

## Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá změnami reakcí rostlin kukuřice v závislosti na přítomnosti houby *Trichoderma harzianum*.

Praktická část práce vycházela z cíle testování a zhodnocení účinnosti *Trichodermy* v různých přípravcích na kukuřici v polních podmínkách. Konkrétně byly použity přípravky Supresivit a AkTRIVátor. Kukuřice byla dělena na část silážovou a část zrnovou.

Statisticky významné rozdíly byly prokázány mezi testovanými charakteristikami: výška rostlin, výnos čerstvé biomasy silážové kukuřice, výnos suché biomasy silážové kukuřice, obsah sušiny silážové kukuřice, aktivita fotosyntézy, obsah chlorofylu a transpirace.

V polních výzkumech je účinek překračující 5 % hodnocen jako úspěšný a ve většině hodnocených charakteristik byla tato meta překročena. I přes to větších úspěchů *Trichoderma* dosahuje ve skleníkových podmínkách v desinfikovaných substrátech nebo v hydroponiích bez konkurenčních hub. Na poli aktivitu *Trichodermy* ovlivňuje mnoho vnějších faktorů, jako jsou nepravidelné srážky, kvalita půdy nebo sluneční záření.

Nelze jednoznačně preferovat jeden přípravek. Jejich přínosy se většinou prolínaly.

**Klíčová slova:** *Trichoderma harzianum*, kukuřice, hnojivo, výnos, fotosyntéza

# Methods of reducing the need for mineral fertilizers in maize growing using *Trichoderma*

## Summary

This diploma theses deals with reaction changes of maize plants in dependence on presence of fungi species *Trichoderma harzianum*.

Practical part of the research was based on the objectives of testing and efficiency rating of *Trichoderma* in different preparations for maize in field conditions. Preparations Supresivit and AkTRIVátor were used specifically. The maize productions were divided into silage and grain part.

Statistically important differences were identified between following tested characteristics: plant height, raw biomass production of silage maize, dry biomass production of silage maize, content of silage dry matter, activity of photosynthesis, chlorophyll content, and transpiration.

The result exceeding 5 % in field studies is being considered as successful and most evaluated characteristics did achieved this result.

However, *Trichoderma* shows better results in a greenhouse conditions with disinfected substrates or under hydroponic conditions with no other competing species of fungi. There are many other factors effecting *Trichoderma* growth under field conditions as irregular precipitations, soil quality or sunlight.

We cannot prefer one preparation above the other (Supresivit, AkTRIVátor), as their benefits mostly merged.

**Key words:** *Trichoderma harzianum*, maize, fertilizer, yield, photosynthesis

# Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce a hypotézy.....	2
2.1	Cíl práce.....	2
2.2	Hypotézy.....	2
3	Minerální hnojiva.....	3
3.1	Rozdělení minerálních hnojiv.....	3
3.1.1	Dusíkatá hnojiva.....	3
3.1.1.1	Nitrátová směrnice.....	4
3.1.1.2	Fosforečná hnojiva.....	4
3.1.1.3	Draselná hnojiva.....	5
3.1.1.4	Nedostatky minerálních hnojiv.....	5
4	Organická hmota.....	6
4.1	Obecná charakteristika organické hmoty.....	6
4.2	Dělení organické hmoty.....	6
4.3	Hlavní možnosti zvýšení organické hmoty v půdě.....	7
4.3.1	Kukuřičná sláma.....	7
4.3.2	Hnůj, kejda.....	8
4.3.3	Zelené hnojení.....	8
4.3.4	Pěstování krycích plodin.....	8
4.3.5	Půdní mikroorganismy.....	9
5	Kukuřice setá ( <i>Zea mays L.</i> ).....	10
5.1	Taxonomické zařazení.....	10
5.2	Historie vzniku moderní kukuřice.....	10
5.2.1	Rozdíl mezi <i>Teosinte</i> a moderní kukuřicí.....	11
5.3	Obecná charakteristika.....	12
5.4	Ekologické a agrotechnické požadavky.....	12
5.5	Základní členění kukuřice seté.....	14
5.5.1	Kukuřice na siláž.....	14
5.5.2	Kukuřice na zrno.....	14
5.6	Využití kukuřice.....	14
6	<i>Trichoderma harzianum</i> .....	15
6.1	Obecná charakteristika.....	15
6.1.1	Taxonomické zařazení dle MycoBank.....	15
6.1.2	Objevení druhu.....	15
6.1.3	Popis rodu a ekologické vlastnosti.....	15

6.1.3.1	Souhrn přirozených vlastností druhu <i>Trichoderma sp.</i> .....	17
6.1.3.2	<i>Trichoderma sp.</i> a její patogenita .....	19
6.2	<i>Trichoderma harzianum</i> .....	19
6.2.1	Popis druhu .....	20
6.2.2	Morfologie druhu .....	20
6.2.3	Základní kultivační informace .....	21
6.3	Biologická ochrana rostlin proti patogenům .....	21
6.4	Podpora vitality rostlin.....	24
6.5	Přípravky na bázi druhu <i>Trichoderma harzianum</i> .....	30
7	Materiál a metody .....	31
7.1	Popis lokality.....	31
7.2	Agrotechnický popis .....	31
7.3	Založení pokusu .....	32
7.4	Měřené charakteristiky.....	32
7.4.1	Statistika.....	33
8	Výsledky .....	34
8.1	Silážová kukuřice.....	34
8.2	Zrnová kukuřice .....	37
9	Diskuze.....	39
9.1	Kukuřice na siláž.....	39
9.2	Kukuřice na zrno.....	42
9.3	Shrnutí diskuze.....	43
10	Závěr .....	46
11	Zdroje .....	47

# 1 Úvod

Úspěch udržitelné produkce potravin se v dnešní době stále ještě a více závisí na rozsáhlém využívání minerálních hnojiv. Tato hnojiva mají kromě pozitivních dopadů také mnoho nedostatků, které přichází z několika úhlů pohledu.

Dnes je nejdůležitější pohled ekonomický. Výroba anorganických hnojiv je ekonomicky nevýhodná, jak energetickou náročností procesů, tak získáváním primárních surovin, které jsou v některých případech neobnovitelné. Výhodou je snadné skladování, přeprava a aplikace. V posledních letech, kdy se zemědělské podniky zaměřují převážně na rostlinnou výrobu, cena organických hnojiv citelně stoupla. Pokud se podniky nevrátí zpět k přijatelnému poměru rostlinné a živočišné výroby, potřeba minerálních hnojiv neklesne.

Dalším a důležitějším pohledem je dopad používání minerálních hnojiv na životní prostředí. S nadbytečnými dávkami dusíku se snižuje obranyschopnost rostlin, zvyšuje jejich křehkost, a tedy i potřeba dalších chemických opatření. S nadbytečnými dávkami biogenních prvků obecně se zvyšuje eutrofizace vod, protože půda ani rostliny nestíhají vše absorbovat. V hnojivech, zejména fosfátových jsou obsaženy i rizikové prvky, které se tak dostávají do potravního řetězce.

Je tedy potřeba zaměřit se na technologie výroby potravin, které se vrací zpět k samotným kořenům zemědělství. Musí vycházet z ekologických vazeb (rostlina – půda – ostatní organismy) ctít uzavřený cyklus prvků, vstupy by měly být z obnovitelných zdrojů a organických hnojiv, dodržovat promyšlené oseední sledy. Nejdůležitějším bodem je vazba na organickou hmotu a humus, které se při dnešních postupech z půdy velmi rychle vytrácí.

Jednou z možností moderního pěstování rostlin je využití mikroskopických hub. Tato práce se podrobněji zabývá druhem *Trichoderma harzianum*.



## **2 Cíl práce a hypotézy**

### **2.1 Cíl práce**

Cílem diplomové práce je testování *Trichodermy* v různých přípravcích na polním pokusu v kukuřici.

Dalším cílem je zhodnotit účinnost zmiňovaných přípravků na bázi *Trichodermy*.

### **2.2 Hypotézy**

Hypotéza č. 1: *Trichoderma* bude mít vliv na vyšší produktivitu porostu a tím sníží potřebu minerální výživy.

Hypotéza č. 2: Rychlost fotosyntézy, zdravotní stav porostu, výška rostlin a výnos biomasy na porostech ošetřených *Trichodermou* bude vyšší než na kontrolní ploše.

### 3 Minerální hnojiva

Obecně lze hnojivo definovat dle zákona č. 156/1998 Sb. jako látku způsobitou poskytnout účinné množství živin pro výživu kulturních rostlin a lesních dřevin, pro udržení nebo zlepšení půdní úrodnosti a pro příznivé ovlivnění výnosu či kvality produkce.

Minerální hnojivo je dle zákona č. 156/1998 Sb. látka, v níž jsou deklarované živiny obsaženy ve formě minerálních látek získaných extrakcí nebo jiným fyzikálním nebo chemickým postupem. Za minerální hnojivo se považuje také dusíkaté vápno, močovina a její kondenzační a asociační produkty a hnojivo obsahující stopové živiny ve formě chelátů nebo komplexů.

Minerální hnojiva (i hnojiva obecně) nahrazují úbytek živin, které jsou z velké části exportovány z půdy zejména při růstu zemědělských plodin a jejich následné sklizni, dále jsou to ztráty vyplavením, smyvem a sorpcí. V tomto neuzavřeném koloběhu prvků hnojiva uměle zabraňují poklesu účinné hladiny živin v půdě. Avšak neodborné aplikace minerálních hnojiv neprospívá ani rostlinám a půdě, a proto ani člověku. Zdroj živin z primárních minerálů nebo humusu již dávno nestačí (Hlušek, 2004).

#### 3.1 Rozdělení minerálních hnojiv a jejich hlavní druhy uvedené ve Vyhlášce č. 474/2000 Sb.

##### 3.1.1 Dusíkatá hnojiva

Tato hnojiva obsahují podíl dusíku od 6 % (roztok ledku amonného) do 80 % (kapalný amoniak).

- Celkový dusík: ledek vápenatý, dusíkaté vápno, dusičnan amonný, ledek amonný, močovina, močovinoformaldehyd, dusičnan vápenatý
- Dusičnanový dusík: ledek vápenato-hořečnatý, dusičnan sodný, ledek amonný, dusičnan hořečnatý
- Amonný dusík: síran amonný, dusičnan amonný, kapalný amoniak

Do roku 1920 se jako dusíkaté hnojivo používal pouze přírodní ledek chillský. Poté se musely hledat další průmyslové alternativy. Existuje několik postupů, které dokáží ze vzdušného dusíku tvořit dusíkaté sloučeniny. Příkladem je syntéza amoniaku z vodíku a dusíku podle Habery a Bosche (Nobelova cena v roce 1918). Vodík je získáván ze zemního plynu a derivátů ropy, uhlí nebo koksu. Směs plynů je vystavována katalytické reakci za vysokých tlaků

a teplot. Močovina (amid kyseliny uhličitě) je nejkonzentrovanejším tuhým dusíkatým hnojivem. Vyrábí se syntézou čpavku a oxidu uhličitěho. (Hlušek, 2004).

#### 3.1.1.1 Nitrátová směrnice

Nitrátová směrnice Rady 91/676/EHS pojednává o ochraně vod před znečištěním způsobeném dusičnany ze zemědělských zdrojů. Platí pro minerální i organická dusíkatá hnojiva.

Hlavní pilíře nitrátové směrnice:

- Limity přívodu dusíku do půdy dle výnosové hladiny
- Úprava způsobů hnojení v létě a na podzim dle konkrétní plodiny a půdní infiltrace
- Zákaz hnojení přes zimu (říjen - prosinec dle klimatického regionu)
- Podmínky pro skladování hnoje nebo kompostu na pozemku (nejdéle 9 měsíců, nejméně 100 m od vody při sklonitosti pozemku nad 5 °, zákaz skládky na velmi propustném podloží), minimální výška zakládky 1,7 m)
- Povinnost plnění nitrátové směrnice mají podniky ve zranitelných oblastech. Zranitelné oblasti jsou takové oblasti, kde se nachází vody znečištěné dusičnany pocházející ze zemědělských zdrojů.

#### 3.1.1.2 Fosforečná hnojiva

Tato hnojiva obsahují podíl fosforu od 10 % obsahu  $P_2O_5$  (Thomasova moučka) do 38 % obsahu  $P_2O_5$  (trojitý superfosfát).

- Thomasova moučka-mletá struska silikofosfátu vápenatého
- Superfosfát je vyráběn z mletého přírodního fosfátu rozkladem kyselinou sírovou
- Obohacený superfosfát (výroba z mletého přírodního fosfátu rozkladem kyselinou sírovou a fosforečnou)
- Trojitý superfosfát (výroba z mletého přírodního fosfátu rozkladem kyselinou fosforečnou)
- Kalcinovaný fosfát (výroba termickým rozkladem surového fosfátu)

První fosforečné hnojivo byl popel z kostí nebo mleté kosti, a to už v 18. století. V druhé polovině 19. století začala výroba minerálních fosforečných hnojiv. Výroba minerálních hnojiv probíhá mechanicky, chemicky, nebo termicky. Dnes se jako základní surovina využívají minerály apatit a fosfotit. Dalším zdrojem je železná ruda, přesněji struska - odpad při výrobě oceli, kdy se fosfor odstraňuje vazbou na vápník (Thomasova moučka) (Hlušek, 2004).

**Apatit** je magmatického původu a má krystalickou mřížku, kde se vyskytuje zejména fluor. Kryje přibližně 10 % potřeby surovin k výrobě fosforečných hnojiv. Jeho ložiska se nachází na ostrově Kola, ve Švédsku, Kanadě, Norsku, Číně a Brazílii. **Fosforit** je sedimentárního původu uložen v pískovci a má amorfni strukturu. Po chemické stránce převládá fluoroapatit, přítomny jsou i chloroapatity, hydroxylapatity a karbonátapatity. Fosforitová ložiska jsou mnohem více rozšířena a vyskytují se téměř na každém kontinentě (Hlušek, 2004).

### 3.1.1.3 Draselná hnojiva

Tato hnojiva obsahují podíl draslíku od 10 % obsahu  $K_2O$  (surová draselná sůl) do 47 % obsahu  $K_2O$  (síran draselný).

- Surová draselná sůl, obohacená surová draselná sůl (chlorid draselný se síranem hořečnatým)
- Chlorid draselný, chlorid draselno-hořečnatý (výroba z draselné soli)
- Síran draselný, síran draselný s hořčíkem

Přírodní draselné soli jsou základní surovinou pro průmyslovou výrobu. Jsou to zejména Sylvinit, Karnalit nebo Kainit (základ  $KCl$ ). Draselná hnojiva mohou obsahovat rovněž další prvky, jako je hořčík, vápník, chlór, sodík. Ložiska draselných solí vznikla odpařováním mořské vody. Průmyslově se vyrábí mechanicky nebo rozpouštěním nízkoprocentních surových solí s následnou flotací (Hlušek, 2004).

### 3.1.1.4 Nedostatky minerálních hnojiv

Hnojiva nesmějí být používány na zemědělské půdě, pokud jejich vlastnosti neumožňují rovnoměrné pokrytí pozemku, způsob jejich použití nevede k rovnoměrnému pokrytí pozemku, jejich použití může vést k poškození fyzikálních, chemických nebo biologických vlastností zemědělské půdy, nebo pozemků sousedících s tímto pozemkem, popřípadě i jeho širšího okolí, půda, na kterou mají být použity, je zaplavená, přesycená vodou, pokrytá vrstvou sněhu vyšší než 5 cm, nebo promrzlá tak, že povrch půdy do hloubky 5 cm přes den nerozmrzá (Zákon č. 156/1998 Sb.).

Vybrané nedostatky minerálních hnojiv:

- Výroba hnojiv, zejména dusíkatých je energeticky velmi náročná. Minimálně 1,5 l nafty je potřeba na výrobu 1 kg čistého dusíku v hnojivu (Hlušek, 2004)
- Nadměrné hnojení dusíkatými hnojivy způsobuje křehkost a nízkou obranyschopnost rostlin

- Anion  $\text{NO}_3^-$  ledku vápenatého může být snadno vyplaven z půdního profilu (Hlušek, 2004)
- Při povrchové aplikaci močoviny, zvláště v období velkého sucha, může dojít ke ztrátám dusíku těkáním (Hlušek, 2004)
- Emise  $\text{NH}_3$ : podíl ztraceného dusíku z dusíkatých hnojiv způsobený volatilizací  $\text{NH}_3$  může dosahovat až 50 %, v závislosti na typu hnojiva, na okolních podmínkách (teplota, vítr, srážky) a vlastnostech půdy (obsah vápníku, kationtová výměnná kapacita). 1 - 4 % dusíku může být ztraceno volatilizací  $\text{NH}_3$  z povrchu listů rostlin. Dochází k tomu v případě, když je vnitřní koncentrace  $\text{NH}_3$  vyšší než v okolní atmosféře, což je celkem častý jev, zejména v době zvýšené kořenové absorpce živin (Sommer et al., 2004)
- Aplikace kyselých hnojiv na půdách s nízkým pH (Sommer et al., 2004)
- Eutrofizace vod (Khan et al., 2018)
- Obohacování půdy toxickými těžkými kovy a radionuklidy, zejména u fosforečných hnojiv (Khan et al., 2018)

## 4 Organická hmota

### 4.1 Obecná charakteristika organické hmoty

Organická hmota je zásadní prvek pro udržení kvality půdy a fungování půdy. Je zdrojem živin pro rostliny a půdní organismy, je to místo pro sorpci živin a významně přispívá k strukturální stabilitě půd (Johnson, 1991).

Organická hmota funguje jako nárazník proti znečištění životního prostředí z nadbytku živin a xenobiotik (Barraclough et al., 2005).

Půdní organická hmota není jednotná látka; zahrnuje vše od rozpoznatelných rostlinných a živočišných fragmentů až po rozpustné uhlovodíky pocházející z mikrobů a bílkoviny vzniklé během procesu rozpadu. Půdní organismy tvoří méně než 5 % hmotnosti celkové organické hmoty (Stevenson, 1994).

### 4.2 Dělení organické hmoty

Dle Goslinga et al. (2013) nejaktivnější frakce z celkové organické hmoty (SOM = soil organic matter) z hlediska cyklické výživy a udržování půdní struktury jsou organická hmota

lehké frakce (LFOM = light fraction organic matter) a organická hmota částic (POM= particulate organic matter). Na SOM má velký vliv podnebí, naopak na POM a LFOM má vliv zejména organické hnojení, ekologické změny a využití úhoru. Obdělávání půdy ani aplikace dusíkatých hnojiv nemá na žádnou ze zmiňovaných frakcí vliv.

Mezi labilní a tudíž "aktivní" SOM patří rozpustné rostlinné a mikrobiální exudáty. Tyto složky organické hmoty mají velmi krátkou dobu zdržení v půdě, pokud se nestanou chráněnými spojením s minerálními částicemi, nebo fyzickým oddělením od mikrobiálních společenstev a jejich degradačních enzymů, např. uložením uvnitř agregátů (Schmidt et al., 2011).

Humusové látky jsou jednou z nejdůležitějších složek půdní organické hmoty a jsou rozděleny na huminové kyseliny, fulvo kyseliny a humin (Song et al., 2014). Humusové látky jsou všudypřítomné sloučeniny, které mají vysokou molekulovou a heterogenní strukturu (Wagner et al., 2016). Akumulace humusových látek má velký vliv na úrodnost půdy (Song et al., 2014).

Alifatické a aromatické molekuly obsahující hydrofobní uhlík jsou selektivně konzervovány v humusových látkách (Spaccini et al., 2002). Hydrofobní složky jsou schopné zabránit vstupu degradujících enzymů rozkládající organickou hmotu (Piccolo et al., 1999).

### **4.3 Hlavní možnosti zvýšení organické hmoty v půdě**

#### **4.3.1 Kukuřičná sláma**

Vrácení kukuřičné slámy do půdy se stává jedním z důležitých opatření ke zlepšení organické hmoty půdy a udržení úrodnosti půdy. Jelikož množství posklizňových zbytků zbývajících na polích se snížilo, tak se také snížily vstupy organického uhlíku, což může potenciálně snížit obsah půdní organické hmoty a ovlivnit tvorbu a úrodnost půdy (Tormena et al., 2017).

Přidání slámy do půdy podporuje velké množství metabolizovatelných organických sloučenin, které se zabudují do půdní organické hmoty (Bayer et al., 2002).

Cui et al. (2017) zjistili, že z krátkodobého hlediska velké množství kukuřičné slámy v půdě přinese uhlíkový doplněk větší, než je ztráta půdního uhlíku, dojde tedy k jeho akumulaci. K větší akumulaci dochází zejména ve vrstvě 30 - 45 cm pod povrchem, oproti horní vrstvě do 15 cm.

To se děje z důvodu aerace, která je vyšší na povrchu než v podloží, takže rozklad slámy

v ornici probíhá rychleji na povrchu. Nižší aerace provází pomalý rozklad slámy, což vede k větší akumulaci organického uhlíku v půdě (Jiao et al., 2015).

Uhlík z kukuřičné slámy je převážně přetvářen na huminovou kyselinu než na fulvovou kyselinu (Song et al., 2014). S tím se zvýší i transformace FA na HA a tím i stabilita organického uhlíku v půdě. (Ingelmo et al., 2012).

Cui et al. (2017) prokázali, že huminové kyseliny vzniklé z rozkladu kukuřičné slámy obsahují více hydroxylových, methoxy skupin a aminoskupin.

#### **4.3.2 Hnůj, kejda**

Hnůj a kejda poskytují organické látky, čímž se zlepšují úrodnost půdy (Goss et al., 2013).

Song et al. (2014) prokázali, že obsah humusu je relativně vysoký s vysokým obsahem organických hnojiv.

Tato organická hnojiva ale především dodávají živiny pro kukuřici, a to zejména na půdách s nízkou úrodností. Klasická dávka chlévského hnoje je do 40 t/ha. Kukuřice je ideální plodina pro využití kejdy. Aplikuje se 60 - 80 t/ha (Balík a kol., 2001).

#### **4.3.3 Zelené hnojení**

Zelené hnojení spočívá v tom, že se listy nebo rostliny zapravují do půdy. Jsou to buď specifické krmné plodiny nebo odrůdy plodin zlepšující fyzickou a chemickou plodnost půdy (Goss et al., 2013).

Hlavním přínosem zeleného hnojení je přidání živin a organických látek do půdy, ale také zvýšení mikrobiální aktivity a schopnosti zadržování vody (Scotti et al., 2015).

#### **4.3.4 Pěstování krycích plodin**

Pěstování krycích plodin je jedním z klíčových postupů, které mohou přispět prodloužením doby fixace k ukládání uhlíku do půdy. Krycí plodiny také přispívají ke zlepšení retence dusíku (Finney et al., 2016).

Krycí plodiny mohou být užitečné při rotaci plodin a také k vyplnění krátké doby bez plodiny k ochraně půdy, k přípravě půdy k celoroční plodině nebo ke krmení zvířat (Scotti et al., 2015).

Luštěninové krycí plodiny snižují potřebu vstupů syntetických hnojiv v důsledku N vstupů z biologické fixace vzdušného dusíku (Tonitto et al., 2006).

Rhizosférický priming effect je jeden z mechanismů, jimž vstupy labilního uhlíku z rostlinných kořenových exudátů stimulují nebo potlačují rozklad organiky v půdě (Kuzyakov, 2002). Kumar et al. (2016) našli důkaz, že kukuřice stimulovala rozklad SOM.

Avšak kvantita i kvalita krycích plodin může mít vliv na alokaci uhlíku v půdě s různými účinky na čistou dostupnost dusíku (Rosenzweig et al., 2017).

Rosenzweig et al. (2017) při výzkumu dokázali, že při dekompozici jetele, jako krycí plodiny v kukuřici, se biomasa rozložila lépe v přítomnosti kukuřice než bez ní. Rozložily se více uhlíkové složky než dusíkaté složky, takže kukuřice stimulovala mineralizaci dusíkatých látek, kterých bylo téměř třikrát více než uhlíkových látek. Po dekompozici biomasy jetele kukuřice zvýšila příjem dusíkatých látek. V půdním roztoku se dusíkaté látky téměř nevyskytovaly. To reflektuje větší konkurenci o dusík mezi mikroby a rostlinou.

Některé studie prokázaly nárůst mineralizace dusíkatých látek, která je spojena s účinkem rhizosférického priming efektu (Zhu et al., 2014).

Aplikace minerálních dusíkatých hnojiv redukuje priming effect tím, že omezuje přirozený půdní limit dusíku a ovlivňuje vstupy rostlinného uhlíku rhizosféry. Tím, že se vyhýbá potřebě dusíku odvozeného z rhizosféry, zemědělské systémy závislé na minerálních dusíkatých hnojivech potlačují potenciálně důležitý zdroj přirozené plodnosti (Kuzyakov, 2002).

#### **4.3.5 Půdní mikroorganismy**

Půdní mikroorganismy jsou odpovědné za cyklování živin, regulaci výměny plynů, vyvolávání mikroagregace a za změny biochemického půdního prostředí (White et Rice, 2007).

Rotace plodin a rozmanitost plodinových sekvencí jsou jedním z klíčových faktorů plynulosti bakteriálních sdružení a druhové diverzity. Biomasa s vysokým obsahem bílkovin ze sójových a luštěninových plodin údajně produkuje více labilních reziduí než obiloviny s vysokým poměrem C:N, jako je kukuřice. Tyto rezidua jsou důležitá pro rozvoj mikroorganismů (Sarrantonio et Gallandt, 2003).

Větší rozmanitost sledů plodin a krycí plodiny podporují větší rozvoj mikrobiální biomasy a podporují komunitní struktury založené na houbách, které tvoří více organického materiálu vzniklého mikrobiálně (Six et al., 2006).

Účinnost využití uhlíku v půdní mikrobiální komunitě může navíc reagovat na dostupnost živin, což často snižuje relativní míru respirace půdy při vyšší dostupnosti dusíku (Blagodatskaya et al., 2014).



Ashworth et al. (2017) shrnuli, že mikrobiální diverzita je rozdílná díky množství abiotických a biotických podmínek panujících na dané lokalitě. Existuje rovněž přímá vazba mezi řízením systému hospodaření s plodinami a strukturou mikrobiální komunity. Správa živin (anorganická hnojiva vs. živočišný hnůj) může přímo řídit strukturu mikrobiální komunity tím, že změní chemické vlastnosti půdy (pH půdy) a cyklování živin anebo přivede vlastní inokulum mikrobů (s exkrementy). Naopak polní management může také nepřímo limitovat mikrobiální populaci ovlivněním rychlosti a množstvím mikrobiálního i fotosyntetického uhlíku a následného substrátu pro aktivitu půdních enzymů nebo fyzikálních vlastností půdy, jako je agregátní stabilita, objemová hustota a infiltrace vody.

## 5 Kukuřice setá (*Zea mays* L.)

### 5.1 Taxonomické zařazení dle Hoskovce (2008)

Říše: *Plantae*

Podříše: *Tracheobionta*

Oddělení: *Magnoliophyta*

Třída: *Liliopsida*

Podtřída: *Commelinidae*

Řád: *Poales*

Čeleď: *Poaceae*

Rod: *Zea*

Druh: *Zea mays*

### 5.2 Historie vzniku moderní kukuřice

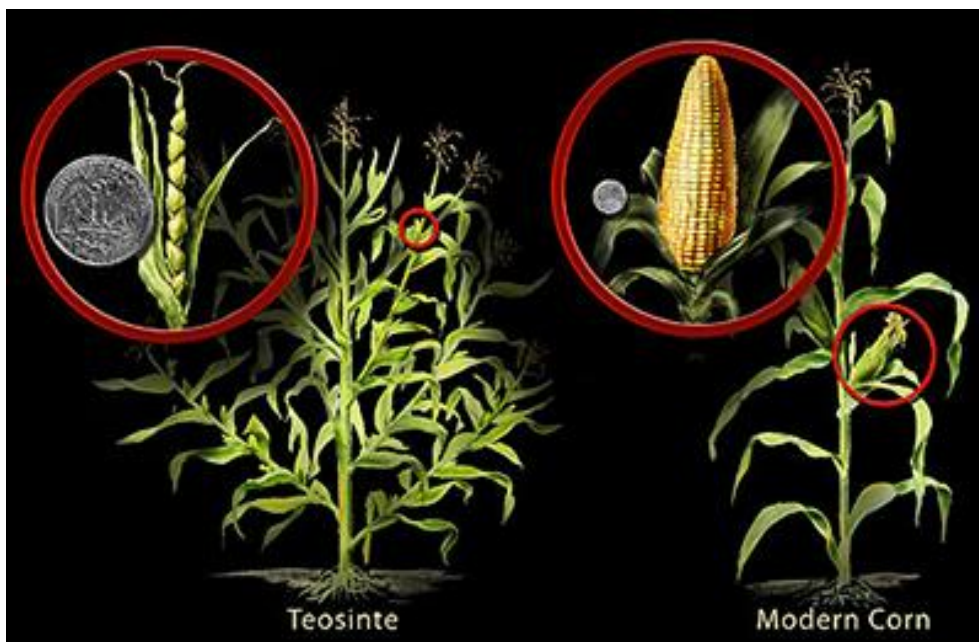
Zatímco terestrické rostliny existují na Zemi téměř 500 milionů let, forma kukuřice, která je dnes zcela zažitá, existuje přibližně 6000 let. Produkční formu kukuřice z traviny zvané *Teosinte* vyšlechtila Mayská civilizace na území dnešního Mexika. Stala se hlavním jídlem pro většinu amerických a karibských kultur, mezi nimi byly známé civilizace-Mayové, Inkové, Aztékové nebo Anasazi, kteří si kukuřice velice cenili a uctívali ji jako dar, který dává život a sílu. Evropané, kteří navštívili Ameriku (mezi lety 1500-1600) ji poté rozšířili do celého světa. Mayové tuto rostlinu zdomestikovali díky jejím výhodným vlastnostem - nutriční hodnota,

snadná skladovatelnost a přeprava, schopnost rostlin adaptovat se na různé podmínky stanoviště. „Dnešní“ forma rostliny vznikla v podstatě náhodou modifikací několika genů, které měly primárně řídit umístění samičích květů a povahu semen v *Teosinte* (McCann, 2005).

První hybridy se začali využívat v roce 1930. Kukuřice se ve světě pěstuje od 40° jižní šířky až po 56° severní šířky (Skládanka, 2006).

Kukuřice se stala sladkou, vysoce výnosnou plodinou, která dnes představuje tisíce let selekce a stala se v minulém století zcela závislou na přísunu minerálních hnojiv. Touto domestikací kukuřice ztratila schopnost přizpůsobit se ekologickým podmínkám stanoviště (Fox, 2018).

### 5.2.1 Rozdíl mezi *Teosinte* a moderní kukuřicí



Obr. 1: Rozdíl habitu *Teosinte* a kukuřice seté (Fuller, 2006)

Kořenový systém *Teosinte* je oproti kukuřici zcela odlišný, a tedy stejný jako má většina trav. Jak je z obrázku č. 1 patrné, klasy *Teosinte* obsahují pouhých 5 - 12 zrn, z nichž každé je těsně utěsněno v tvrdém obalu. Rostliny vlastní nespočet rozvětvených tenkých adventivních kořenů, které jsou vhodnější pro zachytávání živin a vody, i v méně přístupných formách. Se změnou kořenového systému došlo i ke změně druhové diverzity hub rhizosférické mikroflóry, naopak bakteriální komunity zůstaly podobné (Fox, 2018).

### 5.3 Obecná charakteristika

Kukuřice patří k jednoletým rostlinám. Jedinci dosahují výšky 1 - 3(4) metry. Stonek je přímý, jednoduchý, jazýček uťatý, 3 - 5 mm dlouhý. Listy jsou podlouhle kopinaté s plochou čepelí, která je širší než 4 cm (Hoskovec, 2008).

Odnožovací schopnost u kukuřice je potlačena, u některých hybridů se vůbec nevyskytuje (Skládanka, 2006).

Samičí květy mají tvar válcovitých palic a nachází se v úžlabí dolních a prostředních listů. Až do doby zralosti jsou obalené pochvami, samčí květy se nachází na vrcholové latě v lichoklasech. Květenství jsou jednodomá. Vykvétá od července do října. Plod je neokoralá obilka (Hoskovec, 2008).

### 5.4 Ekologické a agrotechnické požadavky

Oblast pěstování ovlivňuje nároky na půdu. Ve výrobní oblasti bramborářské a chladnější řepářské kukuřice preferuje půdy hluboké, hlinité, výhřevné s dostatkem humusu. Ideální expozice je jižní. Toleruje půdy slabě kyselé nebo slabě zásadité. Na půdách s pH <5 se sníží výnos až o 30 %. Udržování optimálního pH půdy také zajišťuje, že živiny jsou snadno dostupné a maximalizují růst. Vhodná hodnota pH je v rozmezí 6 - 7,2 (měřeno ve vodě). Kukuřice není tolerantní k nízkému (<5,0) pH půd. Hliník ve vyšší koncentraci působí na kukuřici toxicky, a to zejména tím, že snižuje vývoj kořenů. Pro zlepšení pH a celkové struktury půdy je vhodné využít vápno nebo sádrovec. Síra ze sádrovcových komplexů tvoří vazby s volným hliníkem a snižuje toxicitu rostlin (YARA, 2016).

Nevhodné jsou půdy kamenité, zamokřené, mrazové kotliny nebo pozemky ohrožené erozí (Skládanka, 2006).

Dobrá struktura půdy je nezbytná pro kvalitní rozvoj kořenů a dobrý růst kukuřice je obzvláště citlivá na zhutňování půdy (YARA, 2016).

Při porovnání růstu kukuřice i *Teosinte* na půdě s větším a menším podílem organické složky, oba druhy prospívají více na půdně s větším podílem organické hmoty. Cílem genetických inženýrů je najít geny u *Teosinte*, které kódují právě tuto vlastnost a zabudovat je do nových odrůd kukuřice. Vývoj takového druhu, který by mohl být komerčně využitý ve velkém množství, trvá 10 - 20 let, avšak tento krok by napomohl rozvoji ekologického zemědělství, které si zakládá právě na velkém podílu organické hmoty v produkčních půdách (Fox, 2018).

Průměrná teplota lokality by měla být kolem 13 °C. Rostliny jsou citlivé na kolísání teplot a náročné na vláhu v průběhu vegetačního období. Rychlost vzcházení rostlin záleží na příjmu vody. Minimální teplota pro klíčení je 6 °C. Aby započal proces klíčení při teplotě 12 °C, je potřeba 75 % obsah vody v půdě. Naopak nadbytek vláhy a nedostatek vzduchu v půdě se projevuje světláním listů a tvorbou zakrnělých palic. Při optimální teplotě rostlina vzejde za 4 - 5 dnů. Pro tvorbu vegetativních orgánů je potřeba teplot okolo 10 °C, pro tvorbu generativních orgánů je potřeba teplot okolo 12 °C (Skládanka, 2006).

Kratší světelný den sice urychluje kvetení, ale zmenšuje výšku rostlin a počet listů. Pro efektivní využití dopadajícího světla je důležité rozmístění rostlin v porostu. Pozdní výsev se projevuje na špatném nasazení palic (Skládanka, 2006).

Rozestup, hustota výsadby a rotace s jinými plodinami pomáhají zvýšit výnos kukuřice minimalizací výskytu chorob, škůdců a plevelů. Regulace plevelů je nezbytná pro zajištění dobrého, konkurenčního růstu již od vzcházení (YARA, 2016).

Velmi časově náročné komerční plodiny, jako je kukuřice, byly navrženy tak, aby se jim dařilo ve velkých monokulturách, kde jsou sety do těsných řad. Jejich kořeny jsou pravidelně zásobeny živinami a vodou. Selekcí těch jedinců, kteří rostou nejlépe za těchto podmínek, se postupem času změnila kořenová architektura. Moderní kukuřice má málo silnějších kořenů, které rostou rovně dolů, tak jako by byly všechny uvnitř úzké trubky. Tato vlastnost umožňuje kukuřici efektivně transportovat spoustu živin, aniž by soutěžily s rostlinami ve vedlejších řádcích (Fox, 2018).

Kukuřice je schopna růst téměř až do plné zralosti díky asimilačnímu aparátu, jelikož patří mezi rostliny C4, které umí lépe hospodařit s uhlíkem přijímaným v molekulách CO<sub>2</sub> (Skládanka, 2006)

Cílem každého zemědělce je vysoký plodinový výnos, který je ovlivňován mnoha faktory. Jedná se zejména o faktory klimatické a půdní, které člověk dokáže více či méně ovlivňovat svými vhodnými nebo nevhodnými agrotechnickými zásahy. Velkou roli hraje výběr správné odrůdy adaptované na dané pěstební podmínky lokality. Rostliny kukuřice jsou vysazovány v hustotě umožňující vývoj jednomu klasu na jedné rostlině. Při vzniku nových genetických odrůd je stále tlak na maximalizaci počtu zrn na klasu a na zvyšování hmotnosti zrna. Hmotnost zrna se dá ale také ovlivnit správnou výživou (YARA, 2016).

## **5.5 Základní členění kukuřice seté**

### **5.5.1 Kukuřice na siláž**

Kvalitní siláž lze vyrobit právě z kukuřice, protože v době sklizně obsahuje vysoké procento sušiny a má vynikající energetickou hodnotu. Při pěstování kukuřice je snaha získat maximálně kvalitní produkt-výnos + nutriční hodnota. V době sklizně 30-35 % sušiny. Při výrobě je nutné dodržovat několik aspektů – délka řezanky, řádné udusání, rychlá sklizeň při správném poměru vody a sušiny s okamžitým uskladněním do silážního žlabu, kde dochází k vytvoření anaerobního kyselého prostředí (pH 4) s mléčným kvašením (Kůst, 2009).

### **5.5.2 Kukuřice na zrno**

Kukuřice na zrno se sklízí ve fyziologické zralosti, kdy se obsah sušiny pohybuje mezi 60 - 62 %. Odborně je tato fáze nazývána žlutou zralostí, kdy zrno je tvrdé, lesklé a na bázi má načernalou vrstvu, která signalizuje přerušování ukládání živin do něj. Optimální sklizňová vlhkost je do 30 %. Při vyšší vlhkosti dochází k poškození zrna, a tedy ztrátě výnosu. Po sklizni se zrno musí vysušit na požadovanou standardní vlhkost 14 %, nebo je konzervováno (Kůst, 2009).

## **5.6 Využití kukuřice**

Jak v dávných dobách, tak i dnes se jedná se o ceněnou obilninu, ze které se vyrábí mouka, kaše, olej, některé pochutiny (popcorn, lupínky), nebo whisky. Adam Huber (osobní lékař Rudolfa II.) ji v roce 1596 doporučoval k potírání ran a vředů, proti horkosti se užívala šťáva z listů. Jedná se o plodinu s největší světovou produkcí-přibližně 700 milionů tun ročně (Hoskovec, 2008).

Další využití kukuřice je velmi rozmanité, a to od krmiva pro hospodářská zvířata přes užití ve škrobárenství po stále se rozvíjející výrobu bioetanolu. V průmyslu má využití ve farmacii, kosmetice, papírenském průmyslu, při výrobě barev a laků, v gumárenském průmyslu, či při výrobě pesticidů (Kůst, 2009).

## 6 Trichoderma harzianum

Využití druhu *Trichoderma harzianum* z kmenu *Ascomycota* v podpoře pěstování zemědělských plodin i zahradních rostlin patří dnes ke slibně se rozvíjejícím alternativním směrům. Půdní houba je využívána zejména díky těmto vlastnostem:

- „Rostlinné antibiotikum“ - houba je schopna ochránit rostlinu před ostatními houbovými patogeny
- Schopnost enzymaticky narušovat vazby a zpřístupňovat rostlinám těžce dostupné živiny (P, K, Mg, Fe, Mn, Zn). Zejména fosfor, který je základním makrobiogenním prvkem, nezbytný pro všechny metabolické procesy růstu a vývoje rostlin. Je jedním z rozhodujících faktorů tvorby výnosu (Mikanová a Šimon, 2011).

### 6.1 Obecná charakteristika

#### 6.1.1 Taxonomické zařazení dle MycoBank

Říše: Fungi  
Kmen: Ascomycota  
Podkmen: Pezizomycotina  
Třída: Sordariomycetes  
Řád: Hypocreales  
Čeleď: Hypocreaceae  
Rod: *Trichoderma*

#### 6.1.2 Objevení druhu

První zmínka o rodu *Trichoderma sp.* se datuje do roku 1794. Druhy bylo po řadu let obtížné morfologicky rozeznat, a tak byla navržena redukce na pouhý druh *Trichoderma viride*. Až v roce 1969 započal koncept identifikace jednotlivých druhů skupinou mikrobiologů, mezi nimiž je nejznámější M. A. Rifai, který rovněž v tomto roce rozeznal a pojmenoval druh *Trichoderma harzianum*. Dnes je známo více než 100 fylogeneticky rozlišených druhů rodu *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2006).

#### 6.1.3 Popis rodu a ekologické vlastnosti

*Trichoderma sp.* je rod půdních mikromycet, které jsou přítomny téměř ve všech typech půdy. V půdě jsou většinou nejčastějšími kulturními houbami. Vyskytují se také na mnoha

dalších stanovištích. Snadno kolonizují kořeny rostlin a jsou schopny být součástí rhizosféry (Mycorizo, 2015).

Jsou to úspěšní kolonizátoři stanovišť, účinně bojují proti svým konkurentům. Jejich pozitivní vlastností je degradabilita, rozkládají většinu heterogenního rostlinného substrátu (Schuster et Schmoll, 2010). Úspěšná kolonizace stanoviště jakýmkoli organismem je obecně závislá především na svém potenciálu bránit svojí ekologickou niku, prospívat a prosperovat navzdory kompetici o živiny, prostor a světlo. Většina hub a zvláště těch z rodu *Trichoderma sp.* jsou mistry této hry. Jejich obranné mechanismy zahrnují jak enzymatické, tak chemické zbraně, které dělají z druhu *Trichoderma sp.* účinné mykoparazity, antagonisty a biokontrolní jednotky. Tyto vlastnosti lze využít při biologickém boji proti rostlinným patogenům. Fungicidní přípravky lze aplikovat přímo s jedinci, nebo pouze s jejich metabolity (Vinale et al., 2009).

Obecně se vztah mezi rostlinou a houbou nazývá mykorhiza. Termín mykorhiza vyjadřuje symbiózu kořenů vyšších rostlin se specifickou skupinou půdních hub. Jedná se o kontaktní morfoloogickou a fyziologickou interakci mezi mykobiontem a fotobiontem. Tato spolupráce byla potvrzena u 90 % krytosemenných rostlin. Do zbývajících 10 % patří například zástupci z čeledí *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Caryophyllaceae*, *Amaranthaceae*, *Juncaceae*, *Cyperaceae*. Nejčastější zástupci mykorhizních hub pochází z čeledí *Basidiomycetes*, *Ascomyceten* a *Zygomycetes* (Čuříková a Látr, 2006).

*Trichoderma harzianum* se řadí do ektotrofní mykorhizy, kdy houbové mycelium tvoří na povrchu kořenů ochranný plášť nazývaný Hartigova síťka. Hyfy prorůstají pouze do mezibuněčných prostor kůry kořenů. Interagující rostliny nemají kořenové vlášení, funkci tenkých kořínků přebírají hyfy hub a mohou se plošně rozrůstat až několik metrů (Čuříková a Látr, 2006).

Interakce s rostlinami je výhodná díky schopnosti houby vést rhizosféru k zesílení kořenů jejich rychlejšímu množení buněk, schopnosti podporovat lepší růst rostlin a ochraně rostlin proti toxickým chemikáliím, proti nimž je *Trichoderma sp.* sama o sobě pozoruhodně rezistentní. Z těchto důvodů je *Trichoderma sp.* slibným činitelem, který lze aplikovat při sanacích znečištěné půdy a vody, a to inokulací spor na vhodné remediační rostliny (Harman et al., 2004).

Interakce mezi rodem *Trichoderma sp.* a rostlinami byla popsána, jako symbiotický než parazitický vztah, kde houba zaujímá nutriční mezeru a rostlina je chráněna před onemocněním (Vinale et al., 2008).

Nehls et al. (2001) popisují vztah jako mutualistický, během něhož dochází k metabolickým změnám tkání hostitele, které vytvoří příznivější prostředí pro symbiont. V mykorrhize putují rostlinné asimiláty houbě výměnou za základní živiny a vodu pro rostlinu. Koncentrace hexózy v apoplastu by měla figurovat v metabolismu hub během symbiózy, monosacharidy figurují jako živiny.

Harman (2000) uvádí, že po aplikaci spor do půdy *Trichoderma sp.* kolonizuje kořeny a tedy, že spory klíčí a rostou především v kontaktu s kořeny rostlin. Spory aplikoval k většině známých zemědělských plodin i k okrasným květinám a zjistil, že houba kolonizuje všechny typy rostlin s výjimkou bavlníku. Na kolonizaci neměly vliv typ půdy, zrnitost, pH, organická složka, ani geografická poloha pokusu. Kolonizace proběhla vždy úspěšně nezávisle na typu aplikace: ošetření semen, granulová forma na povrchu půdy, granulová forma v brázdě, mokrou formou, jako složka ve výsevním substrátu.

Účinnost *T. harzianum* nelze zachovat efektivní po více let (Buysens et al., 2016).

*Trichoderma* není druhově specifická. Kolonizuje všechny plodiny bez ohledu na jejich rotace (Buysens et al., 2016).

Aktivita *Trichodermy* je nejlepší za podmínek, které jsou vyhovující i pro rostliny - mírná teplota i vlhkost (Buysens et al., 2016).

*Trichoderma* je často aplikována na povrch semen. Rozvine se na a v kořenech. Aplikace fungicidů na listy pravděpodobně neovlivní její rozvoj. Bylo pozorováno snížení účinnosti houby při aplikaci fungicidů na povrch semen. Postupy hospodaření s plodinami a agrotechnika mají malý vliv na aktivitu hub (Buysens et al., 2016).

#### 6.1.3.1 Souhrn přirozených vlastností druhu *Trichoderma sp.*, které lze využít v biologické ochraně dle Harmana (2000)

Každý druh a posléze i kmen rodu *Trichoderma sp.* disponuje jinými vlastnostmi. I přesto je tento rod velmi univerzální v biologickém boji proti rostlinným patogenům.

##### a) Mykoparazitismus

Mykoparazitismus byl dlouho považován za důležitý mechanismus účinku v biologické ochraně. Je to komplexní proces, který zahrnuje kontakt mezi houbami. Patogen je napaden, dochází k enzymatickému rozpuštění jeho buněčných stěn. Zapojují se například chitinázy, glukonázy a proteázy. Tento proces boje je velmi složitý. Pro příklad *Trichoderma harzianum* dokáže najednou využívat více než obraných 20 genů a genových produktů v komplexu regulační kontroly. Většina těchto genových produktů je vzájemně synergická a slučuje se do jednoho mechanismu, který napadá a získává výživu z napadených hub (Chet, 1987).



## **b) Produkce antibiotik**

O důležitosti antibiotik v biologické ochraně není pochyb. Již v roce 1998 uvedli Sivasithamparam a Ghisalberti seznam 43 antibiotických látek produkovaných rodem *Trichoderma sp.* Nejčastěji zmiňovanými látkami spojenými s obranou funkcí jsou alkylpyrony, izonitrily, diketopiperaziny nebo seskviterpeny. Konkrétní antibiotika, která mohou být důležitá pro jeden druh *Trichoderma*, nemusí být důležitá pro další druhy. Antibiotika jsou dále v synergickém vztahu s enzymy degradující buněčné stěny.

## **c) Kompetice o živiny a prostor**

Získat živiny a prostor, je nezákladnější životní cíl všech organismů, je to boj o vlastní přežití a snaha vyprodukovat další generaci. S tímto aspektem biologická kontrola počítá. Pokud se prosadí podporované mikroorganismy, na patogeny nezbyde ani prostor, ani živiny.

## **d) Tolerance k abiotickému i biotickému stresu díky podpoře rozvoje kořenového systému a vývoje rostlin**

Mikroorganismy mají vliv na dokonalejší růst kořenového systému i následně na rozvoj nadzemních orgánů. Rostlina je tolerantnější k suchu a dokonaleji hospodaří s dusíkem, je zdravější, a tedy odolnější vůči škůdcům.

## **e) Solubilizace a sekvestrace anorganických rostlinných živin**

V půdě se rostlinné živiny podrobují složitým přechodům z rozpustných do nerozpustných forem, které silně ovlivňují jejich přístupnost a absorpci kořeny. Tyto procesy týkající se kolebů živin silně ovlivňují právě mikroorganismy (Altomare et al., 1999).

Příkladem je rod *Pseudomonas spp.*, který produkuje sloučeniny s vysokou afinitou k železu. Vzniklá chelatizovaná forma je pro rostlinné patogeny nepřístupná, avšak pro rostliny přístupná je. Naopak rod *Streptomyces spp.* dokáže zoxidovat rostlinám přijatelnou formu manganu  $Mn^{2+}$  na jimi nepřístupnou formu a tím může docházet k inaktivaci důležitých ochranných mechanismů rostlin (Baker et al., 1986).

Jak již bylo zmíněno, *Trichoderma harzianum* pomáhá zvyšovat účinnost využití dusíku u kukuřice. Altomare et al. (1999) v in vitro studiích prokázali, že *Trichoderma harzianum* zpřístupňuje fosfor z mletého fosfátu, zinek, mangan  $Fe^{3+}$ , mangan  $Mn^{4+}$ , železo  $Fe^{3+}$  nebo měď  $Cu^{2+}$ .

## **f) Indukovaná odolnost**

Přítomnost mikroorganismů na povrchu rostlin podporuje vyšší odolnost vůči patogenům na místech penetrace hyf přátelských hub. V těchto místech dochází k zvýšené enzymatické aktivitě.

### g) Inaktivace enzymů patogenů

Konidie některých kmenů *Trichoderma harzianum* při aplikaci na listy produkují serinovou proteázu, která je schopna degradovat enzymy degradující enzymy rostlinných buněčných patogenů a tím snížit schopnost patogenu infikovat rostlinu. Příkladem je hypotéza, že proteázy mohou být přímo toxické pro klíčení patogenu, a tudíž mohou inaktivovat jeho enzymy (Elad et Kapat, 1999).

#### 6.1.3.2 *Trichoderma sp.* a její patogenita

Vedle takových dlouho známých a dobře prostudovaných patogenních hub, jako je *Candida*, *Aspergillus* nebo *Cryptococcus*, také rod *Trichoderma* patří mezi zákeřné lidské patogeny, které představují vážnou a často smrtící hrozbu, zvláště u osob infikovaných HIV a dalších imunokompromitovaných pacientů. Patří k objeveným houbovým patogenům, které nejsou často správně rozpoznány nebo jsou diagnostikovány ve stádiu, kdy už je problematičtější zajistit účinnou léčbu (Walsh et al., 2004).

Již Larsen et al. (1998) zjistili, že druhy *Trichoderma sp.* způsobují dýchací problémy v důsledku produkce a vylučování těkavých organických sloučenin.

Kredics et al. (2003) publikovali, že jedinci rodu *Trichoderma sp.* mohou infikovat imunokompromitované pacienty po transplantacích, nebo nemocné lidi trpící leukémií či HIV. Příkladem jsou druhy *Trichoderma citrinoviride*, *Trichoderma longibrachiatum* a rovněž také *Trichoderma harzianum*. Léčba takovéto houbové infekce je komplikovaná zejména velkou odolností patogenů proti běžně podávaným antifungálním farmakům.

V některých případech je i *Trichoderma harzianum* rostlinným patogenem. A to zejména v případě klasové hniloby kukuřice. Houba vegetuje ve volných místech mezi zrny a často pokrývá celý klas. K napadení dochází obvykle po poranění vzniklém během růstu (ptáky). Takto vzniklé mechanické rány jsou vstupní branou pro volný průchod spor hub přenášených větrem a srážkami. Díky zelenému zbarvení je snadno zaměnitelná za jiné plísně jako například *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cladosporium spp.* (Vincelli, 2017).

## 6.2 *Trichoderma harzianum*

*Trichoderma harzianum* je všudypřítomná asexuální půdní mikroskopická houba (Harman et Kubicek, 1998).

### 6.2.1 Popis druhu

Většina buněk je mnohoaderných, některé vegetativní buňky mají více než 100 jader. Různé asexuální genetické faktory, jako jsou parasexuální rekombinace, mutace a další procesy přispívají k velké diverzitě mezi jádry v jediném organismu. Proto jsou tyto houby vysoce adaptabilní a rychle se vyvíjejí. V genotypu a fenotypu divokých kmenů existuje velká biodiverzita, a proto se stále rozvíjejí nové neznámé kmeny (Mycorizo, 2015).

*T. harzianum* lze při identifikaci lehce rozpoznat od ostatních kolonií půdních hub. Kolonie má na začátku laboratorního pozorování bílou barvu, která se po několika dnech změní na její typické žlutozelené zbarvení. Po 7 - 8 dnech se barva změní na tmavě zelenou a objevují se kompaktní konidiofory. Charakteristické pro konidiofory je, že vytváří větve v 90 ° podél délky hlavní osy, ze které vycházejí. Fialidy se zvětšují ve středu a drží válcovitou strukturu. To formuje větve směrem ke špičce a sekundární větve mají tendenci být drženy v charakteristickém tvaru baňky, hustě seskupeny na hlavní ose (Kamala et Indira, 2014).

Souhrnné druhy *T. harzianum* mohou být dále diferencovány na základě makroskopických charakteristik (barevných konidií, sporulačních vzorců a hustoty a mikroskopických charakteristik (struktura a uspořádání fialidů, konidiální velikosti a tvaru) (Kamala et Indira, 2014).

---

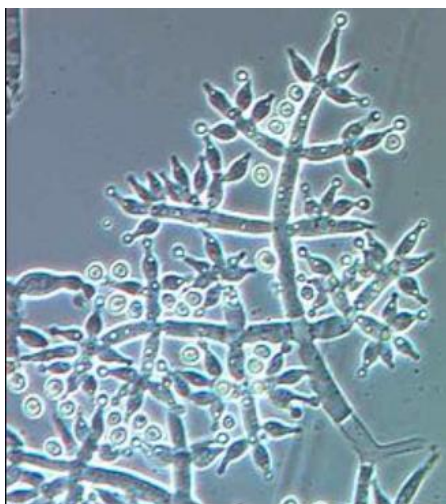
**fialida**-typ konidiogenní buňky, tj. specializované buňky tvořící blastické konidie

**kmen**-izolát mikroskopické houby udržovaný v čisté kultuře na živných médiích

### 6.2.2 Morfologie druhu

Rovnoměrně rozvětvené konidiofory často společně tvoří více než 150 µm dlouhé terminální větve. V těchto systémech se kratší větve párují s nejdelšími, které se tvoří v blízkosti základny systému a nejbliže k hlavní ose. Větve směřují ke špičce a sekundárním větvím, které mají tendenci držet se v úhlu 90 ° od osy, ze které vycházejí. Od špičky rozvětovacího systému je úhel vždy menší než 90 ° vůči výše uvedené ose. Typicky jsou fialidy v přeslenech po 2 - 4 s úhlem 90 ° vzhledem k hyfám, ze kterých vznikají. Fialidy mají tvar láhve se zvětšeným středem a ostrým zúžením pod špičkou, aby vznikl úzký krk s mírným zúžením u báze. Terminální fialidy jsou buď v přeslenech nebo soliterně, typicky cylindrické nebo alespoň neviditelně nabobtnalé uprostřed a jsou delší než subterminalní fialidy. Nebyly pozorovány filialidy interkalární – nacházející se mezi jinými fialidy (Samuels et al., 2002).

Z obrázku č. 2 je jasně viditelný výše detailně popisovaný habitus druhu *Trichoderma* sp.



Obr. 2: Habitus druhu *Trichoderma* sp. pod elektronovým mikroskopem (Kumar, 2010)

### 6.2.3 Základní kultivační informace

Optimální teplota pro lineární růst na bramborovo dextrózovém agaru (PDA) je 30 °C, na syntetickém živném agaru (SNA) je 25 °C.

Při kultivaci ve 30 °C ve tmě na PDA agaru po 96 hodinách konidie zaberou většinu místa na Petriho misce. Konidie tvoří hustý střed, který je obklopen zvlněnými koncentrickými kruhy. V mnoha případech jsou kolonie konidií nejdříve žlutá, ze které se stává žlutozelená.

Při kultivaci ve 30 °C ve tmě na kukuřično-dextrózovém agaru (CMD) po 96 hodinách konidie rovněž zaberou většinu místa na Petriho misce. Kolonie barvy tmavě zelené je rovnoměrně rozptýlena a nemá hustý střed.

Při kultivaci ve 30 °C ve tmě na bramborovo-dextrózovém agaru (PDA) se zelené konidie objevují již po 24 hodinách, nejvíce však po 40 - 48 hodinách (Samuels et al., 2002).

## 6.3 Biologická ochrana rostlin proti patogenům

Hlavní užitečná vlastnost rodu *Trichoderma* spp. není schopnost produkce antibiotik, ani schopnost vyvířet parazitické interakce, ani schopnost přímého ovlivňování patogenů. Jde zejména o vlastnost vyvolávání systémové rezistence, která je zprostředkována změnami exprese rostlinného genu (Shoresh et al., 2008).

*Trichoderma harzianum* produkuje gen qid74, který kóduje proteiny v buněčné stěně bohatý na cystein, který má důležitou roli při vytváření hydrofobních povrchů a v buněčné ochraně (Samolski et al., 2012).

Adaptabilnější houby a houbám podobné rostlinné patogeny odeberou většinu živin a zaberou většinu místa na kořenech rostlin, výsledkem je snížení úspěšnosti méně adaptabilních patogenů, a tedy i snížení rostlinných nemocí (Siemering et al., 2016).

*Trichoderma spp.* je využívána zejména při biologické kontrole několika rostlinných patogenních hub, např. *Fusarium*, *Pythium*, *Sclerotinia*, aj. (Harman et Kubicek, 1998).

Ne každý druh a kmen rodu *Trichoderma spp.* je účinný pro kontrolu všech patogenů – jeden druh může být v konkrétním případě účinnější než jiný, anebo naopak může být do značné míry neúčinný proti některým houbám (Mycorizo, 2015).

Mezi různými druhy *Trichoderma* se ukázalo, že *Trichoderma harzianum* je nejvíce účinným antagonistou proti fytopatogenním houbám (Siddiquee et al., 2009).

Přítomnost *T. harzianum* podporuje všeobecnou obranyschopnost proti rostlinným chorobám a zvyšuje imunitu-získaný odpor (Siemering et al., 2016).

*Trichoderma harzianum* je fakultativní parazit širokého spektra hub (*Fusarium*, *Botrytis*, *Glomus*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia*), ale může také žít jako saprofyt (Brožová, 2004).

Některé izoláty těchto hub jsou ideální pro hromadnou výrobu přípravků proti houbovým chorobám rostlin jako alternativu k chemickým pesticidům (Kamala et Indira, 2014).

Fungicid lze aplikovat na listy, na semena, nebo jako ošetření půdy proti houbovým patogenům (Mycorizo, 2015).

Vysoce adaptabilní divoké kmenové druhy, které nejsou využívány v biokontrolách, jsou často heterokaryotické (obsahují jádra odlišného genotypu v jediném organismu, a proto jsou vysoce variabilní), druhy využívány v zemědělství by měly být homokaryotické (jádra jsou všechna geneticky podobná nebo identická). Spolu s přísnou kontrolou variací genetického driftu, umožňuje tyto komerční kmeny geneticky odlišit a neměnit (Mycorizo, 2015).

Exsudáty hub obsahují řadu chemických složek (jako jsou peptidy, proteiny, jednoduché aromatické sloučeniny, pyrony, butenolidy, těkavé terpeny a isokyanové metabolity), které vyvolávají odpovědi na obranu rostlin (Woo et al., 2006).

*Trichoderma spp.* potlačuje houbové patogeny vylučováním enzymů, těkavých organických sloučenin (Kamala et Indira, 2014) nebo produkcí netěkavých antibiotických látek (Kexiang et al., 2002). Obě varianty zabraňují rozvoji patogenních hyf.

Některé kmeny *Trichoderma* jsou ekonomicky důležité v důsledku jejich výroby průmyslových enzymů (celulázy, hemicelulázy) a antibiotik a jejich působení jako biokontrolní agenti proti patogenním houbám rostlin založeným na různých mechanismech, jako je výroba

antifungálních metabolitů, prostorové nebo živinové kompetice, nebo mykoparitismus (Woo et Lorito, 2007).

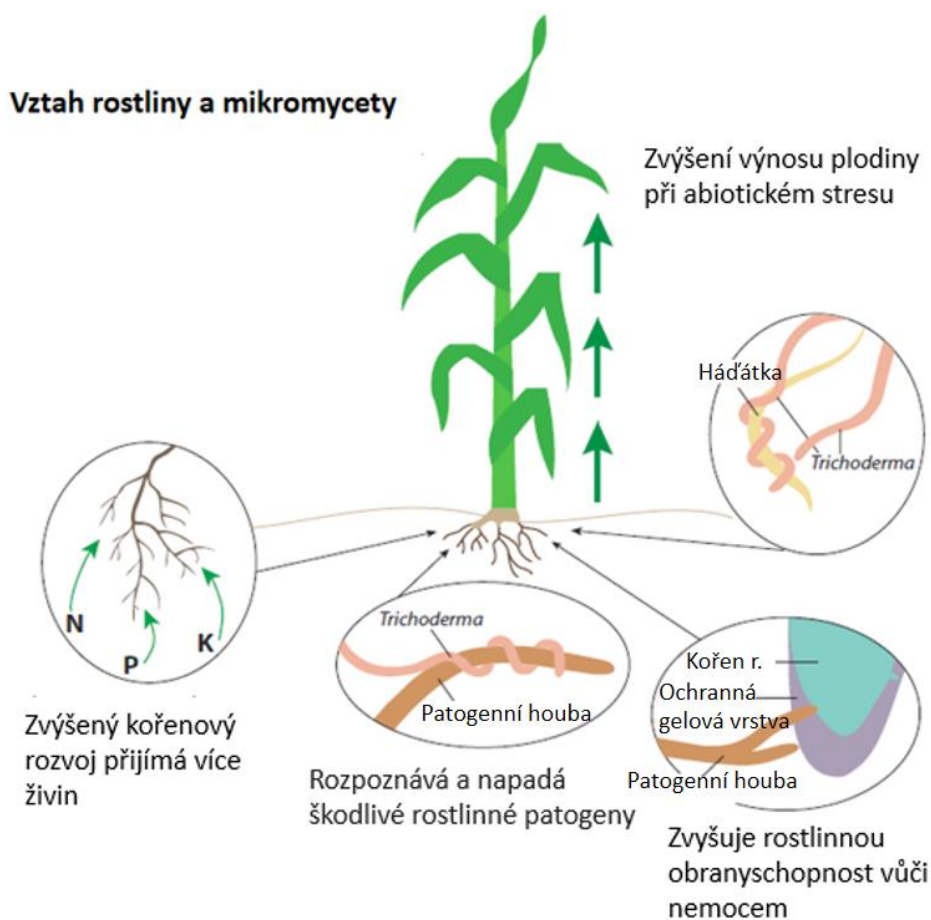
Produkce celulózy a 1,3 - glukonázy je pro tyto houby charakteristická. Je pojena s širokou paletou hub a většina hub tyto látky vylučují do půdního roztoku. Tyto enzymy hrají důležitou roli při enzymatické degradaci buněčných stěn fytopatogenních hub jako je např. *Pythium ultimum* během mykoparazitické interakce. Antagonistický účinek založený na dikultuře *Trichoderma harzianum* a *Pythium ultimum* ukázal, že izoláty *Trichoderma harzianum* významně inhibovaly růst mycelia *Pythium ultimum* v rozmezí 46 - 81 % v závislosti na typu kmenu *Trichoderma harzianum*. Což je významné pro rostlinnou produkci (Kamala et Indira, 2014). Tyto enzymy hrají klíčovou roli při překonávání stěn hostitelských buněk v místech pokusu o penetraci. Benhamou et Chet (1997) uvedli, že do 7 dnů po inokulaci byly buňky *Pythium* úplně degradovány.

Na dlouhodobou ochranu semen a poté zvýšení výnosu rostlin mají vliv dva mechanismy: aktivita rhizosféry a získaná indukovaná systémová rezistence (SAR). Pokud SAR funguje, aplikace biokontrolního činidla na jedné části rostliny poskytne ochranu proti široké škále patogenů na dalších rostlinných částech (aplikace na kořeny - ochrana listů) Harman (2000).

### **Proč dnes nejsou účinné biotechnologie stejně využívány jako chemické látky?**

Existuje mnoho vysoce účinných chemických pesticidů využívaných k ochraně osiva. Jsou známé, ověřené, levnější a snadněji aplikovatelné. Trvanlivost účinné látky na semenech je lepší. Pesticidy zvládnou semena ochránit v širší valenci teplot a dalších nepříznivých podmínkách okolí lépe než mikroorganismy. Biotechnologie lze ale využít na místech, kde je nežádoucí využívat chemické prostředky, na místech, kde se přechází od „tvrdých“ chemikálií k šetrnějším postupům, či v oblastech, kde škůdci začali být rezistentní vůči konvenčním pesticidům (Harman, 2000).

## 6.4 Podpora vitality rostlin



Obr. 3: Vztah rostliny a mikromycety druhu *Trichoderma harzianum* (Siemering et al., 2016)

Z obrázku č. 3 je jasně patrné, že houba roste podél povrchu kořenů těsně pod nejsvrchnějšími buňkami kořene. Živí se půdními mikroby, kteří jsou přitahováni kořenovým systémem a okolní rhizosférou, v níž se nachází rostlinné cukerné exudáty. *Trichoderma harzianum* podporuje co největší diverzitu mikrobiální populace v blízkosti kořenového systému k růstu v kořenových intracelulárních mezerách a v blízkosti povrchu kořenů. Koordinuje obranu proti rostlinným patogenům, háďátkům a proti hmyzu. Zvyšuje příjem živin a tím zlepšuje rostlinnou vitalitu (Siemering et al., 2016).

*Trichoderma harzianum* dokáže chránit rostliny **před napadením háďátky**. Houba napadá vajíčka, sekundární juvenily a některé dospělé nematod. Napadené jedince využijí jako zdroj potravy (Casas-Flores et Herrera-Estrella, 2007).

Harman (2000) uvedl, že rod *Trichoderma spp.* podporuje **lepší růst** rostlin, a to zejména v podmínkách fyziologického, abiotického nebo biotického stresu.

Zvýšená reakce růstu v reakci na přítomnost houby jsou známy u různých druhů rostlin, včetně fazole (*Phaseolus vulgaris* L.), okurky (*Cucumis sativus* L.), pepře (*Capsicum annum* L.), barvínku (*Vinca minor*), nebo petunie (*Petunia hybrida*) (Harman et al., 2004).

Odolnost proti patogenům je v rostlinách zlepšena bez ohledu na biotické i abiotické stresory. Avšak zvýšený potenciál růstu rostlin je dokumentován jen za podmínek abiotického stresu-absence živin, salinita (Siemering et al., 2016).

Houby podporující růst rostlin zvyšují jejich **odolnost proti abiotickému stresu** kvůli rychlejšímu kořenovému růstu, který napomáhá zlepšovat vodní kapacitu rostlin a příjem draslíku (Yildirim et al., 2006).

Pokud rostlina neprochází žádným stresem, přínosy interakce jsou omezeny (Buysens et al., 2016).

*Trichoderma harzianum* produkuje růstový hormon IAA (kyselina indolilactová), který výrazně podporuje **rozvoj nového kořenového systému** rostlin, který díky rychlému množení, *Trichoderma* neprodyšně obalí. Přes tuto „inkrustaci“ se ke kořenům nemohou dostat ostatní houbové plísně. Paralelně na to uvolňuje místo novým kořenům rozkladem těch odumřelých, čímž zpřístupní další živiny, které může přijímat přes houby kořenový systém (Growway-garden, 2016).

*Trichoderma harzianum* stimuluje také zvýšenou produkci rostlinných hormonů a tím rovněž podporuje rychlejší růst a tvorbu nových kořenů. S větším kořenovým systémem dochází k efektivnějšímu využití dusíku, fosforu, draslíku a mikronutrientů (Samolski et al., 2012).

V inokulované půdě Li et al. (2015) detekovali zvýšený podíl organických kyselin: kyselina mléčná, kyselina citronová, kyselina vinná a kyselina jantarová. Kořenové exudáty, jako jsou organické kyseliny, aminokyseliny a cukry do rhizosféry, poskytují zdroje bohaté na uhlík a také vytváří molekulární komunikaci s půdními mikroby, která spouští kořenovou kolonizaci (Bais et al., 2006).

Exudovaná sacharóza v rizosféře pocházející z rostlin je důležitým zdrojem pro buňky hub a je také spojena s kontrolou kolonizace kořenů. Lýza rostlinné sacharózy v buňkách hub je nezbytná pro stimulaci aktivity obranných mechanismů v listech, zvyšuje rychlost fotosyntézy, dále má vliv na lepší aktivitu kořenů a alokaci uhlíku do nich (Vargas et al., 2009).

Výzkum Harmana (2000) potvrdil zlepšený vývoj kořenového systému u kukuřice, avšak výnosy stejné jako u kontroly. Naopak u sóji výnos dosáhl 123 % nárůstu. Počet kořenů kukuřice v hloubce do 25 cm půdy se od kontroly nelišil. Avšak kořeny dosahující větších



hloubek se objevily nejvíce u rostlin ošetřených mikroorganismy. Tuto výhodu rostlina využije zejména v období s nízkým srážkovým úhrnem, a tedy sníží citlivost k abiotickému stresu.

Prodloužení délky kořenů, zvětšení kořenového objemu a zvýšení počtu kořenových špiček umožňuje rostlině udržovat lepší kontakt s půdou. Tato výhoda je užitečná zejména na lokalitách s nedostatkem živin (Yedidia et al., 2001).

*Trichoderma harzianum* podporuje lepší **klíčivost a vzcházení semen** (Siemering et al., 2016). Yedidia et al. (2001) zkoumali reakce rostlin okurek na přítomnost houby *Trichoderma harzianum* v hydroponii. Již 5. den byla sušina kořenů a výhonků vyšší o 25 % a 40 %. Na kořenech byly detekovány zvýšené koncentrace prvků (Cu, P, Fe, Zn, Mn, Na). Na výhoncích byly koncentrace prvků zvýšené zejména u Zn (25 %), P (30 %) a Mn (70 %).

Biomasa rajčat a příjem živin rostlinami se zvýšil po inokulaci půdy populací *Trichoderma harzianum*. Suchá hmotnost semenáčků vzrostla o 31 %, příjem draslíku, železa a zinku rostlinnými výhony se zvýšil o 15 - 40 %. Příjem fosforu, železa, mědi a zinku kořeny byl rovněž vyšší a to o 21 - 73 % oproti kontrole. Naopak nebyl zjištěn žádný pozitivní dopad na příjem dusíku nebo manganu (Li et al., 2015).

Rychlost klíčení semen a růstu rostlin rajčat i tabáku a ředkviček se zrychlila oproti kontrolám po přidání houby *Trichoderma spp.* 8 týdnů po výsadbě byly hmotnosti suchých kořenů a výhonků rajčat o 213 - 275 % a tabáku o 259 – 318 % větší oproti kontrole. (Windham et al., 1986).

*Trichoderma spp.* snadno kolonizuje kořeny rostlin a je schopna být součástí rhizosféry. Je schopna napadnout, parazitovat, nebo jinak získat výživu z jiných hub. Vyvinuly se četné mechanismy jak pro napadání jiných hub, tak pro zvýšení růstu rostlin a kořenů (Mycorizo, 2015).

V půdě dochází u makro- i mikronutrientů ke komplexní dynamické rovnováze solubilizace a insolubilizace, které jsou výrazně ovlivněny půdním pH a přítomnou mikroflórou. Tato rovnováha nakonec ovlivňuje konkrétní prvkovou dostupnost kořenům rostlin pro absorpci (Goldstein, 1995).

Li et al. (2015) zkoušeli in vitro schopnost mikromycety *Trichoderma harzianum* rozpouštět těžce rozpustné sloučeniny. Úspěšně byly rozloženy fytáty,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CuO}$  a  $\text{Zn}$ . Naopak bez úspěchu zůstaly  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  nebo  $\text{MnO}_2$ .

*Trichoderma harzianum* je mikroorganismus u něhož bylo prokázáno, že zvyšuje rostlinný **příjem živin** – makro- i mikroelementů. Tuto hypotézu potvrdili autoři Cai et al. (2013), nebo Li et al. (2015), když zkoumali účinky houby *Trichoderma harzianum* na rostlinách rajčat pěstovaných v půdě i hydroponicky. Po inokulaci se výrazně zvýšil příjem

živin a došlo k nárůstu biomasy. Naopak prokázali, že při deficitu fosforu a zinku *Trichoderma harzianum* dokáže potlačit rozvoj kořenů rajčat, uvolnit fytázu nebo chelatační minerály. Čili že zvýšení nebo potlačení růstu rostlin nastává přímým účinkem houby *Trichoderma harzianum* na vývoj kořenů v kombinaci s nepřímými mechanismy (solubilizace).

*Trichoderma harzianum* hraje důležitou roli při rostlinném příjmu organického fosforu ve formě fytátu, protože vykazuje vysokou fytázovou aktivitu. Fytát je nejobvyklejším zdrojem organického fosforu v půdě (Nenwani et al., 2010).

Fosfor je zvláště důležitý pro rozvoj kořenů a pro produkci plodin (YARA, 2016).

Fosfor je obecně nedostatečný ve většině přírodních půd, protože je fixován jako nerozpustný fosforečnan železitý a hlinitý v kyselých půdách (zejména s pH nižším než 5,0) nebo fosforečnanů vápenatých v alkalických půdách (pH nad 7,0). Nerozpustný fosforečnan vápenatý však může být rozpuštěn a zpřístupněn rostlinám půdními mikroorganismy a aktivitou rhizosféry, o které se předpokládá, že zahrnuje uvolňování organických kyselin (Goldstein, 1995).

Pokud rostlina roste v půdě s výživovým deficitem, dochází ke kompetici s houbami v rhizosféře (de Santiago et al., 2011).

V kompetici o živiny dokáže *Trichoderma* potlačit rozvoj kořenů. Pokud se v půdě nachází živin dostatek, *Trichoderma* rozvoj kořenů podporuje. Mikroorganismy často vykazují vyšší účinnost vychytávání fosforu než kořeny rostlin. Značnou část fosforu v půdě využívají mikroorganismy k budování svých buněk. Takto imobilizovaný fosfor je rostlinám k dispozici až po odumření a lýze buněk (Li et al., 2015).

Vědecky vytvořená modifikace indukovaného genu *qid74* v architektuře kořenů rovněž přispívá ke zvyšování celkového absorpčního povrchu, usnadňuje přijímání živin a translokaci živin ve výhoncích, což vede ke zvýšení rostlinné biomasy s účinným použitím NPK a mikroživin (Samolski et al., 2012).

*Trichoderma spp.* produkuje organické kyseliny, jako je kyselina glukonová, citronová, fumarová, které snižují pH půdy a umožňují **solubilizaci** fosfátů, mikroživin a minerálních kationtů (např. železa, manganu, hořčíku, draslíku), které jsou užitečné pro rostliny (Harman et al., 2004).

Domsch et al. (1980) uvedl, že pH 3,7 - 4,7 je optimální pro maximální produkci biomasy *T. harzianum*.

Železo je nedílnou složkou enzymových systémů a ovlivňuje proteinový metabolismus. Většina železa se alokuje v chloroplastech, kde je vázaná v chelátové formě v hemu. Při nedostatku železa dochází k vzniku chlorózu (Richter, 2004c).

Železo je přijatelné rostlinami v redukované formě  $\text{Fe}^{2+}$ , ale v půdě se především nachází nerozpustné oxydohydroxidové polymery nebo  $\text{Fe}^{3+}$  cheláty, které musí být před příjmem solubilizovány. Většina hub vylučuje specifické chelatační látky, siderofory, koprogen, ferricrocin, které mají schopnost mobilizovat tento prvek. *Trichoderma harzianum* je schopna solubilizovat nepřístupné železo několika mechanismy. Jedná se o chelataci, redukcii a acidifikaci (Li et al., 2015).

Mangan je mikroelement potřebný pro různé fyziologické funkce v rostlinách a hraje významnou roli jak při růstu rostlin, tak při rezistenci na nemoci. Mangan se může vyskytovat v několika oxidačních stavech, ale je dostupný pouze v redukované formě  $\text{Mn}^{2+}$ , vyšší oxidační stavy jsou nerozpustné. (Graham et Webb, 1991).

Oxidační stav půdního manganu závisí jak na půdních podmínkách (hodnoty pH pod 6 snížení příznivé hodnoty a na hodnotách nad 6,5), tak na aktivitě mikroorganismů rhizosféry, které mohou mangan oxidovat nebo redukovat a tím ovlivnit jeho dostupnost. Proto je známo, že mikrobiální interakce s kořeny rostlin hluboce ovlivňuje stav výživy rostlin a z hlediska manganu přinejmenším ovlivňuje odolnost rostlin proti patogenům (Huber et McCay-Buis, 1993).

Forma manganu při nízkém pH zpomaluje vývoj rostlin (YARA, 2016).

Zlepšení růstu rostlin může být částečně důsledkem solubilizace mědi, a tedy zlepšení její dostupnosti. Zpřístupnění tohoto prvku je pravděpodobně způsobené chelatační činností houby. Acidifikace organickými kyselinami není na místě, jelikož v průběhu výzkumu došlo ke zvýšení pH (Li et al., 2015).

Nedostatek mědi se projevuje až v pozdějším období ontogeneze, kdy dochází k odumírání apikálních listů, zastavení růstu a pokles turgoru (Richter, 2004b).

Dusík je důležitým biogenním prvkem působící na výnosy plodin. Stimuluje růst a vývoj, pro rostliny musí být snadno dostupný (YARA, 2016).

Draslík figuruje v celé řadě metabolických procesů, v procesu fotosyntézy, zejména ve světelné fázi a při dýchání. Jeho přítomnost v chloroplastech zvyšuje fixaci  $\text{CO}_2$  (Richter, 2004a).

Draslík, podobně jako dusík, také zlepšuje vývoj plodin. Rostlina během růstu přijímá velké množství draslíku. Přísun draslíku musí být vyvážený k přísunu dusíku. Tento prvek napomáhá minimalizovat účinky poškození mrazem, redukuje poléhání rostlin a je nejdůležitější pro správnou funkci uzavírání stomat. Jeho nedostatek způsobuje ztrátu vody z pletiv (YARA, 2016).

Ahanger et al. (2015) zdůrazňují důležitost přítomnosti draslíku v rostlinné výživě. Nejen že se podílí na mnoha funkcích, jako je aktivace enzymů, antioxidační schopnost, osmotická úprava a vychytávání škodlivých iontů (jako je sodík), ale samozřejmě draslík, jako jeden ze tří nejdůležitějších biogenních prvků, podporuje kvalitní růst rostlin. *Trichoderma* se svojí funkcí zpřístupňování živin by mohla přispět právě k lepšímu přísunu tohoto prvku rostlině bez potřeby větší dávky minerálních hnojiv.

Další významné prvky, které jsou klíčové pro asimilaci a pro podporu dobrého růstu s vysokými výnosy, jsou hořčík, síra a železo (Richter, 2004).

Vápník zajišťuje pevnost rostliny, chrání kořeny, listy i stonek. Rovněž přispívá k zvyšování výnosů kukuřice. Bor zajišťuje nárůst pylu a kvalitní zrno. Zinek je důležitý při fotosyntetické aktivitě (YARA, 2016).

Zvýšenou solubilizaci oxidu železitého (z 0,04 na 0,24  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), oxidu měďnatého (ze 14,2 na 29,2  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) a zinku (z 2,7 na 4,7  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), způsobenou přítomností hub prokázali Li et al. (2015), kdy detekovali zvýšenou koncentraci rozpustných živin v inokulovaném vzorku. V kontrolním vzorku byly živiny téměř na konstantní úrovni. Naopak u fosforečnanu vápenatého nebo oxidu manganického žádná výrazná změna zjištěna nebyla (Li et al., 2015).

Závěrem Li et al. (2015) upozorňují, že není jednoznačné, zda růst rostlin podporuje především zvýšená solubilizace. V interakci rostlina-houba disponují i další podpůrné mechanismy, jako je například regulace rhizosféry mikroflóry.

**Salinita** je jedním z nejdůležitějších a častých abiotických faktorů, které omezují rostlinu v růstu a produktivitě. Způsobuje osmotický stres, mění fyziologické a biochemické mechanismy v rostlinách. Kukuřice je plodina citlivá na zasolené půdy. Výzkum Yasmeen, Siddiqui (2017) prokázal, že *Trichoderma harzianum* zvyšuje toleranci k salinitě. Délka výhonků a kořenů významně klesá s nárůstem koncentrace salinity v půdě. Osivo kukuřice ošetřené houbou *Trichoderma harzianum* vykázalo podstatné zvýšení růstu rostlin kukuřice. Oproti kontrolním rostlinám udržely vyšší relativní obsah vody v buňkách. Dalším důsledkem salinity je značné snížení obsahu fotosyntetického pigmentu a hodnot fotosyntetických atributů. U rostlin ošetřených houbou *Trichoderma harzianum* koncentrace pigmentu a hodnoty fotosyntetických atributů byly větší oproti neošetřeným rostlinám (Yasmeen et Siddiqui, 2017).

Houbová kolonizace může pomoci překonat environmentální stres přes zvýšenou **fotosyntézu**. Mykotická aktivita působí jako rostlinný antioxidant, který ovlivňuje účinnost asimilace u rostlin (Siemering et al., 2016).

Zvýšenou koncentraci chlorofylu indukovanou druhy *Trichoderma spp.* nejen v zasoleném prostředí potvrzuje Lo et Lin (2002).

Inokulované rostliny ve výzkumu Li et al. (2015) vykazovaly méně chlorózy na listech oproti rostlinám kontroly. Vykazovaly vyšší koncentrace dusíku (24 %), železa (83 %) a zinku (109 %).

**Produktivita** plodin může dosahovat až 300 % nárůstu, což bylo zjištěno výpočtem ošetřených ploch s neošetřenými kontrolami a měřením čerstvých / suchých a nadzemních hmotností biomasy, výšky rostlin, počtu listů a plodů (Vinale et al., 2008).

Ve většině případů dosahují pokusy nejlepších výsledků u polních plodin s integrací chemického ošetření semen a biologické ochrany. Proti většině chemických přípravků je *Trichoderma harzianum* rezistentní a nenarušují tak správnou kolonizaci rostlin.

## 6.5 Přípravky na bázi druhu *Trichoderma harzianum*

*Trichoderma spp.* je **součástí biologických hnojiv** (Harman et Kubicek, 1998).

V komerčně dostupných inokulantech jsou využívány zejména druhy *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viriens* a *Trichoderma viride*. Vyráběné inokulanty obsahující různé druhy nebo kmeny mohou působit odlišně za podobných terénních a klimatických podmínek (Buysens et al., 2016).

Důvody propagace přípravků s obsahem *T. harzianum* jsou zejména proto, že je lze produkovat levně, ve velkém množství s vysokou koncentrací, ať už kapalné (voda, olej) nebo suché (granule, pelety, smáčitelné povrchy). Přípravky vydrží dlouhou dobu bez ztráty příznivých účinků (Siddiquee et al., 2009).

Výzkumy naznačují, že *Trichoderma* by mohla být potenciálně prospěšná v rostlinolékařství, u zemědělských plodin (kukuřice, brambory, sója, vojtěška, pšenice), u okrasných rostlin a zeleniny (Buysens et al., 2016).

Nejznámějším přípravkem je Supresivit. Byl vyroben v České republice, registrován v roce 1994, nejprve pro použití na hrách. Obsahuje konidie *Trichoderma harzianum* v množství  $1,4 \cdot 10^{10}$  spor na gram přípravku. Účinný kmen byl vytvořen protoplazmovou fúzí dvou přírodních kmenů. Je charakterizován kompatibilitou s rhizosférou, tolerancí na fungicidy mankozeb (polymerní manganato-zinečnatý komplex) a dikarboximid, rychlým růstem a vysokou mykoparazitní aktivitou. Kmen nevyrábí antibiotika ani gliotoxin. Neinhibuje luštěninové nodulární bakterie ani mykorhizní vztahy. Dále byl povolen pro využití na pšenici, kukuřici, řepku, zeleninu, okrasné rostliny, okrasné a lesní stromy (Brožová, 2004).

Aplikace na semena je při poskytování výhod efektivnější než aplikace během započaté vegetace plodin (Buysens et al., 2016).

## 7 Materiál a metody

### 7.1 Popis lokality

Pokusná plocha je situována na východní straně katastru obce Červený Újezd v okr. Praha – západ (395 m. n. m., 50 ° 04 ' zeměpisné šířky, 14 ° 10 ' zeměpisné délky). Vlastníkem je Výzkumná stanice v Červeném Újezdě.

Lokalita je zařazena do oblasti mírně teplé, mírně suché, převážně s mírnou zimou. Patří do mírně zvlněné Bělohorské plošiny.

Dle údajů ze stanice Praha - Karlov je průměrná doba slunečního svitu je 1902 hodin za 1396 hodin vegetačního období. Lokalita je převážně s jižní expozicí.

Mateční horninu tvoří vápnité opuky křídového stáří se štěrkovým rozpadem. Opuky jsou překryty sprašemi a nevápnitými sprašovými pokryvy pleistocenního stáří. Půdotvorný substrát tvoří spraše a nevápnité sprašové pokryvy.

Půdním typem je hnědozem. Vlivem illimerizace dochází k okyselování povrchových vrstev půdního profilu, dochází k vyluhování půdních horizontů a posun koloidních částic do spodních vrstev půdního profilu. Půdní reakce je neutrální. V půdě se vyskytuje mírný obsah humusu a střední sorpční kapacita s nasyceným koloidním komplexem. Na sprašových pokryvech dochází k vyluhování uhličitanu vápenatého. Obsah fosforu a draslíku je střední až dobrý. Rovinatý povrch podmiňuje dobrý vsak srážkových vod. Půda má dobrou vododržnost i dobrou vnitřní drenáž.

### 7.2 Agrotechnický popis

Byl zvolen hybrid kukuřice Ronaldinio KWS (FAO 250), zaset 10. 5. 2017 s hustotou výsevu 80 tis. rostlin/ha a vzdáleností mezi řádky 75 cm. Předplodina pšenice ozimá.

Sklizňovou parcelku tvořilo 30 m<sup>2</sup> (3 x 10) po 4 řádcích.

K přípravě půdy byla určena podzimní střední orba a jarní standartní předseťová příprava půdy. Aplikace herbicidů byla preemergetní pomocí přípravků Koban T + Successor v dávce 0,5 + 0,5 l/ha.

### 7.3 Založení pokusu

Pokus byl založen s následujícími variantami:

- 1) Aplikace přípravku Supresivit v dávce 100 g/ha při setí
- 2) Aplikace přípravku AkTRIVátor v dávce 21 kg/ha (20 833 g/ha) ke vzešlým rostlinám na suchou půdu v době slunečního svitu
- 3) Kontrolní varianta

Na všech variantách pokusu byla aplikována močovina jako základní hnojivo v čisté dávce N 80 kg/ha

Během vegetace nebyla využita insekticidní ani fungicidní ochrana.

Aplikace hnojiva na široko proběhla v den setí - ráno 10. května 2017.

### 7.4 Měřené charakteristiky

#### Výška rostlin

Měření výšky rostlin pomocí metru proběhlo v termínu 24. 7. 2017. 40 x byl počet opakování pro každou variantu.

#### Výnos kukuřice na siláž

Ruční sklizeň proběhla 20. 9. 2017. Sklízela se prostřední levý řádek: Pravý byl ponechán pro hodnocení výnosu zrnové kukuřice.

Rostliny byly odříznuty 10 cm nad zemí. Zelená hmota byla zvážena a přepočítána na výnos zelené a suché hmoty na hektar.

#### Obsah sušiny kukuřice na siláž

Z řezanky bylo odebráno cca 600-900 g vzorku. Po usušení vzorku při teplotě 105 °C v délce trvání 12 h byla hmotnost suché hmoty zvážena a spočítána sušina jednotlivých vzorků.

#### Výnos kukuřice na zrno

Sklizeň proběhla 14. 10. 2017 ručním olámáním palic z prostředního pravého řádku. Byla zvážena aktuální hmotnost zrn z jednotlivých opakování.

#### Zastoupení sušiny kukuřice na zrno

Obsah sušiny byl zjištěn sušením při teplotě 50 °C po dobu 12 h a byl přepočítán výnos čerstvé a suché hmoty zrn na výnos na hektar.

#### Aktivita fotosyntézy a transpirace

Měření proběhlo v termínu 15. 8. 2017 za konstantní teploty 20 °C a ozáření 550 nm. Při každém měření, po ustálení podmínek uvnitř měřicí komůrky, byly měřené hodnoty automaticky zaznamenávány po dobu 20 minut v intervalu 1 minuta.

Rychlost fotosyntézy a rychlost transpirace se udává v jednotkách  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$  (listu)  $\text{s}^{-1}$  resp.  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}$  (listu)  $\cdot \text{s}^{-1}$ .

Aktivita fotosyntézy byla měřena pomocí přístroje LC Pro+ (infračervený listový analyzátor – ADC, BioScientific Ltd., UK).

Tento přístroj umožňuje měřit základní fyziologické pochody v listu bez jeho oddělení od rostliny. Fyziologie listu je analyzována v měřicí komůrce, kde jsou řízeny teplotní a světelné podmínky. Zařízení umožňuje měřit při hustotě ozáření FAR (400-700 nm) v rozsahu 0-2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  a při teplotě v rozmezí -5 až +50 °C.

Jedná se o metodu gazometrickou. Funguje na principu detekce změny koncentrace  $\text{CO}_2$  a vodní páry v proudu vzduchu procházejícím kolem listu, který je hermeticky uzavřen v měřicí komůrce. Proud vzduchu je obvykle nasáván z okolní atmosféry, kam je následně vypouštěn zpět. Takovému systému se říká otevřený gazometrický systém.

Výhodou je značná automatizace udržování stabilních podmínek v měřicí komůrce a plně automatické výpočty všech parametrů výměny plynů. Nevýhodou je, kromě finanční náročnosti pořízení přístroje, velká variabilita rychlosti fotosyntézy a rychlosti transpirace způsobená nestálostí vnějších podmínek (sluneční expozice, teplota listu, momentální dostupnost vody, vlhkost) a to i přesto, že většinu těchto parametrů dokáže přístroj uvnitř měřicí komůrky udržovat konstantní.

Z rozdílů koncentrací plynů a úrovně průtoku vzduchu uvnitř měřicí komůrky se vypočítají míry asimilace a transpirace v každých 20 vteřinách. Malý ventilátor v komůrce zajišťuje proudění vzduchu okolo listu.

Stanovení  $\text{CO}_2$  je prováděno infračerveným analyzátozem plynů (IRGA). Stanovení  $\text{H}_2\text{O}$  je prováděno dvěma vysoce kvalitními senzory vlhkosti. Naměřené hodnoty se automaticky ukládají na PCMCIA paměťovou kartu.

#### **7.4.1 Statistika**

Data byla zpracována v programu STATISTICA 12.1. metodou mnohonásobného porovnávání. Konkrétně byl použit Fisherův LSD test.



## 8 Výsledky

### 8.1 Silážová kukuřice

#### Výška rostlin

Byly prokázány statisticky významné rozdíly ve výšce rostlin u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 1)

Varianta AkTRIVátor byla v průměru výšky rostlin vyšší o 7,7 cm oproti kontrole a oproti variantě Supresivit v průměru vyšší o 8,4 cm.

Tab. č. 1: Údaje o dosažené výšce rostlin silážové kukuřice

Kontrola	221,600	****	
Supresivit	229,300		****
AkTRIVátor	220,900	****	

#### Procentuální zvýšení výšky rostlin

Kontrola-AkTRIVátor	3 % AkTRIVátor
Supresivit-AkTRIVátor	4 % AkTRIVátor

#### Výnos čerstvé biomasy

Byly prokázány statisticky významné rozdíly ve výnosu čerstvé biomasy u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 2).

Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu čerstvé biomasy vyšší o 4,0 t/ha oproti kontrole. Varianta Supresivit byla v průměru výnosu čerstvé biomasy vyšší o 3,9 t/ha oproti kontrole.

Tab. č. 2: Údaje o dosaženém výnosu čerstvé biomasy silážové kukuřice

Kontrola	31,40			****
Supresivit	35,38		****	****
AkTRIVátor	35,40		****	

"LSD test; skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 7,4301, sv = 13,000"

#### Procentuální zvýšení výnosu čerstvé biomasy

Kontrola-Supresivit	13 % Supresivit
Kontrola-AkTRIVátor	13 % AkTRIVátor

#### Výnos suché biomasy

Byly prokázány statisticky významné rozdíly ve výnosu suché biomasy u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 3).

Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu suché biomasy vyšší o 1,4 t/ha oproti kontrole. Varianta Supresivit byla v průměru výnosu suché biomasy vyšší o 2,2 t/ha oproti kontrole.

Tab. č. 3: Údaje o dosaženém výnosu suché biomasy silážové kukuřice

Kontrola	13,50		****
AkTRIVátor	14,87	****	****
Supresivit	15,69	****	

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1,6452, sv = 13,000"

Procentuální zvýšení výnosu suché biomasy

Kontrola-AkTRIVátor	10 % AkTRIVátor
Kontrola-Supresivit	16 % Supresivit
Supresivit-AkTRIVátor	5 % Supresivit

### Sušina

Byly prokázány statisticky významné rozdíly v % zastoupení sušiny u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola. % sušiny se v průměru nelišila (viz. tab. č. 4).

Varianta Supresivit byla v průměru sušiny vyšší o 1,4 % oproti kontrole a oproti variantě AkTRIVátor vyšší o 2,3 %.

Tab. č. 4: Údaje o dosažené hodnotě sušiny silážové kukuřice

AkTRIVátor	42,01271	****	
Kontrola	42,95051	****	****
Supresivit	44,35950		****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1,4045, sv = 13,000"

Procentuální zvýšení hodnot sušiny

Kontrola-Supresivit	3 % Supresivit
Supresivit-AkTRIVátor	3 % Supresivit

### Hmotnost jedné rostliny

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v hmotnosti jedné rostliny u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 5).

Varianta AkTRIVátor byla v průměru hmotnosti jedné rostliny vyšší o 108 g oproti kontrole. Varianta Supresivit byla v průměru hmotnosti jedné rostliny vyšší o 56 g oproti kontrole. Varianta AkTRIVátor byla v průměru hmotnosti jedné rostliny vyšší o 52 g oproti variantě Supresivit.

Tab. č. 5: Údaje o dosažené hmotnosti jedné rostliny silážové kukuřice

Kontrola	541,4634	****
Supresivit	597,8941	****
AkTRIVátor	649,6913	****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 7342,4, sv = 13,000"

Procentuální zvýšení hodnot hmotnosti jedné rostliny

Kontrola-AkTRIVátor	20 % AkTRIVátor
Kontrola-Supresivit	10 % Supresivit
Supresivit-AkTRIVátor	9 % AkTRIVátor

### Fotosyntéza a transpirace

#### Fotosyntéza

Byly prokázány statisticky významné rozdíly v aktivitě fotosyntézy mezi inokulovanými rostlinami a kontrolou. V průměru aktivity fotosyntézy byly inokulované rostliny aktivnější o 5 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> oproti kontrole (viz. tab. č. 6).

Tab. č. 6: Údaje o dosažené hodnotě fotosyntézy silážové kukuřice

Kontrola	7,325560	****	
Supresivit	12,44176		****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 8,0301, sv = 58,000"

Procentuální zvýšení hodnoty fotosyntézy

Trichoderma-Kontrola	59 % Supresivit
----------------------	-----------------

#### Chlorofyl

Byly prokázány statisticky významné rozdíly v obsahu chlorofylu mezi inokulovanými rostlinami a kontrolou. V průměru obsahu chlorofylu byly inokulované rostliny aktivnější o 3 SPAD oproti kontrole (viz. tab. č. 7).

Tab. č. 7: Údaje o dosažené hodnotě zastoupení chlorofylu silážové kukuřice

Kontrola	46,21667		****
Supresivit	49,17097	****	

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 9,0252, sv = 105,00"

Procentuální zvýšení hodnoty chlorofylu

Supresivit-Kontrola	6 % T
---------------------	-------

### Transpirace

Byly prokázány statisticky významné rozdíly v transpiraci mezi inokulovanými rostlinami a kontrolou. V průměru intenzity transpirace byly inokulované rostliny aktivnější o 0,3 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> oproti kontrole (viz. tab. č. 8).

Tab. č. 8: Údaje o dosažené hodnotě transpirace silážové kukuřice

Kontrola	0,796667	****	
Supresivit	1,100588		****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = ,05904, sv = 58,000"

Procentuální zvýšení hodnoty transpirace

Trichoderma-Kontrola	38 % Supresivit
----------------------	-----------------

## 8.2 Zrnová kukuřice

### **Hmotnost tisíce semen**

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v hmotnosti tisíce semen u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 9).

Varianty Supresivit a AkTRIVátor se v průměru HTS nelišily. HTS u variant s *T. harzianum* byla v průměru o 24 g vyšší oproti kontrole.

Tab. č. 9: Údaje o dosažené hodnotě hmotnosti tisíce semen zrnové kukuřice

Kontrola	334,3	****
AkTRIVátor	357,5	****
Supresivit	358,0	****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 452,01, sv = 12,000"

Procentuální zvýšení hodnoty hmotnosti tisíce semen

Kontrola-AkTRIVátor, Supresivit	7 % Supresivit, AkTRIVátor
---------------------------------	----------------------------

### **Výnos čerstvého zrna**

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly ve výnosu zrna u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 10).

Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu zrna vyšší o 1,5 t/ha oproti variantě Supresivit. Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu zrna vyšší o 1,8 t/ha oproti kontrole. Mezi použitými preparáty byl rozdíl 18 % a větší účinnost měl AkTRIVátor.

Tab. č. 10: Údaje o dosaženém výnosu čerstvého zrna kukuřice

Kontrola	10,85	****
Supresivit	11,10	****
AkTRIVátor	12,68	****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1,6421, sv = 12,000"

Procentuální zvýšení výnosu čerstvého zrna

Kontrola-AkTRIVátor	18 % AkTRIVátor
Kontrola-Supresivit	2 % Supresivit
Supresivit-AkTRIVátor	14 % AkTRIVátor

### Výnos suchého zrna

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly ve výnosu suchého zrna u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola (viz. tab. č. 11).

Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu zrna vyšší o 1,6 t/ha oproti variantě Supresivit.

Tab. č. 11: Údaje o dosaženém výnosu suchého zrna kukuřice

Kontrola	8,27	****
Supresivit	8,52	****
AkTRIVátor	9,68	****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = ,98352, sv = 12,000"

Procentuální zvýšení výnosu suchého zrna

Kontrola-AkTRIVátor	17 % AkTRIVátor
Kontrola-Supresivit	3 % Supresivit
Supresivit-AkTRIVátor	13 % AkTRIVátor

### Sušina

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v % zastoupení sušiny u variant Supresivit, AkTRIVátor a Kontrola. % sušiny se v průměru nelišila (viz. tab. č. 12).

Tab. č. 12: Údaje o dosažené hodnotě sušiny zrnové kukuřice

AkTRIVátor	76,25125		****
Kontrola	76,29557		****
Supresivit	76,79222		****

"LSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 Chyba: meziskup. PČ = 1,9336, sv = 12,000"

## 9 Diskuze

### 9.1 Kukuřice na siláž

#### Výška rostlin

Harman et al. (1989) publikovali významné zvýšení růstu kukuřičných rostlin ze semen inokulovaných *T. harzianum*.

Harman et al. (2004), Harman (2006) potvrdili teorii o podpoře růstu rostlin kukuřice inokulací *T. harzianum*. Příspěvek pozitivně stimulující růst rostlin byl připisován zlepšením výživy rostlin, zejména přísunem dusíku a fosforu. Vinale et al. (2008) doplnili k pozitivním stimulantům regulace růstu ještě produkci sekundárních metabolitů.

Studie Björkman et al. (1998) a Akladiou et Abbas (2012) dokládají, že se ošetřením *T. harzianum* velmi významně zvýšil růst kukuřičných rostlin ve srovnání s kontrolou.

V tomto výzkumu varianta AkTRIVátor byla v průměru výšky rostlin vyšší o 3 % oproti kontrole a oproti variantě Supresivit v průměru vyšší o 4 %.

Ve výzkumu de Lourdes Resende et al. (2004) rovněž nebyl zjištěn významný vliv na výšku výhonů u rostlin kukuřice.

Larsen et al. (2017) publikovali, že mikrobiální inokulace má omezený účinek na růst kukuřice ve srovnání s minerálním a organickým hnojením. K podpoře růstu rostlin kukuřice inokulací *T. harzianum* došlo pouze v kombinaci s minerálním hnojením a desinfikovanou půdou. V nedezinfikované půdě k žádným účinkům inokulace nedošlo. Tento fakt by mohl být malou mezidruhovou kompetiční schopností jedinců druhu *T. harzianum*.

Shukla et al. (2015) deklarovali zlepšení růstu rostlin inokulací *T. harzianum* při stresu suchem, konkrétně potvrzeno na pšenici ozimé.

Ve výzkumu autorů Alwhibi et al. (2017) rostliny rajčete inokulované *T. harzianum* vykazovaly zvýšený růst kořenů a výhonů vystavených suchu ve srovnání s neinokulovanými kontrolami. *T. harzianum* způsobilo výrazné zvýšení růstu rajčat, což mohlo být kvůli jejímu pozitivnímu vlivu na hladiny fytohormonů, které vedou k podpoře růstu. U *T. harzianum* se zvýšil růst až na 42,7 %.

Takové významné zvýšení růstu u rostlin rajčete způsobené *T. harzianum* popsali také Mastouri et al. (2012).

Khan et al. (2017) provedli polní experiment na rostlinách rajčat v podmínkách sníženého přístupu živin. Zjistili, že vegetativní růst (kromě počtu listů) a hmotnost sušiny rostlin byly nerozlišitelné mezi třemi variantami: inokulované rostliny, kompost a ošetření

NPK. *Trichoderma harzianum* je schopna tedy podporovat růst rostlin i v neúrodných podmínkách. Aplikace houby anebo kompostu by tedy měla zajistit vhodné půdní prostředí pro mikrobiální růst, rozpustnost a cyklování živin.

Studie Adamse et al. (2007) udává, že po 5 týdnech růstu sazenice vrby křehké v dezinfikované půdě s *T. harzianum* produkovaly výhonky a kořeny, které byly o 40 % delší než kontrolní vzorky.

### **Výnos čerstvé biomasy**

Vinale et al. (2008) udává, že výnos plodin může obecně dosahovat až 300 % nárůstu, což bylo zjištěno výpočtem z dat ošetřených ploch s neošetřenými kontrolami a měřením čerstvých / suchých a nadzemních hmotností biomasy, výšky rostlin, počtu listů a plodů.

V tomto výzkumu varianty AkTRIVátor i Supresivit byly v průměru výnosu čerstvé biomasy vyšší o 13 % oproti kontrole.

Výzkum Harmana (2000) uvádí výnosy kukuřice stejné jako u kontroly.

Studie autorů Akladious et Abbas (2012) uvádí, že rostliny kukuřice inokulované *T. harzianum* obsahovaly snížený obsah ligninu v cévních svazcích listů, které byly tenčí oproti listům kontrolních rostlin. Tento výsledek potvrzuje, že inokulace způsobila aktivnější morfologický růst, který přispívá ke kvalitnějšímu stavu čerstvé biomasy.

Studie Nzanzi et al. (2012) na rostlinách rajčat potvrzuje po inokulaci zvýšený celkový výnos i prodejní výnos plodů rajčat.

Buysens et al. (2016) publikovali, že hmotnost i počet hlíz rostlin bramboru hlíznatého byly významně vyšší při předchozí inokulaci tolice vojtěšky *T. harzianum*. Potvrdili tak jejich hypotézu, že mikroorganismy, jako je *T. harzianum*, mohou stimulovat růst krycí předplodiny a tím i dostupnost dusíku pro růst následné plodiny.

Naopak Bal et Altintas (2006) nezaznamenaly nárůst výnosu plodů rajčat. Na rozdíl od vyššího obsahu fosforu v plodech může mít *T. harzianum* škodlivý účinek na příjem vápníku a hořčíku, jelikož obě živiny byly v plodech významně sníženy. Houba byla aplikována dva týdny po zasetí.

Další studie Bal et Altintas (2008) na hlávkovém salátu rovněž deklaruje nevýznamné zvýšení výnosu při inokulaci *T. harzianum*.

Aplikace *T. harzianum* také nepřispěla ke zvýšení výnosů cibule ani při vyšších dávkách inokula (Poldma et al., 2001).

### **Výnos suché biomasy**

V tomto výzkumu byla varianta AkTRIVátor v průměru výnosu suché biomasy vyšší o 10 % oproti kontrole, varianta Supresivit byla v průměru výnosu suché biomasy vyšší o 16 % oproti kontrole a varianta Supresivit v průměru výnosu suché biomasy vyšší o 5 % oproti variantě AkTRIVátor.

Alwhibi et al. (2017) prováděli pokusy na rostlinách rajchat. Po inokulaci půdy populací *Trichoderma harzianum* suchá hmotnost semenáčků vzrostla o 31 %.

Sazenice vrby křehké inokulované *T. harzianum* produkovaly více než dvojnásobek suché biomasy oproti kontrole (Adams et al., 2007).

*T. harzianum* rovněž podporovala růst sazenic okurek a bavlny (Poldma et al., (2000), Yedidia et al., (2001)).

### **Aktivita fotosyntézy, chlorofyl**

Sucho představuje negativní vliv na fotosyntézu. Hlavním důvodem jejich poklesu je destrukce chlorofylových pigmentů a syntéza pigmentových meziproduktů spolu s poklesem příjmu důležitých iontů, jako je hořčík, který tvoří důležitou složku chlorofylu (Azarmi et al., 2011).

Fotosyntetické pigmenty jsou pro rostliny důležité zejména pro příjem světla a výrobu redukčních sil (Farooq, 2009).

V tomto výzkumu varianta s *Trichoderma* byla vyšší v průměru aktivity fotosyntézy vyšší o 59 %, v průměru intenzity transpirace vyšší o 38 % a v průměru obsahu chlorofylu vyšší o 6 % oproti kontrole.

Ve výzkumu Alwhibi et al. (2017) rostliny rajčete inokulované *T. harzianum* vykazovaly zvýšený obsah chlorofylových pigmentů ve srovnání s neinokulovanými kontrolami a rostlinami vystavenými suchu. Samotná inokulace *T. harzianum* se ukázala jako významná a způsobila zvýšení chlorofylu a, chlorofylu b a celkového chlorofylu o 15,4 %; 9,3 %; 15,04 %, což ukazuje jeho význam pro ochranu fotosyntetického aparátu.

Azarmi et al. (2011) potvrzují zlepšenou fotosyntetickou účinnost a syntézu fotosyntetických pigmentů v rajčatech v důsledku inokulace *T. harzianum*.

Harman G. E. (2000) prokázal měřením chlorofylu, že kmen *T. harzianum* zvýšil zeleň listů u kukuřice, čímž rostoucí rostlina získává více energie a uhlíkového zdroje pro jejich růst. Dále bylo během interakce rostliny s *T. harzianum* prokázáno, že řada proteinů souvisejících s fotosyntézou je v rostlinách zvýšena, což může mít kladný vliv na fotosyntetickou kapacitu rostlin vedoucí k výnosům a kvalitě plodin (Harman, 2000).



*T. harzianum* zvyšuje zelesň listů u různých plodin včetně kukuřice (Harman 2000, Akladious a Abbas 2012).

Výsledky studie Akladious et Abbas (2012) vykazovaly významně vyšší hodnoty obsahu fotosyntetických pigmentů u inokulovaných rostlin kukuřice v porovnání s kontrolou.

Naopak Shukla et al. (2012) publikovali, že kolonizace izoláty *T. harzianum* významně potlačila snížení fotosyntetické rychlosti a stomatální vodivosti u rostlin rýže v podmínkách sucha ve srovnání s neošetřenými rostlinami.

Adams et al. (2007) publikovali rovněž pokles obsahu chlorofylu v sazenicích vrby křehké inokulované *T. harzianum*. Tento pokles byl považován za typický příznak oxidativního stresu za nedostatku vody a ten může vést právě k degradaci chlorofylu.

Ztráta obsahu chlorofylu za podmínek sucha je považována za hlavní příčinu inaktivace fotosyntézy. U rostliny rýže kolonizovaných *T. harzianum* došlo také k poklesu chlorofylu, avšak v menší míře a později než u kontrolních rostlin. Kolonizované rostliny uzavrou průduchy dřív, protože mykorhizní mikroflóra vydá rostlině signál o nedostatku vody (Shukla et al., 2012).

## 9.2 Kukuřice na zrno

### Hmotnost tisíce semen

Výzkumy Nayaky et al. (2010) na kukuřici a Sharmy et al. (2012) na pšenici ozimé deklarují významný nárůst hmotnosti tisíce semen na inokulovaných jedincích oproti kontrolám.

V tomto výzkumu byla HTS u variant s *T. harzianum* v průměru vyšší pouze o 7 % oproti kontrole.

### Výnos zrna

Nayaka et al. (2010) v jejich výzkumu deklarují, že inokulace *T. harzianum* významně zlepšila výnos zrn u rostlin kukuřice.

V tomto výzkumu varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu čerstvého zrna vyšší o 14 % oproti variantě T (Supresivit). Varianta AkTRIVátor byla v průměru výnosu zrna vyšší o 18 % oproti kontrole. Varianta Supresivit byla v průměru výnosu zrna vyšší o 2 % oproti kontrole. Výnos suchého zrna byl při variantě AkTRIVátor o 17 % vyšší oproti kontrole. Při variantě AkTRIVátor byl průměr výnosu zrna vyšší o 13 % oproti variantě Supresivit.

Pro porovnání výzkum Harmana (2000) deklaroval zvýšení výnosu sóji o 123 %.

Na pšenici ozimé aplikace houby *Trichoderma harzianum* zvýšila počet zrn na klase ve srovnání s kontrolními rostlinami polního pokusu (Sharma et al., 2012).

## Sušina

V tomto výzkumu se % sušiny mezi vzorky v průměru nelišila.

Výsledek se shoduje se studií autorů de Lourdes Resende et al. (2004), kde rovněž nebyl zjištěn významný vliv hub na hmotnost sušiny u rostlin kukuřice.

Naopak Larsen et al. (2017) udávají, že *Trichoderma harzianum* zvýšila o 17 % hmotnost sušiny kukuřičných výhonků, ale pouze ve variantě s hnojením NPK a v dezinfikované půdě, v ostatních variantách různých typů hnojení nebo s absencí startovních dávek *T. harzianum*

Příkladem pozitivní změny v % sušiny je výzkum autorů Yedidia et al. (2001), kteří zkoumali reakce rostlin okurek na přítomnost houby *Trichoderma harzianum* v hydroponii. Rostliny začaly rychleji klíčit a vzrůstat. První reakce na inokulaci byly patrné již od 5. dne, kdy se zvýšila sušina kořenů a výhonků o 25 % a 40 %. Na kořenech se našly zvýšené koncentrace prvků (Cu, P, Fe, Zn, Mn, Na), na výhoncích byly koncentrace prvků zvýšené zejména u Zn (25 %), P (30 %) a Mn (70 %). 28. den rostliny vykazovaly výrazně zvýšený nárůst kořenové plochy (95 %), zvýšení sušiny (80 %), délky výhonů (45 %) a plochy listů (80 %). Taktéž se zvýšila koncentrace fosforu (90 %) a železa (30 %). Yedidia et al. (2001) tento výzkum shrnuli tak, že zlepšení úrovně výživy rostlin může přímo souviset s obecným prospěšným účinkem růstu kořenového systému, a tedy následné akumulaci biomasy v něm po inokulaci houbou *Trichoderma harzianum*.

## 9.3 Shrnutí diskuze

Diskuze k výsledkům této práce byla problematická ze dvou důvodů.

Prvním důvodem bylo, že většina výzkumů, týkajících se tématu kvality růstu a výnosů plodin za podpory houby *Trichoderma harzianum*, probíhá ve sklenících v nádobových nebo in vitro pokusech za přesně definovaných stálých podmínek. Zatímco tento výzkum probíhal přímo v polních podmínkách, a ještě v extrémně suchém roce. Setí i aplikace *T. harzianum* proběhla rovněž v bezsrážkovém období. I když existuje mnoho studií, jak tato houba excelentně podporuje rostliny při takovémto stresoru, lze předpokládat, že ve skleníkových podmínkách je i tak dodávána pravidelná závlivka.

Druhým důvodem bylo, že funkčnost tohoto symbiotického vztahu je zkoumána na mnohých zemědělských plodinách, ale na kukuřici jen zřídka.

Výsledky v žádné ze sledovaných charakteristik nedosáhly velkého % úspěšnosti. I toto lze odůvodnit několika fakty:

- Rabeendran et al. (2000) uvádí, že zvýšené účinky *T. harzianum* na výnos a růst rostlin jsou výraznější v půdách relativně chudých na živiny.

I když tento pokus byl založen pouze na startovací dávce dusíkatého hnojiva lze předpokládat, že se v půdě nacházely živiny ještě z hnojení v předchozích letech.

- Výsledky Altintas et Bal (2008) ukázaly, že *T. harzianum* nepodporuje růst a výnos v podmínkách bez zavlažování.

Snížení růstu rostlin vyvolané suchem je kumulativním účinkem několika faktorů, jako je zvýšená teplota a dostupnost půdní vody, nebo bránění se příjmu minerálů, což vede k dalšímu snížení příjmu vody rostlinami (Jatav et al., 2014).

Tento pokus probíhal na poli bez zavlažování v extrémně suchém roce.

- Poldma et al. (2002) publikovali čtyřletou studii o aplikaci houby *Trichoderma spp.* na okurkách. V prvních třech letech se výnosy nezvyšovaly, zatímco ve čtvrtém roce byly výnosy okurek výrazně vyšší oproti kontrole.

Tento pokus byl proveden pouze jedenkrát, a tedy je možné, že se *T. harzianum* v půdě nedokázala mezi ostatními houbami prosadit.

- Buysens et al. (2016) a Poldma et al. (2001) připouští, že nízká efektivnost *T. harzianum* jejich experimentech může být z důvodu nízké dávky inokula.

Leandro et al. (2007) odhaduje, že populace *Trichoderma* musí dosáhnout 105-107 jednotek tvořících kolonii na gram suché půdy, aby mohl být zjištěn významný vliv na růst rostlin.

Akladious et Abbas (2012) uvádí, že nejnižší koncentrace *T. harzianum* (2 g/kg) způsobila mírné snížení naměřených parametrů růstu. Naopak ostatní vyšší koncentrace *T. harzianum* měly jednoznačně pozitivní efekt na všechny měřené parametry rostlin.

Bal et Altintas (2006) nezaznamenali nárůst výnosu plodů rajčat. Na rozdíl od vyššího obsahu fosforu v plodech může mít *T. harzianum* škodlivý účinek na příjem vápníku a hořčíku, jelikož obě živiny byly v plodech významně sníženy. Houba byla aplikována dva týdny po zasetí.

Altintas et Bal (2005) publikovali významné zvýšení výnosů u okurky a papriky až při 40 kg/ha.

Tento výzkum byl založen na dávkách *T. harzianum* 0,1 kg/ha a 21 kg/ha.

Je možné, že dávka byla nízká. Mezi rostlinou a houbou nebo houbami mezi sebou docházelo ke kompetici o živiny. Avšak Poldma et al. (2001) nezaznamenali vyšší výnosy ani při vyšších dávkách inokula, konkrétně na rostlinách cibule. Je možné, že na některé druhy rostlin *T. harzianum* nebude mít pozitivní účinky. Dále Supresivit byl aplikován přímo při setbě a AkTRIVátor byl aplikován po 3 týdnech po vysetí. Avšak výhody obou se dle sledovaných charakteristik prolínají.

- Buysens et al. (2016) uvedli, že jedním z výhodných postupů ke zvýšení výnosu a počtu hlíz brambor bylo naočkování předcházející krycí plodiny společně *T. harzianum* s *Rhizophagus irregularis* (arbuskulární houba).

V tomto pokusu byla aplikována *T. harzianum* samostatně.

## 10 Závěr

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit účinnost přípravků na bázi *Trichodermy*. Vliv *Trichodermy* na inokulované rostliny byl pozitivní, ale nijak výrazný v porovnání s přínosy *Trichodermy* ve sklenících s desinfikovanou půdou a zálivkou, nebo v hydroponiích.

Na poli samostatně funguje omezeně. Ve venkovních podmínkách figuruje mnoho faktorů, které se nedají ovlivnit. Jsou to nepravidelné srážky, kvalita půdy a sluneční záření. *T. harzianum* patří mezi houby, které alespoň při počátečním růstu potřebují vlhkost, které se jim v polních podmínkách nemusí dostávat. Dalším důležitým kritériem úspěšnosti je optimální a včasná dávka inokula, kdy rostliny a houby nesmí vzájemně soutěžit o živiny.

S vlhkostními podmínkami stanoviště souvisí i celkově dobrý zdravotní stav porostu, jelikož takto extrémně suchý rok neposkytl vhodné podmínky pro větší rozvoj patogenů.

Pokud lze v polních výzkumech brát za úspěch 5 % zvýšení sledovaných charakteristik, tento výzkum může deklarovat zvýšení čerstvé i suché biomasy silážové kukuřice, a to v případě Supresivitu až o 16 %, hmotnost jedné rostliny se zvýšila v případě AkTRIVátoru až o 20 %. Výnos čerstvého zrna se zvýšil za podpory Aktrivátoru o 18 % a v případě suchého zrna o 17 %. Největším úspěchem byla aktivita fotosyntézy a s níž spojená transpirace, které *Trichoderma* dokázala podpořit až o 59 % a 38 %. Nelze tedy jednoznačně preferovat jeden přípravek. Jejich přínosy se většinou prolínaly.

Výzkum by se měl dále zaměřit na různé kombinace mikroskopických hub, které by se mohly hromadně aplikovat a vzájemně podporovat. Další nadějný směr by mohla být možnost aplikace *T. harzianum* na krycí předplodinu, které vyživí půdu pro následnou plodinu.

## 11 Zdroje

- Adams, P., De-Leij, F. A., Lynch, J. M. 2007. *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22 mediates growth promotion of crack willow (*Salix fragilis*) saplings in both clean and metal-contaminated soil. *Microb. Ecol.* 54. 306-313.
- Ahanger, M. A., Agarwal, R. M., Tomar, N. S., Shrivastava, M. 2015. Potassium induces positive changes in nitrogen metabolism and antioxidant system of oat (*Avena sativa* L. cultivar Kent). *Journal of Plant Interactions.* 10. 211–223.
- Akladios, S. A., Abbas, S. M. 2012. Application of *Trichoderma harziunum* T22 as a biofertilizer supporting maize growth. *African Journal of Biotechnology.* 11 (35). 8672-8683.
- Altintas, S., Bal, U. 2005. Application of *Trichoderma harzianum* increases yield in cucumber (*Cucumis sativus*) grown in an unheated glasshouse. *J. Appl. Hortic.* 7, 25–28.
- Altintas, S., Bal, U. 2008. Effects of the commercial product based on *Trichoderma harzianum* on plant, bulb and yield characteristics of onion. *Scientia Horticulturae.* 116 (2). 219-222.
- Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T., and Harman, G. E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plantgrowth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. *Appl. Environ. Microbiol.* 65. 1295-22.
- Alwhibi, M. S., Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Soliman, D. W. K., Wirth, S., Egamberdieva, D. 2017. Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture.* 16 (8). 1751-1757.
- Ashworth, A. J., DeBruyn, J. M., Allen, F. L., Radosevich, M. Owens, P. R. 2017. Microbial community structure is affected by cropping sequences and poultry litter under long-term no-tillage. *Soil Biology & Biochemistry.* 114. 210–219.
- Azarmi, R., Hajieghrari, B., Giglou, A. 2011. Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. *African Journal of Biotechnology.* 10. 5850–5855.

- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., Vivanco, J. M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 57. 233-66.
- Baker, R., Elad, Y., Sneh, B. 1986. Physical biological and host factors in iron competition in soils. *Iron Siderophores and Plant Diseases.* 77-84.
- Bal, U., Altintas, S., 2006. Effects of *Trichoderma harzianum* on the yield and fruit quality of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) grown in an unheated greenhouse. *Aust. J. Exp. Agric.* 46. 131–136.
- Bal, U., Altintas, S., 2008. Effect of *Trichoderma harzianum* on lettuce in protected cultivation. *J. Cent. Eur. Agric.* 1. 63-70.
- Balík J., Černý J., Tlustoš P. Principy hnojení kukuřice [online]. *Úroda.* 14. listopadu 2001. [cit. 2007-10-18]. Dostupné z <<http://uroda.cz/principy-hnojeni-kukurice/>>.
- Barraclough, D., Kearney, T., Croxford, A. 2005. Bound residues: environmental solution or future problem? *Environ Pollut.* 133. 85–90.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J., Saab, S. D. C., Milori, D. M. P., Bangnato, V. S. 2002. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma.* 105. 81–92.
- Benhamou, N., Chet, I. 1997. Cellular and Molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 209-2099.
- Björkman, T., Blanchard, L. M., Harman, G.E. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental stress. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 123, 35–40.
- Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Anderson, T. H., Kuzyakov, Y. 2014. Microbial growth and carbon use efficiency in the rhizosphere and root-free soil. *PLOS One.* 9(4). 93282.

- Brožová, J. 2004. Mycoparasitic fungi *Trichoderma* spp. in plant protection. *Plant Protect. Sci.* 40. 63–74.
- Buysens, C., César, V., Ferrais, F., Dupré de Boulois, H., Declerck, S. 2016. Inoculation of *Medicago sativa* cover crop with *Rhizophagus irregularis* and *Trichoderma harzianum* increases the yield of subsequently-grown potato under low nutrient conditions. *Applied Soil Ecology*. 105. 137-143.
- Cai, F., Yu, G., Wang, P., Wei, Z., Fu, L., Shen, Q., Chen, W. 2013. *Harzianolide*, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*. *Plant Physiol. Biochem.* 73. 106–113.
- Casas-Flores, S. E., Herrera-Estrella, A. 2007. The mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research. *Environmental and Microbial Relationships*. 4. 159–187.
- Cui, T., Li, Z., Wang, S. 2017. Effects of in-situ straw decomposition on composition of humus and structure of humic acid at different soil depths. *J Soils Sediments*. 17. 2391–2399.
- Čuříková, M., Látr, A. Mykorhiza [online]. *Old.botany.upol.cz*. 27. března 2006 [cit. 2018-02-05]. Dostupné z <<http://old.botany.upol.cz/prezentace/latr/Mykorhiza.pdf>>.
- de Santiago, A., Quintero, J. M., Avilés, M., Delgado, A. 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* strain T34 on iron, copper, manganese, and zinc uptake by wheat grown on a calcareous medium. *Plant Soil*. 342. 97–104.
- Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academia Press. 794–809.
- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Kubicek, C. P. 2006. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*. 47. 55–64.
- Elad, Y., Kapat, A. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 105. 177-189.



- Farooq, M., Wahid, A. Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S. M. A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management, *Agron. Sustain. Dev.* 29. 185-212.
- Finney, D. M., White, C. M., Kaye, J. P. 2016. Biomass production and carbon/nitrogen ratio influence ecosystem services from cover crop mixtures. *Agron J.* 108. 39–52.
- Fuller, N. R., Wild grass became maize crop more than 8,700 years ago. [online]. National Science Foundation. 23. května 2009. [cit. 2018-02-18]. Dostupné z <[https://nsf.gov/news/news\\_summ.jsp?cntn\\_id=114445](https://nsf.gov/news/news_summ.jsp?cntn_id=114445)>.
- G. E. Harman. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis.* 84. 377-393.
- Goldstein, A. H. 1995. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by gram negative bacteria. *Biol. Agric. Hortic* 12. 185–193.
- Gosling, P., Parsons, N., Bending, G. D. 2013. What are the primary factors controlling the light fraction and particulate soil organic matter content of agricultural soils? *Biol Fertil Soils.* 49. 1001–1014.
- Goss, M. J., Tubeileh, A., Goorahoo, D. 2013. A review of the use of organic amendments and the risk to human health. *Adv. Agron.* 120. 275-379.
- Graham, R. D., Webb, M. J. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. *Soil Science Society of America.* 329–370.
- Growway-garden. Prospěšná plíseň, to je *Trichoderma harzianum* [online]. [growway-garden.blog.cz](http://growway-garden.blog.cz). 7. září 2016 [cit. 2018-02-16]. Dostupné z: <<http://growway-garden.blog.cz/1609/prospesna-plisen-to-je-trichoderma-harzianum>>.
- Harman G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease.* 84. 377-393.

- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma spp.* Phytopathology. 96. 190-194.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M., 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2 (1). 43–56.
- Harman, G. E., Kubicek, C. P. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Enzyme Biol. Control. Commerc. Appl. 2. 153-171.
- Harman, G. E., Lorito, M., Lynch, J. M. 2004. Uses of *Trichoderma spp.* to alleviate or remediate soil and water pollution. Adv. Appl. Microbiol. 56. 313–330.
- Harman, G. E., Taylor, A. G., Stask, T. E. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatment. Plant Disease. 73 (8). 631-637.
- Hlušek, J. Minerální hnojiva [online]. Ústav agrochemie a výživy rostlin v Brně. 28. ledna 2004 [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <[http://web2.mendelu.cz/af\\_221\\_multitext/vyziva\\_rostlin/html/hnojiva/mineralni/hnojiva\\_mineralni.htm](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/hnojiva/mineralni/hnojiva_mineralni.htm)>.
- Hoskovec, L. *Zea mays L.* – kukuřice setá [online]. Botany.cz. 13. září 2008 [cit. 2018-02-18]. Dostupné z <<http://botany.cz/cs/zea-mays/>>.
- Huber, D. M., McCay-Buis, T. S. 1993. A multiple component analysis of the take-all disease of cereals. Plant Dis. 77. 437–447.
- Chet, I. 1987. *Trichoderma*–Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. Innovative Approaches to Plant Disease Control I. 137-160.
- Ingelmo, F., Molina, M. J., Soriano, M. D., Gallardo, A., Lapeña, L. 2012. Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost. J Environ Manag. 95. 104–109.

- Jatav, K. S., Agarwal, R. M., Tomar, N. S., Tyagi, S. R. 2014. Nitrogen metabolism, growth and yield responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to restricted water supply and varying potassium treatments. *Journal of the Indian Botanical Society*. 93. 177–189.
- Jiao, L. N., Li, Z. H., Yin, C. C., Wang, X. F., Xin, S. Y., Yu, L. 2015. Effect of incorporation of crop straw on composition of soil organic matter and enzyme activity in black soil relative to depth and rate of the incorporation. *Acta Pedol Sin*. 52. 198–205.
- Johnson, A. E. 1991. Soil fertility and organic matter. In: Wilson WS (ed) *Advances in soil organic matter research: the impact of agriculture and the environment*. Royal Society of Chemistry. 299–314.
- Kamala, T., Indira, S. 2014. Molecular characterization of *Trichoderma harzianum* strains from Manipur and their biocontrol potential against *Pythium ultimum*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(7). 258-270.
- Kexiang, G., Xiaoguang, L., Yonghong, L., Tianbo, Z., Shuliang, W. 2002. Potential of *Trichoderma harzianum* and *T. atroviride* to control *Botryosphaeria berengeriana* f sp. *piricola*, the cause of apple ring rot. *Phytopathol.* 150. 271-276.
- Khan, M. N., Mobin, M., Abbas, Z. K., Alamri, S. A. 2018. Fertilizers and Their Contaminants in Soils, Surface and Groundwater. *Encyclopedia of the Anthropocene*. 5. 225-240.
- Khan, M. Y., Haque, M. M., Molla, A. H., Rahman, M. M., Alam, M. Z. 2017. Antioxidant compounds and minerals in tomatoes by *Trichoderma*-enriched biofertilizer and their relationship with the soil environments. *Journal of Integrative Agriculture*. 16 (3). 691-703.
- Kredics, L., Antal, Z., Doczi, I., Manczinger, L., Kevei, F., Nagy, E. 2003. Clinical importance of the genus *Trichoderma*. A review. *Acta. Microbiol. Immunol. Hung.* 50. 105–117.
- Kumar, A., Kuzyakov, Y., Pausch, J. 2016. Maize rhizosphere priming: field estimates using <sup>13</sup>C natural abundance. *Plant Soil*. 409. 87–97.

Kumar, R. *Trichoderma harzianum*. [online]. Agropedia.iitkac.in. 6. červenec 2010 [cit. 2018-01-09]. Dostupné z <<http://agropedia.iitk.ac.in/content/trichoderma-bio-controlagent-management-soil-born-diseases>>.

Kůst, F. Výroba kukuřice na siláž a na zrno [online]. Zemědělec.cz. 6. listopadu 2009 [cit. 2018-02-18]. Dostupné z <<http://http://zemedelec.cz/vyroba-kukurice-na-silaz-a-na-zrno/>>.

Kuzyakov, Y. 2002. Review: factors affecting rhizosphere priming effects. *J Plant Nutr Soil Sc.* 165. 382–396.

Larsen, F. O., Clementsen, P., Hansen, M., Maltbaek, N., Ostensfeldt-Larsen, T., Nielsen, K. F., Gravesen, S., Skov, P. S., Norn, S. 1998. Volatile organic compounds from the indoor mould *Trichoderma viride* cause histamine release from human bronchoalveolar cells. *Inflamm. Res.* 47(1). 5–6.

Larsen, J., Pineda-Sánchez, H., Delgado-Arellano, I., Castellano-Morales, V., Carreto-Montoya, L., Villegas-Moreno, J. 2017. Interactions between microbial plant growth promoters and their effects on maize growth performance in different mineral and organic fertilization scenarios. *Rhizosphere.* 3. 75-81.

Leandro, L. F. S., Guzman, T., Ferguson, L. M., Fernandez, G. E., Louws, F. J., 2007. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compost-amended soil and on strawberry roots. *Appl. Soil Ecol.* 35. 237–246.

Li, R. X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q. R., Li, R., Chen, W. 2015. Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PLoS ONE.* 10(6). e0130081.

Li, R-X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q-R., Li, R., Chen, W. 2015. Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PLoS ONE.* 10(6). 1-16.

Lo, C. T., Lin, C. Y. 2002. Screening strains of *Trichoderma spp* for plant growth enhancement in Taiwan. *Plant Cell.* 11. 215-220.

McCann, J., C. 2005. Maize and Grace: Africa's Encounter with a New World Crop, 1500-2000. Cambridge: Harvard University Press. 304 s. ISBN: 0-674-01718-8.

Mikanová, O., Šimon, T. 2011. Alternativní výživa rostlin fosforem. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i. Praha – Ruzyně. 21 s. ISBN 978-80-7427-080-2.

MycoRizo. *Trichoderma harzianum*. [online]. MycoRizo. 25. srpna 2015. [cit. 2017-10-22]. Dostupné z <[http://www.mycorizo.it/Trichoderma\\_harzianum.pdf](http://www.mycorizo.it/Trichoderma_harzianum.pdf)>.

Nayaka, S. Ch., Niranjana, S. R., Shankar, A. C. U., Raj, S. N., Reddy, M. S., Prakash, H. S., Mortensen, C. N. 2010. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. Archives of Phytopathology and Plant Protection 43(3). 264-282.

Nehls, U., Mikolajewski, S., Magel, E., Hampp, R. 2001. Carbohydrate metabolism in ectomycorrhizas: gene expression, monosaccharide transport and metabolic control. New Phytol. 150. 533–541.

Nenwani, V., Doshi, P., Saha, T., Rajkumar, S. 2010. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. J. Yeast Fungal Res. 1. 9–14.

Nitrátová směrnice EU - ochrana vod před znečištěním dusičnany [online]. VÚRV. 2016 [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <<https://www.vurv.cz/sites/File/Letak%20NS%202016%20ZZ%20CB.pdf>>.

Nzanzaa, B., Maraisa, D., Soundy P. 2012. Yield and nutrient content of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) as influenced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae* inoculation. Scientia Horticulturae. 144. 55–59.

Piccolo, A. R., Spacni, R., Haberhauer, G., Gerzabek, M. H. 1999. Increased sequestration of organic carbon in soil by hydrophobic protection. Naturwissenschaften. 86. 496–499.

Poldma, P., Albrecht, A., Merivee, A., 2002. Influence of fungus *Trichoderma viride* on the yield of cucumber in greenhouse conditions. In: Proceedings of the Conference on Scientific Aspects of Organic Farming, Jelgava, Latvia 21–22 March 2002. 176–180.

Poldma, P., Merivee, A., Johansson, P., Ascard, J., Alsanius, B. 2001. Influence of biological control of fungal diseases with *Trichoderma spp.* on yield and quality of onion. Nordic Association of Agricultural Scientists. 48–52. 05-ISSN 0333-1350.

Rabeendran, N., Moot, D. J., Jones, E. E., Stewart, A. 2000. Inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. N. Z. Plant Prot. 53. 143–146.

Rifai, M. A. General information: *Trichoderma harzianum*. [online]. MycoBank. [cit.2017-12-14]. Dostupné z:

<<http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=MycoBank&MycoBankNr =340299>>.

Richter, R. Draslík [online]. Ústav agrochemie a výživy rostlin v Brně. 27. ledna 2004a [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <[http://](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/k.htm)

[http://web2.mendelu.cz/af\\_221\\_multitext/vyziva\\_rostlin/html/biogenni\\_prvky/k.htm](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/k.htm)>.

Richter, R. Měď [online]. Ústav agrochemie a výživy rostlin v Brně. 27. ledna 2004b [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <[http://](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/cu.htm)

[http://web2.mendelu.cz/af\\_221\\_multitext/vyziva\\_rostlin/html/biogenni\\_prvky/cu.htm](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/cu.htm)>.

Richter, R. Železo [online]. Ústav agrochemie a výživy rostlin v Brně. 27. ledna 2004c [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <[http://](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/fe.htm)

[web2.mendelu.cz/af\\_221\\_multitext/vyziva\\_rostlin/html/biogenni\\_prvky/fe.htm](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/fe.htm)>.

Rosenzweig, S. T., Schipanski, M. E., Kaye, J. P. 2017. Rhizosphere priming and plant-mediated cover crop decomposition. Plant Soil. 417. 127–139.

Samolski I., Rincón, A. M., Pinzón, L. M., Viterbo, A., Monte, E. 2012. The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. Microbiology. 158(1). 129–138.

- Samuels, G. J., Dodd, S. L., Gams, W., Castlebury, L. A., Petrini, O. 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*. 94. 1. 146-170.
- Sarrantonio, M., Gallandt, E. 2003. The role of cover crops in North American cropping systems. *Journal Crop Production*. 8. 53-74.
- Scotti, R., Bonanomi G., Scelza R., Zoina A., Rao M. A. 2015. Organic amendments as sustainable tool to recovery fertility in intensive agricultural systems. *J. Soil Sci Plant Nutr*. 15(2). 333-352.
- Sharma, P., Patel, A. N., Saini, M. K., Deep, S. 2012. Field Demonstration of *Trichoderma harzianum* as a Plant Growth Promoter in Wheat (*Triticum aestivum* L). *Journal of Agricultural Science*. 4(8). 65-73.
- Shoresh, M., Harman, G. E. 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: A proteomic approach. *Plant Physiology*. 147. 2147-2163.
- Shukla, N., Awasthi, R. P., Rawat, L. and Kumar, J. 2015. Seed biopriming with drought tolerant isolates of *Trichoderma harzianum* promote growth and drought tolerance in *Triticum aestivum*. *Ann. Appl. Biol*. 166. 171–182.
- Schmidt, M. W. I., Torn, M., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., Kleber, M., Kogel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D. A. C., Nannipieri, P., Rasse, D. P., Weiner, S., Trumbore, S. E. 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*. 478. 49–56.
- Schuster, A., Schmoll, M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl. Microbiol Biotechnol*. 87(3). 787-779.
- Siddiquee, S., Yusuf, U. K., Hossain, K., Jahan, S. 2009. In vitro studies on the potential *Trichoderma harzianum* for antagonistic properties against *Ganoderma boninense*. *J. Food Agric. Environ*. 7 (3&4). 970-976.

Siemering, G., Ruark, M., Gevens, A. The value of *Trichoderma* for crop production [online]. Soil Biology. University of Wisconsin – Extension. Listopad 2016 [cit. 2018-01-02]. Dostupné z <<https://learningstore.uwex.edu/Assets/pdfs/A4114-02.pdf>>.

Siemering, G., Ruark, M., Gevens, A. The value of *Trichoderma* for crop production [online]. Soil Biology. University of Wisconsin – Extension. Listopad 2016 [cit. 2018-01-02]. Dostupné z <<https://learningstore.uwex.edu/Assets/pdfs/A4114-02.pdf>>.

Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Trichoderma and Gliocladium*. 1. 139-191.

Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., Batten, K. M. 2006. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society America Journal*. 70. 555-559.

Skládanka, J. Kukuřice setá. [online]. Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně. 2006. [cit. 2018-02-20]. Dostupné z <[http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=kukurice.html](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=kukurice.html)>.

Sommer, S. G., Schjoerring, J. K., Denmead, O. T. 2004. Ammonia Emission from Mineral Fertilizers and Fertilized Crops. *Advances in Agronomy*. 82. 557-622.

Song, X. Y., Liu, S. T., Liu, Q. H., Zhang, W. J., Hu, C. G. 2014. Carbon sequestration in soil humic substances under long-term fertilization in a wheat-maize system from north China. *J Integr Agr*. 13. 562–569.

Spaccini, R., Piccolo, A., Conte, P., Haberhauer, G., Gerzabek, M. H. 2002. Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biol Biochem*. 34. 1839–1851.

Stevenson, F. J. 1994. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. Wiley, New York.

Tonitto, C., David, M. B., Drinkwater, L. E. 2006. Replacing barefallow with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: a meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agric Ecosyst Environ*. 112. 58–72.



Tormena, C. A., Karlen, D. L., Logsdon, S., Cherubin, M. R. 2017. Corn stover harvest and tillage impacts on near-surface soil physical quality. *Soil Till Res.* 166. 122–130.

*Trichoderma harzianum*. [online]. Mycorizo. 28. srpna 2015 [cit. 2017-08-31]. Dostupné z <[http://www.mycorizo.it/Trichoderma\\_harzianum.pdf](http://www.mycorizo.it/Trichoderma_harzianum.pdf)>.

Vargas, V. A., Mandawe, J. C., Kenerley, Ch. M. 2009. Plant – derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plant. *Plant Physiology.* 151(2). 792–808.

Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S., Lorito, M. 2009. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 48. 705–711.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., Lorito, M. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biol Biochem.* 40. 1-10.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Barbetti, M.J., Lim, H., Woo, S.L., Lorito, M., 2008. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 72. 80–86.

Vincelli, P. *Trichoderma* Ear Rot of Corn [online]. Kentucky Pest News. 8. listopadu 2017 [cit. 2017-12-14]. Dostupné z <<https://kentuckypestnews.wordpress.com/2014/12/23/trichoderma-ear-rot-of-corn/>>.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb. ze dne 29. prosince 2000 o stanovení požadavků na hnojiva. In: Sbíрка zákonů České republiky. 2000. částka 137. Dostupné z <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-474>>.

Wagner, M., Schmidt, W., Imhof, L., Grübel, A., Jähn, C., Georgi, D., Petzoldt, H. 2016. Characterization and quantification of humic substances 2Dfluorescence by usage of extended size exclusion chromatography. *Water Res.* 93. 98–109.

- Walsh, T. J., Groll, A., Hiemenz, J., Fleming, R., Roilides, E., Anaissie, E. 2004. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. *Clin. Microbiol. Infect.* 10(1). 48–66.
- White, P. M., Rice, C. W. 2007. Tillage effects on microbial and carbon dynamics during plant residue decomposition. *Soil Science Society America Journal.* 73(1). 138-145.
- Windham, M. T., Elad, Y., Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp.. *Phytopathology*, 76. 518–521.
- Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., Lorito, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma*, phytopathogenic fungi and plants. *Phytopathology.* 96(2). 181–185.
- Woo, S. L., Lorito, M. 2007. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In Vurro, M. and Gressel, J. *Novel Biotech. Biocontrol Agent Enhancement and Management*, Springer Press Amsterdam Netherlands, 107–130.
- YARA. Increasing Maize Yield [online]. YARA.co.uk. 2016 [cit. 2018-02-20]. Dostupné z <<http://www.yara.co.uk/crop-nutrition/crops/maize/yield/>>.
- Yasmeen, R., Siddiqui Z. S., 2017. Physiological responses of crop plants *against Trichoderma harzianum* in saline environment. *Acta Bot. Croat.* 76(2). 154–162.
- Yedidia, I., Srivastva, K. Y.; Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil.* 235 (2). 235-242.
- Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on mikroelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil.* 235. 235–242.
- Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., Chete, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil.* 235(2). 235-242.

Yildirim, E., Taylor, A. G., Spittler T. D. 2006. Ameliorative effects of biological treatments on growth of squash plants under salt stress. *Scientia Horticulturae*. 11. 1-6.

Základní informace o nitrátové směrnici [online]. Nitrat.cz. 2013 [cit. 2018-01-11]. Dostupné z <<http://www.nitrat.cz/zakladni-informace-o-nitratove-smernici.html>>.

Zákon č. 156/1998 Sb. ze dne 13. července 1998 o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd. In: Sběrka zákonů České republiky. 1998. částka 54. Dostupné z <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1998-156>>.

Zhu, B., Gutknecht, J. L. M., Herman, D. J., Keck, D. C., Firestone, M. K., Cheng, W. 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil. Biol. Biochem.* 76. 183–192.