

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Vliv aplikace bioefektorů na přístupnost fosforu v substrátu a na
výnosy rajčat**

Bakalářská práce

Autor práce: Martina Beranová

Vedoucí práce: Ing. Martin Kulháněk Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv aplikace bioefektorů na přístupnost fosforu v substrátu a na výnosy rajčat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Martinovi Kulhánkovi Ph.D. za jeho velkou pomoc, při tvorbě této bakalářské práce a poskytnutí vlastních vědomostí a zkušeností pro tento pokus. Dále bych ráda poděkovala České zemědělské univerzitě v Praze, konkrétně fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů a katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin za poskytnutí prostor a příslušenství k uskutečnění tohoto pokusu a umožnění vzniku této práce.

Vliv aplikace bioefektorů na přístupnost fosforu v substrátu a na výnosy rajčat

Souhrn

V České republice se v několika posledních letech více snažíme zaobírat zvýšením efektivity příjmu fosforu pro rostliny ve směru zvýšení jeho přístupnosti. V našich podmínkách zemědělství můžeme tvrdit, že fosfor se pro rostliny stává nedostatkovou živinou. Většina půdního P je zabudována v obtížně rozpustných sloučeninách, omezujících možnosti jeho příjmu. Proto vznikají technologie schopné fosfor pro rostliny zpřístupnit. Jednou z těchto technologií jsou tzv. Bioefektory.

Cílem práce bylo prokázat účinnost bioefektorů na zvýšení mobility fosforu a ostatních vybraných živin v půdě chudé na P a tím i zvýšení výnosů a odběrů živin rajčaty.

V rámci práce byly použity bioefektory obsahující následující mikroorganismy: *Trichoderma harzianum*, kmen T22, *Bacillus amyloliquefaciens*, kmen FZB42 (RhizoVital), *Pseudomonas* sp. (Proradix) a kombinace *Trichodermy harzianum* s *Bacillus subtilis* s přidanými mikroprvky Zn a Mn (Combifector). Byl sledován vliv přidaných bioefektorů na výšku, hmotnost nadzemní hmoty a výnos plodů rajčat; obsah přístupných makroprvků a vybraných mikroprvků v substrátu a dále pak celkový obsah makroprvků a vybraných mikroprvků v plodech rajčat.

Z výsledků nádobových pokusů s rajčaty realizovaných ve skleníku ČZU v Praze, můžeme vyvodit následující tvrzení: a) ve většině sledovaných parametrů nebyly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly mezi variantami, b) obsah hořčíku v substrátu byl průkazně vyšší u varianty *Trichoderma* ve srovnání s variantou Proradix, avšak pouze při nízké hladině významnosti 0,05, c) celkový obsah síry v plodech u varianty *Trichoderma*, byl průkazně nižší ve srovnání s variantami Proradix a Combifector, a to při hladině významnosti 0,01.

Závěrem lze konstatovat, že aplikace bioefektorů ve většině případů nevedla ke statisticky průkazné změně sledovaných parametrů. Stále je však nutné hledat strategie pro efektivnější využívání půdního fosforu i fosforu z dodaných hnojiv. Proto lze pro další výzkum doporučit zejména testování bioefektorů v půdách s různými vlastnostmi a hlubší mikrobiologické rozbory, sloužící k pochopení mechanismů účinnosti a k určení životaschopnosti produktů.

Klíčová slova: Bioefektory, rajčata, půda, makro- a mikroprvky.

Influence of bioeffectors application on phosphorus availability in substrate and on tomato yields

Summary

In the past few years, the Czech Republic has been trying to increase the input of plant available phosphorus (P) due to the increasing its bioavailability in soil. From the point of view agriculture properties we can say that there is only little amount of readily available P in soil. Plants are unable to take up phosphorus sufficiently, which is mainly due to the fact it is part of various less soluble soil compounds. Therefore, there are new technologies aiming to make P more plant available. One of these technologies are so called Bioeffectors

The aim of this bachelor thesis was to increase the plant available phosphorus content in soil due to the bioeffectors application and therefore increasing tomato yield and quality.

The bioeffectors used contained the following microorganisms: *Trichoderma harzianum*, strain T22, *Bacillus amyloliquefaciens*, strain FZB42 (RhizoVital), *Pseudomonas* sp. (pProradix) and a combination of *Trichoderma harzianum* with *Bacillus subtilis* with Zn and Mn added (CombiFactor). The plant height, above ground biomass yields, tomato fruit yields and the contents of selected macro and micronutrients in soil (bioavailable form) and tomatoes fruit (total form) were estimated.

From the results is clear that: a) in the majority of monitored parameters, significant differences between treatments were not observed; b) *Trichoderma* treatment, in comparison to the Proradix showed significantly higher Mg content in soil, but only at the significance level 0.05; c) the total content of sulfur in the tomato fruit at the *Trichoderma* treatment was significantly lower in comparison with the Proradix and Combifactor variations, and that at a significance level of 0.01.

In conclusion, it is possible to state that the application of bioeffectors, in the majority of cases, did not lead to significant changes of studied parameters. Therefore, it is necessary to look for new strategies that effectively increase the availability of phosphorus contained in soils and applied fertilizers. Therefore, it is possible to suggest further testing of bioeffectors in particular for further research in soils with varied characteristics and deeper microbiological analysis serving to understand the mechanisms of effectiveness and determine the viability of the products.

Keywords: Bioeffectors, tomatoes, soil, macro- and microelements

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíl práce.....	8
3. Hypotézy	9
4. Literární rešerše.....	10
4.1 Koloběh Fosforu.....	10
4.1.1 Fosfor v půdě	12
4.1.1.1 Minerální fosfor	14
4.1.1.2 Organický fosfor	15
4.1.2 Fosfor v rostlině	15
4.1.2.1. Nedostatek fosforu	17
2. 2 Bioefekty	17
2. 2. 1 Trichoderma harzianum	17
2. 2. 2. Bacillus amyloliquefaciens	18
2.2.3 Pseudomonas spp.....	18
5. Metodika	20
5.1. Analytická stanovení a vegetační testy.....	21
5.2. Stanovení hodnoty pH substrátu.....	21
5.3. Obsah prvků v zemině stanovený extraktem CAT	21
5.4. Stanovení obsahu přístupného vápníku vodným výluhem	22
5.5. Analýzy plodů rajčat.....	22
5.6. Obsah N v plodech rajčat	22
5.7. Zpracování výsledků	22
6. Výsledky	23
7. Diskuse	32
8. Závěr	34
9. Seznam literatury.....	35

1. Úvod

Fosfor je v přírodě velmi důležitý prvek. V rostlinách zodpovídá za mnoho důležitých procesů, jako například při tvorbě různých enzymů. Hlavně je však součástí nukleových kyselin a také základem sloučeniny ATP, která je energetickou hodnotou pro rostliny. To znamená, že se podílí prakticky na všech energetických procesech v buňkách, a tím se stává podstatnou součástí procesu fotosyntézy, která je základem pro růst rostlin.

I přes svou důležitost je poměrně obtížně přístupný pro rostliny. Ve zvýšené míře se nachází v minerálních sloučeninách, které musí projít určitým procesem proměny pro uvolnění fosforu ze svých vazeb. To znamená, že rostliny často trpí nedostatkem P.

Byla vyvinuta různá fosforečná hnojiva, která jsou do půdy dodávána, avšak v dnešní době se zjišťuje, že při opakované velké dávce těchto hnojiv půdu spíše zhoršují. Fosfor se místo zpřístupnění pro rostliny přesouvá do dalších minerálních sloučenin a reaguje s jinými prvky v půdě, a to především s železem a hliníkem a na karbonátových půdách s vápníkem. Velké dávky fosforu jsou aplikovány spíše v zemích, jako je Holandsko nebo jiné, kde těmito hnojivy často přehnojují. Pro naše podmínky spíše platí, že máme těchto hnojiv nedostatek a tím i nedostatek fosforu v půdě.

Proto se moderní společnost snaží najít odlišnou cestu jak zpřístupnit vázaný fosfor pro rostliny. Víme, že fosfor pro rostliny může být zpřístupněn za pomoci mikroorganismů. Mikroorganismus popř. houba si do svého těla fosfor zabuduje pro metabolické procesy a v případě jejího odumření se fosfor vyloučí do půdy v dobře přijatelné formě pro rostliny. Další možností je soužití mikroorganismů nebo hub s kořeny rostlin. Funguje na základě komunikace mikroorganismu s kořeny rostlin tak, že rostlina předává některé živiny mikroorganismu a mikroorganismus naopak předává některé živiny rostlině. Tato druhá možnost je významná právě pro fosfor.

Název „bioefektor“ vznikl přibližně před 5-ti lety. Základním principem této technologie je izolace a následné množení mikroorganismů a hub v laboratoři. Jedná se o mikroorganismy se zvýšenou schopností zabudovávat fosfor do svých struktur, ale zároveň schopností komunikovat s kořeny rostlin a navzájem si předávat živiny. V současné době je pěstováno mnoho mikroorganismů i hub, které mají odlišné vlastnosti, ale záměr je obdobný. Některé pouze upravují prostředí v okolí kořenů tak aby vzniklo vhodnější prostředí pro uvolnění fosforu z chemických vazeb, jiné komunikují s kořeny a předávají živiny. Tyto technologie se stále vyvíjejí. Výsledky pro současnou dobu nejsou nijak výrazné, ale stále věříme, že dojde k posunu a novým objevům.

2. Cíl práce

Cílem práce bylo prokázat účinnost bioefektorů na zvýšení mobility fosforu a ostatních vybraných živin v půdě chudé na P a tím i zvýšení výnosů a odběrů živin rajčaty.

3. Hypotéza

Aplikace bioefektorů - mikrobiálních přípravků podporujících růst kořenů a zvyšujících přístupnost P v substrátu - povede v substrátech chudých na fosfor k jeho mobilizaci a tím dojde i ke zvýšení výnosů rajčat. Kromě fosforu je možné, že dojde k mobilizaci i ostatních makro i mikroprvků v substrátu.

4. Literární rešerše

4.1. Koloběh fosforu

Fosfor (P) je důležitý makroprvek a přesné stanovení frakcí fosforu v environmentálních matricích, jako jsou přírodní vody a půdy je nezbytné pro pochopení biogeochemického cyklu tohoto prvku (Worsfold *et al.*, 2005).

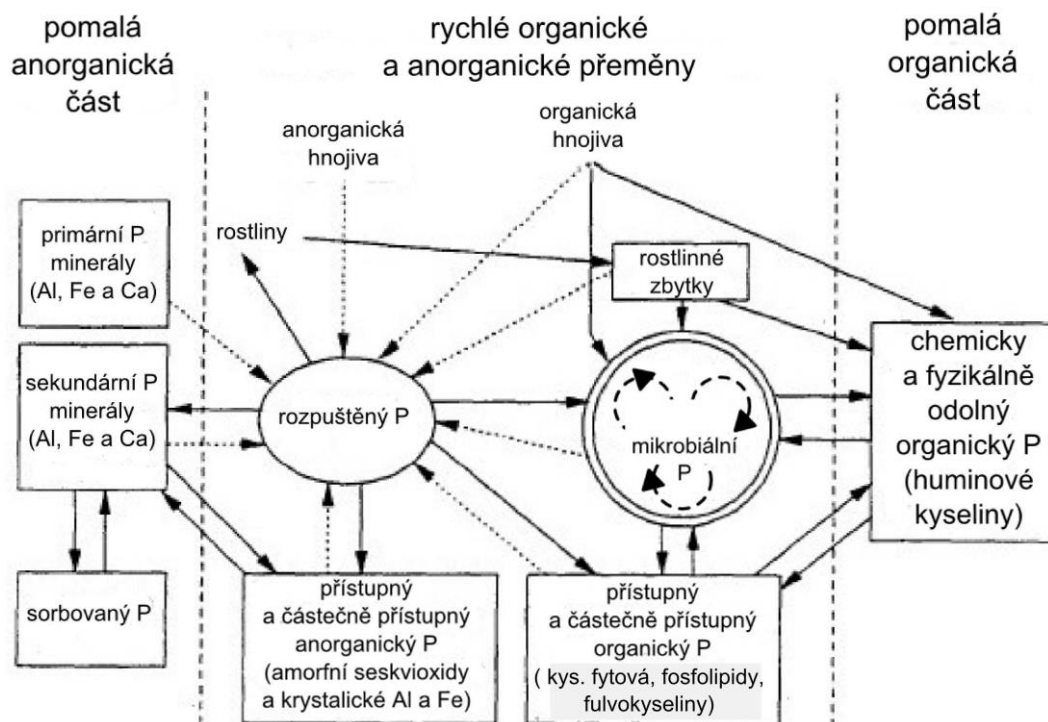
Je důležitou základní složkou energetického metabolismu všech forem života. Přírodní biogeochemický cyklus fosforu je masivní, ale velmi pomalý. Lidská činnost (těžba, zemědělství, krmení zvířat, spotřeba domácností) výrazně zintenzivňuje přírodní cyklus fosforu, který má za následek některé vážné ekologické problémy, jimž dnes čelí moderní společnost.

Zvláštní pozornost je věnována celkovému množství fosforu v zemědělské půdě, pohybu a transformaci fosforu v půdě, protože tyto pohyby fosforu v souvislosti s odvětvím zemědělství představují významné položky, které dominují antropogennímu cyklu fosforu.

Výsledky ukazují, že globální vstup fosforu na zemědělskou půdu, a to jak anorganických a organických forem z různých zdrojů, nemohou kompenzovat odběry fosforu sklizní a ztráty erozí. Čistá ztráta fosforu ze světové orné půdy se odhaduje na 10,5 milionu tun P ročně, což je téměř polovina fosforu vytěženého za rok (Liu et Chen, 2014; Mackey, 2009).

Biologická část cyklu P je řízena primárně bakteriálním a houbovým rozkladem, imobilizací a mineralizací a sekundárně odběrem rostlinami (Cross *et al.*, 1995). Mezi reakce ovlivňující cyklus P v půdě patří solubilizace, srážení, sorpce, desorpce, loužení, imobilizace a mineralizace. Např. desorpce je závislá na hodnotě pH. Pokud je hodnota pH vyšší, zvyšuje se desorpce a naopak. Sorpce a desorpce P je ovlivněna také koncentrací P v půdním roztoku a teplotou. Zvýšení koncentrace solí zvyšuje sorpci P a snižuje desorpci. Míra sorpce a desorpce P se zvyšuje s teplotou (Nash *et al.*, 2014; Soenne, 2009).

Obrázek 1. znázorňuje fakt, že v půdách se fosforečnany vyskytují v mnoha sloučeninách podle toho, z jakého zdroje a jakým způsobem se do půdy dostávají a v jaké fázi půdního cyklu se nachází (Richtr, 2008, Stewart et Sharpley, 1987).



Obr. 1: Cyklus fosforu v půdě v závislosti na rychlosti jednotlivých přeměn (Stewart et Sharpley, 1987).

Fosfor je základní živina potřebná pro rostliny, živočišnou výrobu a lidské zdraví. Tím se naše společnost na něm stala závislá. Více než 50 let jsou farmáři v rozvinutých zemích povzbuzováni k pořizování si P hnojiv, k doplnění P do hospodářské půdy, v co možné nejvyšší formě pro maximalizaci rostlinné produkce. V tomto kroku je povětšinou podporuje i vláda (Withters et al., 2014).

V současné době se 80 % fosforečných sloučenin používá k produkci průmyslových fosforečných hnojiv. Tato hnojiva přispěla k rozvoji západního zemědělství a k zelené revoluci, za cenu velkých finančních nákladů. Avšak tato situace způsobuje vyčerpání základních a kvalitních zásob P sloučenin v půdě. Fosforečná hnojiva mohou být také zdrojem nebezpečných a škodlivých prvků, které se z nich uvolňují, a to především kadmia a uranu (Sims et al., 1998).

Společnost po celou dobu spoléhá na anorganické sloučeniny fosforu (P). Tato závislost je nejen velmi neefektivní a stále nákladnější, ale vyčerpává omezené světové zásoby fosforu, a také může způsobit hromadění P v některých půdách a následnou infiltraci do povrchových vod a tím přispívá k celkové eutrofizaci (Richtr, 2008).

Rostlinné živiny z minerálních hnojiv a statkových hnojiv jsou pozitivní aktiva, jsou-li zachovány v půdě pro rostliny. Mohou se však stát látkami znečišťujícími v případě, že se vyplavují do vodních toků a spodních vod, z důvodu jejich vysokého potenciálu k přeměně na škodlivé kapalné či plynné emise (McGechan et Wu, 1998, McGechan et Lewis, 1998, 2000; Lewis et McGechan, 1998).

Základní problém je opakovaná aplikace chlévských hnojiv se zvýšeným obsahem P (Anderson et Wu, 2001)

4.1.1. Fosfor v půdě

Fosfor v půdě patří mezi nezastupitelné makrobiogenní prvky nezbytné pro růst a vývin rostlin a nemůže být nahrazen jiným prvkem. Přes jeho nezbytnost v rostlinném metabolismu, je jeho obsah v půdě poměrně nízký (Blume et al., 2002).

Celkové množství fosforu na Zemi je odhadováno řádově na 10^{19} tun, z nichž 10^{15} tun v zemské kůře, která v průměru obsahuje 0,12% P (Van Wazer 1958, Ivanič et al. 1984)

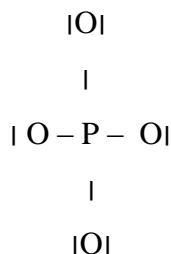
Rostlinné živiny jsou v půdě obsaženy v roztoku nebo vázané. V půdním roztoku je rozpuštěn jen nepatrný podíl (méně než 0,2%) celkové půdní zásoby živin (Larcher, 1988).

Celkové množství fosforu (P) v půdě kolísá od 0,01-0,15 %. Vyšší obsah P vykazují většinou půdy s vyšším obsahem organické hmoty, zatímco půdy lehké s malým obsahem organické hmoty mají obsah P nízký. Převážná část P obsaženého v půdě je pro rostliny nepřijatelná. Základem různých forem P v půdě jsou sloučeniny kyseliny trihydrogenfosforečné (H_3PO_4) a jen v menší míře vazby kyseliny difosforečné ($H_4P_2O_4$). Sloučeniny fosforu, sloužící jako potenciální zdroj pro výživu rostlin a půdních mikroorganismů, jsou minerální a organické sloučeniny (Vaněk et al. 2012).

Koncentrace a množství jednotlivých frakcí fosforu v půdě a jeho pohyb závisí na schopnosti půdy zapřavit P do svých struktur (McDowell et Sharpley; 2003).

Pohyb P směrem dolů půdním profilem je zpravidla velmi omezený, ale může dojít k jeho kumulaci ve střední vrstvě půdy (0,3-0,4 m), často za přispění intenzivního hnojení hnojem a kapalnými organickými hnojivy (Sharpey et al., 1984, Eghball et al. 1996).

Fosfor v přírodě se vyskytuje vždy ve svém nejvyšším oxidačním stupni, tj. pětimocný, je zpravidla jako aniont kyseliny ortofosforečné PO_4^{-3} , který lze strukturně znázornit následovně (Ivanič et al. 1984):



Vyšší obsah P je přítomen u většiny půd v povrchových vrstvách, protože se zde vyskytuje zvýšená biologická aktivita způsobená akumulací rostlinného materiálu (Schiling et al. 1997).

Fosfor, který se dostane do půdy, se v závislosti na podmínkách (především hodnotě pH a činnosti půdních mikroorganismů), velmi rychle váže na ionty Fe, Al a Ca a vytváří relativně stabilní sloučeniny anorganických fosfátových minerálů (apatity, vivianit, variscit, strengit). Fosfor se tedy stává součástí půdního komplexu. Výhodou je, že tyto stabilní formy půdního fosforu lze najít v celém rozmezí hodnot pH různých půd - v zásaditých půdách tvoří P sloučeniny s vápníkem, v kyselých půdách s železem a hliníkem. Celý proces je výsledkem chemických a biologických mechanismů v půdě a je ovlivněn množstvím různých faktorů (Nash, 2015).

Agronomicky nejvýznamnějším přirozeným zdrojem fosforu v půdě je primární minerál apatit, který se ve všech magmatických horninách vyskytuje rozptýlený v různých formách, tj. jako fluor-, chlor- a hydroxylapatit – $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 \cdot \text{F}(\text{Cl}, \text{OH})$, přičemž jeho podíl v bazických horninách je vyšší než v kyselých. V menší míře se nacházejí v půdách jako primární minerály fosforečnany železa s příměsí Mn – tripity nebo vodnaté fosforečnany hliníku – wavelity. V málo provzdušněných, zamokřených půdách může se také vyskytovat fosforečnan železnatý – vivianit $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$.

Zvětráváním primárních fosfátových minerálů se uvolňují anionty kyseliny ortofosforečné, které v důsledku sorpční schopnosti půdy přecházejí do jiných, tzv. sekundárních, velmi rozmanitých forem minerální nebo organické povahy. Přeměny fosforu

v půdě, ať už uvolněného zvětráváním, či dodaného v hnojivech, jsou podmíněny v podstatě třemi druhy sorpce:

1. Chemickou sorpcí – srážení fosfátových iontů z půdního roztoku dvojmocnými a trojmocnými kationty za vzniku těžko rozpustných sekundárních anorganických fosfátů,
2. Fyzikálně chemickou neboli výměnnou sorpcí – poutání fosfátových iontů na povrchu jílových minerálů a jiných koloidů,
3. Biologickou sorpcí – imobilizace fosforu životní činností mikroorganismů a rostlin (Ivanič et al., 1984).

Z uvedených skutečností vyplývá, že fosfor je v půdě málo pohyblivý, jeho obsah v půdním roztoku je nízký (Vaněk et al. 2012).

4.1.1.1. Minerální fosfor

V našich podmínkách mírného pásma obsah fosforu v minerálních vazbách tvoří zpravidla více než polovinu veškerého množství P v zemědělsky využívaných půdách. Převážná část minerálních sloučenin fosforu v půdě je ve formách ve vodě nerozpustných, a proto fosfor z nich je pro rostliny málo přístupný. Obsah vodorozpustných sloučenin je velmi malý a činí jen asi 0,8 a 8 mg P na 1 kg na vzduchu vyschlé půdy. Podíl přijatelného fosforu pro rostliny tvoří jen asi 1-8 % z celkového obsahu fosforu v půdě. Jelikož se anorganické fosfáty v půdě přeměňují vždy od méně stabilních forem k nejstabilnějším, tj. těžko rozpustným minerálním sloučeninám, lze obecně konstatovat, že v kyselých půdách jsou především fosforečnany železa a hliníku, v neutrálních a zásaditých půdách převládají fosforečnany vápenaté (Ivanič et al. 1984).

Z hlediska současného zemědělství se hledí především na možnosti kompenzace nedostatku a ztrát minerálního P v půdě. Tento případ může nastat zejména v případech, pokud jsou půdy lehké a písčité (Sims et al., 1998).

V **alkalických a neutrálních půdách** jsou v důsledku toho nejčastějšími formami anorganických fosforečnanů hydrogenfosforečnan vápenatý CaHPO_4 , tetrakalciumhydrogenfosfát $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, hydroxylapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, fluorapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, karbonátapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot \text{CO}_3$ a popřípadě i grandalit $\text{CaAl}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_5$, které jsou také většinou výslednými produkty přeměn fosforečných hnojiv v těchto půdách (J. Ivanič et al. 1984).

V **kyselých půdách** je fosfor vázán hlavně ve formě dihydroxyl-dihydrogen fosforečnanů Al a Fe, což jsou stabilní krystalické minerály série: variscit $\text{Al}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{PO}_4$, strengit $\text{Fe}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{PO}_4$ a jejich izomorfní směs barrandit (Ivanič et al. 1984).

4.1.1.2. Organický fosfor

V půdě tvoří integrální část půdní organické hmoty. Tato forma půdního P pochází z minerálního podílu fosforu, který byl do organických vazeb imobilizován biologickou sorpcí rostlinami a půdními mikroorganismy. Je to část celkového obsahu P v půdě, která je vázáná jak v humifikované organické hmotě (humusu), tak i ve zbytcích rostlinných a živočišných organismů a půdních mikrobů.

Organický fosfor představuje obvykle podstatnou část z celkového obsahu P v půdě, i když v zastoupení jsou mezi půdami značné rozdíly (od 10 do 80 %).

Biochemicky nejvýznamnější a nejreaktivnější organické sloučeniny P v půdě jsou fosforylované glycidy, zejména triózy a hexózy a fosforylované pyrimidinové sloučeniny. Jsou nositeli velkých kvant biochemicky využitelné energie, která je potřebná při mnoha reakcích v půdě (Ivanič et al. 1984).

4.1.2. Fosfor v rostlině

Fosfor jako makrobiogenní prvek je nepostradatelný pro růst a vývin rostlin. Celkový obsah fosforu v kulturních rostlinách se pohybuje mezi 0,1 a 0,5 % P v sušině (Sorauer, 1969).

Jeho rozdělení v rostlině závisí na stáří rostlinných orgánů a jejich funkcích. Mladá dělivá pletiva jsou fosforem bohatěji zásobena než pletiva vyvinutá nebo zestárlá.

Klíčovou roli hrají sloučeniny fosforu v transformaci ze sluneční energie na energii chemických vazeb pro fotosyntézu rostlin a jako poskytovatel chemické energie pro biosyntézu v rostlinách je P neobyčejně důležitou živinou (Hedley et al., 2002)

Fosfor je přijímán rostlinami ve formě aniontů kyseliny trihydrogenfosforečné, převážně ve formě H_2PO_4^- a HPO_4^{2-} . Příjem jednotlivých forem je závislý na pH půdy.

Rostliny jsou schopny přijímat fosfor i při velmi nízké koncentraci v půdním roztoku. Musí však překonávat značný koncentrační gradient (sto- až tisíckrát vyšší koncentrace v rostlinách než v půdním roztoku).

Příjem fosforu je aktivní proces, vyžadující dostatek energie. Zásobárnou této energie jsou makroergické vazby v ATP, uvolňující se pomocí enzymu ATPázy. Při nízkých teplotách mohou mít rostliny (zvláště teplomilné, u nichž asimilační procesy startují až při vyšších teplotách) k dispozici málo energie pro příjem P. Současně je značně omezena mineralizace organických sloučenin fosforu v půdě. Rostliny tak mohou přechodně vykazovat nedostatek P i při jeho dostatečném obsahu v půdě (Vaněk et al. 2012).

Rostliny mohou do určité míry příjem fosforu ovlivňovat. Pokud je v jejich pletivech jeho nedostatek, aktivují v membránách kořenů fosfatázy a přenašeče s vysokou afinitou k fosforečnanům s cílem zlepšit příjem P. Také mají snahu zvětšit prostor, ze kterého mohou fosfor získat - zvýšeným růstem kořenů na úkor nadzemní biomasy vytvářejí hustší kořenovou síť a větší množství vlásečnicových kořínků (Vaněk et al. 2012).

V rostlině se fosfor vyskytuje v anorganické formě i v organické vazbě a jejich vzájemný poměr je závislý na fyziologickém stádiu organismu a intenzitě příjmu P (Ivanič et al. 1984).

Ivanič a kol. (1984) uvádí, že anorganický fosfát je v rostlině velmi mobilní a podle Nátra a Laštůvky (1980) je přítomen ve vyšších koncentracích hlavně v buňkách vykazujících vysokou metabolickou aktivitu. V listech vzrostlých rostlin převládají organické sloučeniny P a minerální fosfát je zde přítomný ve zvýšené míře, pokud byly rostliny bohatě vyživovány fosforem. Velmi malé množství anorganického fosfátu je obsaženo v semenech rostlin.

Organické sloučeniny fosforu v rostlinách jsou velmi rozmanité a jde buď o estery kyseliny fosforečné, nebo o fosforylované sloučeniny (glycidy a pyramidové sloučeniny). Organofosfáty s esterickou vazbou kyseliny fosforečné jsou zpravidla biochemicky méně reaktivní a fosfát v nich je poměrně stabilně vázaný. Patří sem: fosfolipidy, fytin, nukleoproteiny a nukleové kyseliny (Ivanič et al. 1984).

Vaněk et al. (2012) uvádí, že fosforečná kyselina v živých systémech snadno reaguje s organickými látkami (s jejich skupinami OH) za vzniku organofosfátů, což jsou hlavně estery cukrů, glycerolu aj. Velmi významné jsou nukleotidy- fosforečné estery heteroglykosidů, jejichž sacharidovou složku tvoří ribóza a deoxyribóza a nesacharidovou složku purinová nebo pyramidová báze. Nukleotidy jsou velmi rozšířené složky organismů a plní v nich řadu funkcí: Přestavují stavební jednotky nukleových kyselin, aktivují meziprodukty v řadě biosyntéz, adenosinové nukleotidy jsou součástí důležitých kofaktorů enzymů a nukleosidpolyfosfáty jsou přenašeče energie v biologických systémech.

4.1.2.1. Nedostatek fosforu

U rostlin se projevuje méně často. Většinou se jedná o latentní nedostatek - na rostlinách nejsou zřetelné žádné zjevné příznaky nedostatku této živiny, ale pokud je jeho obsah v rostlinách nízký, nemohou probíhat všechny biochemické funkce na potřebné úrovni (Vaněk et al. 2012).

Dochází především k některým změnám habitu rostlin. Růst nadzemních orgánů a kořenů je potlačován, listy jsou malé a defoliace (odumírání listů), začínající vždy u starších listů, je předčasná. Velmi často se zdůrazňuje, že deficit fosforu inhibuje růst listů výrazněji než tvorbu chlorofylu, což vede k vytváření charakteristicky tmavě zelených nebo olivově zelených listů v důsledku zvýšeného obsahu chlorofylu na jednotku plochy listů (hyperchlorofylace) (Ivanič et al. 1984).

Nedostatek fosforu se projevuje i v souvislosti s nedostatky ostatních živin. Výzkum ukázal, že rostliny nebudou růst optimálně nebo využívat ostatní živiny účinně pokud obsah P nebude dostačující (Sims et al., 1998).

4.2. Bioefektory

Jednou z možností efektivnějšího využití fosforu i ostatních živin je využití takzvaných bioefektorů, tj. většinou mikrobiálních preparátů obsahujících mikroorganismy podporující růst kořenů, mykorhizu nebo uvolňování P z hůře přístupných forem (Withers et al., 2014).

V další části rešerše jsou uvedeny informace o mikroorganismech využitých v rámci této bakalářské práce.

4.2.1. *Trichoderma harazianum* (T22)

Trichoderma harazianum se pravidelně v zemědělství využívá, jako prostředek proti určitým chorobám. Právě proto, že v dnešní době je kladen velký důraz na omezení použití chemických látek, byly vyvinuty různé biologické možnosti na ochranu zemědělských plodin.

Jednou z nich je již výše zmíněná *Trichoderma harazianum*(T22). Ve studiích bylo zjištěno, že T22 omezuje tvorbu sklerocií na listech zemědělských plodin, a je tedy přirozeným pomocníkem proti *Calonestrii pauciramosy*, což je houba, která je celosvětovou hrozbou pro zemědělství.

Trichoderma harzianum vytváří s rostlinami dlouhodobý vztah na principu vzájemné symbiózy s kořeny rostlin. Z fyziologického hlediska bylo prokázáno, že T22 má pozitivní vliv na kořeny rostlin. Rostliny, které byly touto houbou ošetřeny, prokazovaly změny v tvorbě potřebných proteinů oproti rostlinám, které ošetřeny nebyly. U ošetřených rostlin došlo k vyšší tvorbě proteinů a rovněž vyšší odolnosti proti stresu. Také bylo prokázáno, že T22 může zvýšit výnosy rostlin (Horn et al., 2016).

Trichoderma harzianum má mnoho funkcí biologické kontroly. Může produkovat různá antibiotika nebo ergosterol, působících proti houbovým patogenům. Produkuje například antimykotické metabolity při přirozeném biologickém boji o prostor a živiny s mykoparazity (Harman et Björkman, 1998; Manczinger et Polner, 1985; Chet, 1987; Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991; Schirmböck et al., 1994)

4.2.2. *Bacillus amyloliquefaciens*

Bakterie, které spolupracují s kořeny rostlin a vytvářejí tak pro ně výhodné podmínky jsou označovány jako rhizobakterie. *Bacillus spp.* kam patří i *B. amyloliquefaciens* jsou známé tím, že produkují důležité enzymy a bioaktivní sloučeniny a proto jsou využívány jako prostředky biologické kontroly pro zemědělství (Compant et al., 2005; Lugtenberg et Kamilova, 2009; Ye et al., 2012)

B. amyloliquefaciens LS60 byl izolován z půdy v Pekingu v Číně. Tento kmen ukázal silné inhibiční vlastnosti proti několika patogenům zeleniny, jako například *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* a *Phytophthora capsici*. Dále ukázal potenciál pro rozpouštění draslíku a fosforu. Podle srovnávacích pokusů, které byly prováděny na rajčatech ve fázi sazenice, byly prokázány zlepšené vlastnosti v oblasti průměru stonku, výšky rostlin, plochy listů a podílu sušiny oproti ostatním kontrolním rostlinám. Proto je *B. amyloliquefaciens* dále více zkoumán z hlediska molekulárních mechanismů, jako například možný růstový stimulant, či možné opatření proti plísňovým chorobám rostlin (Yuxuan et al., 2015).

4.2.3 *Pseudomonas spp.*

Mikroorganismy se v oblasti rhizosféry živí kořenovými exudáty, a také organickým materiálem obsaženým v půdě. Poskytují rostlinám optimální příjem vody a živin prostřednictvím různých účinných mechanismů, jako je mobilizace P, podpora tvorby kořenových exudátů, mykorrhiza a ochrana. Mobilizace živin i ochrana rostlin přirozeně probíhá po celou vegetační dobu a tím způsobuje vyšší výnos i kvalitu plodů.

Po aplikaci přípravku Proradix obsahující právě bakterii *Pseudomonas spp.*, se bakterie v oblasti kořenů rostlin množí a dochází tak k růstu a vzniku nových kořenů. Kmen *Pseudomonas* posiluje buněčné stěny kořene a soutěží s půdními patogeny o kořenové exudáty (Anon 2000; Anon 2005).

5. Metodika

Nádobový pokus s rajčaty byl založen 5. 5. 2015. Do 6-ti litrových nádob bylo naváženo vždy 3,933 g zeminy (sušina 82 %) smíchané s 1,667 kg písku. V přepočtu na suchý substrát bylo tedy celkem naváženo 5 kg materiálu v poměru 2:1 (zemina : písek). Zemina pocházela ze stanoviště Humpolec (pokusná stanice Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v. v. i v Praze Ruzyni a České zemědělské univerzity v Praze). Bližší charakteristika stanoviště a zeminy je uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1.: Charakteristika pokusného stanoviště, ze kterého byla odebrána zemina

Stanoviště	Humpolec
Severní šířka	49°33'15" N
Východní délka	15°21'02" E
Nadmořská výška (m nad mořem)	525
Průměrná roční teplota (°C)	7,0
Průměrné roční srážky (mm)	665
Půdní typ	Kambizem
Půdní druh	Hlinitopísčítá
pH ¹⁾	5,1
P (mg/kg) ²⁾	77
K (mg/kg) ²⁾	238
Ca (mg/kg) ²⁾	1625
Mg (mg/kg) ²⁾	112

¹⁾ Stanoveno v 0,01 mol/l CaCl₂, 1:10 vzorek/vyluhovaslo (upraveno dle Minsany et al., 2011)

²⁾ Stanoveno ve vyluhu Mehlich 3 (Mehlich, 1984)

Celý pokus probíhal ve skleníku ČZU za řízených podmínek (teplota 20°C a vlhkost vzduchu 55 %). Celkem bylo založeno 20 pokusných nádob, přičemž do každé byla zasazena jedna sazenice keříčkového rajčete odrůdy Mobile předpěstovaného po dobu tří týdnů. Pro účely pokusu byly vždy ve čtyřech opakováních založeny varianty uvedené v tabulce 2.

Tabulka 2. Varianty pokusu a koncentrace preparátů

Varianta	Použitý bioefektor	Účinná látka	Koncentrace
1	Kontrola bez BE	-	-
2	RhizoVital	Bacillus amyloliquefaciens (FZB 42)	14,0 ml/l
3	Trianum	Trichoderma harzianum (OMG 08)	4,7 g/l
4	Proradix	Pseudomonas sp.	5,5 g/l
5	Combifactor	T. Harzianum+ B. Subtillis + Zn + Mn	4,0 g/l

Bioefektory byly aplikovány ve formě zásobního roztoku (koncentrace doporučené producentem uvedeny v tabulce 2.), a to vždy 5 ml zásobního roztoku přímo ke kořenům sazenice těsně před zasazením do nádob a zbylých 20 ml zásobního roztoku plošně na povrch zeminy v nádobách ihned po zasazení. Zalévání pokusu bylo realizováno dle hmotnosti nádob na 60 % vodní kapacity půdy. Pokus byl každých 14 dnů randomizován. Dne 12. 5. byl proveden postřik proti škůdcům přípravkem Perfection (0,01 %). Dne 12. 6. byl celý pokus přihnojen dusíkem v dávce 0,5 g N na nádobu. Plody rajčat byly sklizeny postupně během dozrávání až do 17. 9., kdy proběhla finální sklizeň vč. zbývajících nezralých plodů.

5.1. Analytická stanovení a vegetační testy

U rostlin rajčat byla průběžně měřena výška rostlin (26.6., 17.7. a 14.8.). Dílčí sklizně plodů proběhly 15., 22., 27. a 29.7., 4., 6., 10., 12., 17., 21., 28. a 31.8., 9. a 17.9. Plody byly po sklizni vždy zváženy a usušeny. Po stanovení podílu sušiny byly jemně rozemlety pro další analýzy. Po sklizni byly rovněž odebrány vzorky půdy a byla zvážena nadzemní hmota rostlin. Půdní vzorky byly přesety sítím s velikostí ok 5 mm a následně analyzovány.

5.2. Stanovení hodnoty pH substrátu

Pro stanovení hodnoty pH bylo naváženo 5 g usušené zeminy (< 2 mm), který reagoval po dobu 2 hodin (1hod. třepání, 1 hod. ustálení) s 50 ml demineralizované vody ve 100 ml třepacích lahvičkách. Po ustálení proběhlo měření aktivního pH přístrojem „HANNA Instruments, HI 991 300“ přímo v suspenzi.

5.3. Obsah prvků zemině stanovený extraktem CAT

Obsah přístupných forem vybraných makro- a mikroelementů v zemině po sklizni rajčat byl stanoven dle normy EN 13651. Tato evropská norma popisuje extrakční metodu pro stanovení živin a prvků extrahovatelných chloridem vápenatým a DTPA (diethylentriaminpentaoctová kyselina). Norma není vhodná pro stanovení vápníku. Vzorek byl extrahován při pokojové teplotě s roztokem 0,01 mol/l CaCl_2 a 0,002 mol/l DTPA v poměru 1:10 (pevná látka:kapalina). Po 1 hodině třepání byly vzorky zfiltrvány a získané extrakty měřeny. Obsah amonného a nitrátového dusíku byl stanoven spektrofotometricky na přístroji SKALAR SAN^{PLUS}SYSTEM. Pro stanovení přístupného P a mikroelementů byl

využit optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) a pro stanovení přístupných K a Mg atomový absorpční spektrometr (AAS).

5.4. Stanovení obsahu přístupného vápníku vodným výluhem

Extrakty byly zhotoveny dle Luscombe et al. (1979). K 10 g vzorku (< 2 mm) bylo doplněno 100 ml demineralizované vody. Vzorky byly třepány 1 hodinu a následně filtrovány. Vzniklé extrakty byly analyzovány na obsah přístupného vápníku pomocí ICP-OES.

5.5. Analýzy plodů rajčat

Nadzemní hmota analyzovaných rostlin byla usušena a jemně namleta. Bylo naváženo 0,25 g (\pm 0,005g) namletého materiálu. Ten byl rozložen pomocí mikrovlnného rozkladu působením koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku (7 + 2 ml). Získaný vzorek byl poté převeden na objem 25 ml pomocí demineralizované vody a analyzován ICP-OES pro stanovení obsahu makro- a mikroelementů s výjimkou N.

5.6. Obsah N v plodech rajčat

Obsah dusíku byl stanoven po rozkladu koncentrovanou kyselinou sírovou dle Kjeldahla (ČSN 46 1011-18). Pro extrakci bylo naváženo 0,500 g suchého, jemně namletého materiálu. Toto množství bylo mineralizováno 10 ml koncentrované kyseliny sírové, za přítomnosti selenového katalyzátoru po dobu 1 hod při teplotě 400 °C. Mineralizovaný materiál byl následně měřen přístrojem Gerhardt Vapodest 50s.

5.7. Zpracování výsledků

Pro statistické vyhodnocení byly využity základní popisné charakteristiky vypočtené v programu Microsoft Excel (Excel, 2010) a pokročilé statistické vyhodnocení (A-NOVA) bylo realizováno prostřednictvím programu Statistica (StatSoft, Inc., 2015).

6. Výsledky

V tabulce 1. jsou uvedeny obsahy minerálního dusíku, procento sušiny v substrátu a pH vodního výluhu substrátu. Procento sušiny se nacházelo v rozmezí hodnot 92,0-94,7 %. Nejnižší obsah sušiny byl naměřen u kontrolní varianty, zatímco naopak nejvyšší hodnoty obsahu sušiny dosáhla varianta s přípravkem Combifector.

Tabulka 1. Obsahy dusíku v sušině substrátu v podíl sušiny a hodnota pH substrátu.

Číslo	Varianta	% sušiny	pH/H ₂ O	N-NO ₃	N-NH ₄
				mg/kg	mg/kg
1	Kontrola	96,0	6,00	6,61	5,80
2	Kontrola	94,0	5,96	8,31	4,59
3	Kontrola	92,0	5,84	7,27	1,87
4	Kontrola	86,0	5,87	7,12	1,30
Průměr		92,0	5,9	7,30	3,40
5	Rhizovital 42	95,0	5,71	4,24	1,04
6	Rhizovital 42	95,0	5,89	3,75	2,52
7	Rhizovital 42	94,0	5,92	8,57	8,68
8	Rhizovital 42	93,0	5,74	3,52	1,40
Průměr		94,3	5,8	5,00	3,40
9	Trichoderma	93,0	5,74	6,87	1,72
10	Trichoderma	95,0	5,87	2,20	3,99
11	Trichoderma	93,0	5,84	2,32	1,87
12	Trichoderma	94,0	5,92	4,53	2,48
Průměr		93,6	5,8	4,00	2,50
13	Proradix	94,0	5,9	7,94	1,32
14	Proradix	94,0	5,88	1,88	1,53
15	Proradix	95,0	5,84	4,89	1,67
16	Proradix	94,0	5,85	0,22	0,20
Průměr		94,4	5,9	3,70	1,20
17	Combifector	95,0	5,84	6,25	1,02
18	Combifector	94,0	5,75	1,22	1,52
19	Combifector	95,0	5,86	5,66	1,90
20	Combifector	95,0	5,89	3,74	2,09
Průměr		94,7	5,8	4,20	1,60
F-test		1,07	1,16	1,54	1,07
Hladina významnosti		ns	ns	ns	ns

Hodnota pH substrátu se pohybovala v rozsahu 5,8-5,9, to značí pH neutrální až lehce kyselé. Dusík ve formě nitrátové byl v substrátu obsažen od 3,7 mg/kg až po 7,3 mg/kg. Nejvyšší hodnoty u nitrátové formy dusíku v substrátu byly naměřeny u kontrolní varianty. Naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u varianty s přípravkem Proradix. Obsah dusíku ve formě amonné byl naměřen v hodnotách pohybujících se od 1,2 mg/kg po 3,4 mg/kg. Z toho nejnižší hodnota byla zaznamenána u varianty s přípravkem Proradix, zatímco nejvyšší u varianty s přípravkem Rhizovital 42 a kontrolní varianty. Hodnoty v tabulce o obsahu dusíku, sušiny a pH substrátu byly ze statistického hlediska zhodnoceny jako neprůkazné, můžeme tedy říct, že sledované přípravky průkazně neovlivnily obsahy těchto sledovaných hodnot.

V tabulce 2. jsou zaznamenány obsahy přístupných makroprvků v substrátu. Průměrný obsah fosforu se pohyboval mezi 9,68-11,1 mg/kg. Nejvyšší obsah byl naměřen u varianty s přípravkem Proradix a naopak nejnižší průměrný obsah byl naměřen u kontrolní varianty. Průměrné obsahy draslíku dosahovaly hodnot od 20,4-23,3 mg/kg. Nejnižší obsah byl naměřen u varianty s přípravkem Combifector, zatímco nejvyšší hodnoty vykazovala varianta obsahující přípravek Trichoderma. U obsahu vápníku v substrátu se hodnoty pohybovaly v rozmezí 17,4-69,8 mg/kg. Zde nejvyššího průměrného obsahu dosahovala varianta s přípravkem Trichoderma. Naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u kontrolní varianty. V tabulce dále můžeme vidět, že průměrné obsahy hořčíku v substrátu rostliny dosahovaly hodnot v rozsahu 67,6-78,9 mg/kg. Nejnižší obsah této živiny vykazuje varianta s přípravkem Proradix a nejvyšší hodnotu naopak můžeme pozorovat u varianty s přípravkem Trichoderma. Obsahy síry byly velmi vyrovnané a dosahovaly hodnot od 1,96 mg/kg do 2,23 mg/kg. Nejvyšších hodnot dosahovala varianta s přípravkem Trichoderma a nejnižší hodnoty byly naměřeny u varianty s přípravkem Proradix. Ze statistického hodnocení bylo zjištěno, že v obsahu P, K, Ca, a S v substrátu rostlin u sledovaných variant nebyly nalezeny statisticky průkazné rozdíly mezi variantami. Z toho můžeme usuzovat, že použité přípravky průkazně neovlivnily obsah těchto prvků v substrátu. Pouze v případě hořčíku byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi variantami Trichoderma a Proradix, avšak jen při nižší hladině významnosti 0,05.

Tabulka 2. Průměrné obsahy makroprvků v sušině substrátu

		P	K	Ca	Mg	S
číslo	varianta	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1	kontrola	8,52	23,7	16,3	61,6	1,55
2	kontrola	9,29	19,8	17,9	72,4	2,06
3	kontrola	11,8	19,5	18,5	75,7	1,97
4	kontrola	9,11	27,4	16,9	75,0	2,27
Průměr		9,68	22,6	17,4	71,2^{ab}	2,00
5	Rhizovital 42	11,1	20,3	17,4	71,8	2,01
6	Rhizovital 42	11,0	20,7	20,3	81,3	2,39
7	Rhizovital 42	9,61	21,9	12,9	79,5	1,96
8	Rhizovital 42	10,5	23,7	18,0	80,1	2,17
Průměr		10,6	21,7	68,6	78,2^{ab}	2,12
9	Trichoderma	10,9	21,2	18,3	81,4	2,40
10	Trichoderma	10,8	27,0	18,4	75,2	1,87
11	Trichoderma	8,58	23,9	17,6	83,3	3,17
12	Trichoderma	11,3	21,1	15,5	75,5	1,48
Průměr		10,4	23,3	69,8	78,9^a	2,23
13	Proradix	11,2	22,0	15,5	69,1	2,45
14	Proradix	10,7	24,7	17,0	74,2	2,03
15	Proradix	11,2	25,3	18,6	66,6	2,17
16	Proradix	11,2	19,6	17,5	60,4	1,17
Průměr		11,1	22,9	68,6	67,6^b	1,96
17	Combifector	10,2	21,3	16,5	73,3	1,88
18	Combifector	13,4	19,5	14,8	84,0	2,11
19	Combifector	10,5	18,8	15,9	75,1	2,64
20	Combifector	9,79	22,0	13,6	72,6 ^{ab}	2,09
Průměr		11,0	20,4	60,8	76,2	2,21
F-test		0,88	0,80	0,56	3,39	0,50
Hladina významnosti		ns	ns	ns	0,05	ns

V tabulce 3. Jsou uvedeny obsahy vybraných mikroprvků v substrátu. Obsah železa v substrátu se pohyboval v rozmezí 94,2-114 mg/kg. Z toho nejnižší hodnoty byly naměřeny u kontrolní varianty a naopak nejvyšší hodnoty u varianty s přípravkem Proradix. Průměrný obsah mědi v substrátu dosahoval nejvyšší hodnoty u varianty s přípravkem Proradix a nejnižší hodnoty u varianty přípravku Combifector. Obsahy mědi se zde pohybovaly od 2,23 mg/kg po 2,53 mg/kg. Mangan se v substrátu pohyboval v rozmezí 96,1-119 mg/kg. Nejnižší

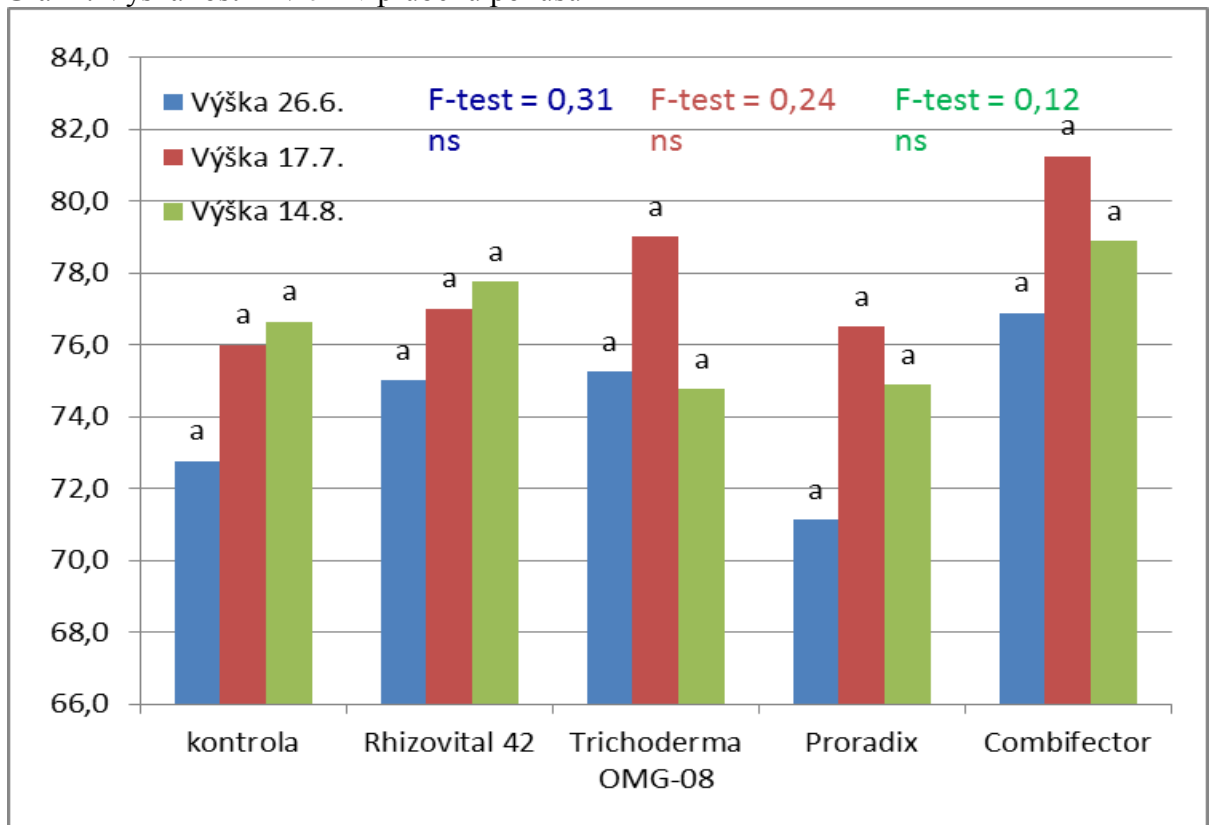
průměrný obsah manganu v substrátu byl naměřen u kontrolní varianty a naopak nejvyšší průměrný obsah byl naměřen u varianty s přípravkem Proradix. Zinek byl v substrátu obsažen v rozsahu 1,28-1,44 mg/kg. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u varianty Proradix a nejnižší u varianty s přípravkem Combifector. Průměrné obsahy Fe, Cu, Mn a Zn byly ze statistického hlediska hodnoceny jako neprůkazné.

Tabulka 3. Průměrné obsahy vybraných mikroprvků v sušině substrátu

		Fe	Cu	Mn	Zn
Číslo	Varianta	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1	Kontrola	98,3	2,62	96,8	1,33
2	Kontrola	91,2	1,95	99,6	1,30
3	Kontrola	105	2,65	110	1,35
4	Kontrola	81,8	2,02	78,1	1,34
Průměr		94,2	2,27	96,1	1,33
5	Rhizovital 42	105	2,31	117	1,28
6	Rhizovital 42	103	2,34	110	1,21
7	Rhizovital 42	111	2,54	112	1,39
8	Rhizovital 42	102	2,27	108	1,36
Průměr		105	2,36	112	1,31
9	Trichoderma	99,4	2,40	104	1,38
10	Trichoderma	100	2,46	112	1,44
11	Trichoderma	98,8	2,36	105	1,29
12	Trichoderma	114	2,49	120	1,44
Průměr		103	2,43	110	1,39
13	Proradix	101	2,37	108	1,25
14	Proradix	106	2,51	113	1,23
15	Proradix	129	2,55	125	1,61
16	Proradix	118	2,70	127	1,66
Průměr		114	2,53	119	1,44
17	Combifector	105	2,41	110	1,42
18	Combifector	106	2,43	119	1,36
19	Combifector	87,0	1,92	87,8	1,07
20	Combifector	105	2,15	104	1,27
Průměr		101	2,23	105	1,28
F-test		2,50	1,12	2,76	0,90
Hladina významnosti		ns	ns	ns	ns

V grafu 1. jsou uvedeny zaznamenané při měření průměrných výšek rostlin. První změřené průměrné výšky byly měřeny 26. 6., s tím že se pohybovaly v rozmezí 71,1-76,9 cm. Nejvyšší rostliny byly změřeny u varianty Combifektor, naopak nejnižší výška byla naměřena u varianty Proradix. Další měření proběhlo 17. 7 a hodnoty průměrné výšky byly naměřeny v rozsahu 76,0-81,3 cm. Nejnižší výšku v té době měly rostliny u varianty Proradix a nejvyšší rostliny byly zaznamenány u varianty Combifektor. Poslední měření bylo prováděno 14. 8., kdy stejně jako u předchozích měření byly nejnižší rostliny naměřeny u varianty Proradix (74,9 cm) a naopak nejvyšší rostliny u varianty přípravku Combifektor (78,9 cm). Rozdíly ve výšce rostlin s ohledem na testované varianty byly ze statistického hlediska shledány jako neprůkazné. Můžeme tedy říct, že použité bioefektory průkazně neovlivnily průměrnou výšku rostlin. V oblasti výšky rostlin, průměru stonku a dalších vlastností, dosáhl

Graf 1. Výška rostlin v cm v průběhu pokusu



V tabulce 4. jsou zaznamenány charakteristiky plodů a hmotnost nadzemní části rostlin. Množství plodů, které na rostlinách vyrostly, se pohybují v průměrných hodnotách mezi 4-7 kusy. Nejvíce plodů bylo sklizeno z rostlin kontrolní varianty, naopak nejméně plodů bylo sklizeno u varianty s přípravkem Combifector.

Tabulka 4. Výnosy plodů a nadzemní hmoty rostlin

Číslo	Varianta	Plody				Nadzemní hmotá
		ks	čerstvá(g)	suchá (g)	% sušiny	po sklizni (g)
1	kontrola	5,00	272	21,5	7,91	75,0
2	kontrola	5,00	303	20,8	6,86	95,5
3	kontrola	7,00	485	33,6	6,92	88,0
4	kontrola	11,0	386	35,1	9,09	15,5
	Průměr	7,00	362	27,8	7,7	68,5
5	Rhizovital 42	3,00	164	14,1	8,58	82,0
6	Rhizovital 42	6,00	280	20,5	7,34	91,0
7	Rhizovital 42	5,00	315	20,9	6,63	91,0
8	Rhizovital 42	11,0	368	26,2	7,12	58,5
	Průměr	6,25	282	20,4	7,4	80,6
9	Trichoderma	5,00	331	23,3	7,04	90,5
10	Trichoderma	5,00	285	21,4	7,52	103
11	Trichoderma	8,00	257	19,1	7,44	115
12	Trichoderma	4,00	324	23	7,10	68,0
	Průměr	5,50	299	21,7	7,3	94,1
13	Proradix	4,00	281	17,3	6,15	75,5
14	Proradix	4,00	227	18,4	8,11	93,5
15	Proradix	7,00	332	25,3	7,62	78,5
16	Proradix	6,00	331	22,9	6,92	57,0
	Průměr	5,30	293	21,0	7,2	76,1
17	Combifector	6,00	274	21,3	7,75	99,5
18	Combifector	5,00	230	18,8	8,18	90,0
19	Combifector	2,00	215	13,9	6,46	86,5
20	Combifector	3,00	230	17,1	7,43	98,5
	Průměr	4,00	237	17,8	7,5	93,6
	F-test	0,90	1,90	2,45	0,23	1,12
	Hladina významnosti	ns	ns	ns	ns	ns

Průměrná hmotnost čerstvé hmoty sklizených plodů byla naměřena v rozsahu 237-362 g. Nejnižší hmotnost měla varianta s bioefektorem Combifector a nejvyšší hodnota byla zaznamenána u kontrolní varianty. Po odstranění vody z rajčat byly zváženy i usušené

plody. Jejich hmotnost se pohybovala od 17,8 g po 28,7 g. Nejvyšší hodnoty byly jako u předchozích zaznamenány u kontrolní varianty a nejnižší naopak u varianty přípravku Combifector. Dále byl stanoven obsah sušiny, který se pohyboval v rozmezí 7,2-7,7 %. Nejvíce sušiny bylo obsaženo v plodech varianty kontrolní, zatímco nejnižší procento sušiny bylo změřeno u varianty s přípravkem Proradix. Dále byla zvážena hmotnost nadzemní hmoty po sklizni. Z tabulky můžeme vidět, že nejvyšší hmotnost nadzemní části byla změřena u varianty, která obsahovala bioefektor Trichoderma (94,1 g), naopak nejnižší průměrnou hmotnost nadzemní hmoty měla kontrolní varianta. Statistické měření zaznamenalo, že hodnoty naměřené pro množství plodů, hmotnost čerstvých plodů, hmotnost suchých plodů, procento sušiny plodů a hmotnost nadzemní části, byly neprůkazné. Můžeme tedy tvrdit, že použité bioefektory průkazně neovlivnily ani tyto sledované vlastnosti rostliny.

V tabulce 5. jsou uvedeny obsahy makroprvků v plodech rajčat po sklizni pokusů. Průměrný obsah dusíku se pohyboval od 1,7 do 2,0 %. Nejvyšší obsahy byly naměřeny shodně u kontrolní varianty a varianty ošetřené přípravkem Proradix. Průměrné obsahy fosforu dosahovaly hodnot 227 - 251 mg/kg. Nejnižší obsah byl naměřen u varianty Proradix a nejvyšší naopak u varianty Combifector. Obsahy draslíku dosahovaly hodnot v rozmezí 2,70 - 3,06 %. Nejvyšší obsah byl stanoven u varianty Proradix a nejnižší u Trichoderma. Nejvyšší obsah vápníku byl naměřen rovněž u varianty Proradix. Nejméně Ca bylo naopak stanoveno u kontrolní varianty. Nejvyšší množství hořčíku v plodech rajčat vykazovaly shodně varianty kontrola a Rhizovital (1243 mg Mg/kg). Nejméně hořčíku bylo naopak naměřeno u varianty Trichoderma (1154 mg Mg/kg). Ze statistického hodnocení je zřejmé, že rozdíly v obsahu N, P, K, Ca, Mg mezi sledovanými variantami byly statisticky neprůkazné. Lze tedy usuzovat, že použité bioefektory průkazně neovlivnily obsah těchto prvků v plodech rajčat. Jediné průkazné rozdíly mezi variantami byly zaznamenány u celkového obsahu síry. Průkazně nejnižší obsah S byl naměřen u varianty Trichoderma - 866 mg/kg. Naopak průkazně nejvyšší hodnoty vykazovaly varianty Proradix a Combifector. Průkazných rozdílů bylo dosaženo při vyšší hladině významnosti 0,01. Z výsledků je pravděpodobné, že přípravek Trichoderma mohl rostlinám konkurovat odčerpáním přístupných zásob síry ze substrátu, a tím snížit i její obsah v plodech. Přípravky Proradix a Combifector naopak pravděpodobně mobilizovaly síru z hůře přístupných forem, což vedlo k jejímu zvýšení v plodech rajčat. Další možné vysvětlení je, že změny ovlivnily i jiné nesledované faktory, např. přirozeně se vyskytující půdní mikroorganismy.

Tabulka 5. Celkový obsah makroprvků v plodech rajčat

Číslo	Varianta	N	P	K	Ca	Mg	S
		%	mg/kg	%	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1	kontrola	2,14	221	2,83	792	1250	860
2	kontrola	1,98	235	3,07	580	1207	905
3	kontrola	1,77	245	2,59	609	1166	849
4	kontrola	1,92	224	3,04	617	1348	932
Průměr		1,95	231	2,88	650	1243	886^{ab}
5	Rhizovital 42	1,59	260	2,53	622	1137	863
6	Rhizovital 42	1,76	254	2,68	827	1222	972
7	Rhizovital 42	2,06	245	3,17	647	1288	949
8	Rhizovital 42	2,06	223	2,97	797	1327	892
Průměr		1,86	245	2,84	723	1243	919^{ab}
9	Trichoderma	1,63	246	2,70	670	1186	866
10	Trichoderma	1,63	231	2,55	573	1085	901
11	Trichoderma	1,48	243	2,54	890	1067	743
12	Trichoderma	1,99	220	3,00	769	1279	952
Průměr		1,68	235	2,70	726	1154	866^a
13	Proradix	2,16	217	3,09	721	1170	987
14	Proradix	2,00	239	3,07	626	1213	1008
15	Proradix	1,99	220	2,93	682	1238	1031
16	Proradix	1,96	231	3,16	903	1200	974
Průměr		2,02	227	3,06	733	1205	1000^b
17	Combifector	1,65	228	2,60	721	1081	918
18	Combifector	1,93	244	3,01	600	1220	1052
19	Combifector	2,03	282	3,09	613	1302	1121
20	Combifector	1,79	252	2,93	741	1258	1086
Průměr		1,85	251	2,91	669	1215	1043^b
F-test		2,16	1,78	1,45	0,50	0,82	5,70
Hladina významnosti		ns	ns	ns	Ns	ns	0,01

V tabulce 6. jsou uvedeny celkové obsahy vybraných mikroprvků v plodech rajčat. Obsah železa byl naměřen v rozmezí 27,6 - 43,0 mg/kg. Nejvyšší obsah železa byl naměřen v kontrolní variantě, naopak nejnižší obsah železa byl zjištěn ve variantě s přípravkem Trichoderma. Obsahy mědi se pohybovaly v rozsahu 6,63 - 8,26 mg/kg. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u varianty RhizoVital a nejnižší stejně jako u předchozí živiny u varianty s přípravkem Trichoderma. Nejvyšší obsahy zinku v rostlině byly naměřeny u varianty s přípravkem Combifector 16,4 mg/kg, a naopak nejnižší hodnoty byly naměřeny u varianty Trichoderma 11,4 mg/kg. Průměrný obsah manganu v rostlině byl nejvyšší u varianty s přípravkem Trichoderma a nejnižší naopak u varianty Proradix a to v hodnotách od 10,6 mg/kg do 11,3 mg/kg. Obsahy hliníku byly naměřeny v hodnotách od 8,80 mg/kg do 13,3

mg/kg. Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u kontrolní varianty a naopak nejnižší obsah byl naměřen u varianty přípravku Combifector. Všechny hodnoty byly ze statistického hlediska změřeny jako neprůkazné. Můžeme tedy říci, že obsah Fe, Cu, Zn, Mn a Al nebyly průkazně ovlivněny přípravky vybranými pro pokus.

Tabulka 6. Celkový obsah vybraných mikroprvků v sušině plodů rajčat

		Fe	Cu	Zn	Mn	Al
Číslo	Varianta	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1	Kontrola	40,0	6,58	14,8	12,0	12,2
2	Kontrola	35,8	6,94	13,7	10,3	12,3
3	Kontrola	52,1	9,71	11,8	9,90	12,0
4	Kontrola	44,2	9,23	15,1	10,1	16,6
Průměr		43,0	8,11	13,9	10,6	13,3
5	RhizoVital 42	24,3	9,71	12,7	11,9	16,5
6	RhizoVital 42	31,4	6,34	15,3	11,0	5,15
7	RhizoVital 42	34,5	9,60	14,0	10,8	7,02
8	RhizoVital 42	34,7	7,40	12,4	11,0	10,4
Průměr		31,2	8,26	13,6	11,2	9,75
9	Trichoderma	23,9	6,34	12,1	11,1	7,38
10	Trichoderma	23,3	6,43	11,4	10,2	6,85
11	Trichoderma	30,8	6,67	10,3	11,4	8,39
12	Trichoderma	32,3	7,08	11,7	12,6	15,0
Průměr		27,6	6,63	11,4	11,3	9,41
13	Proradix	25,2	9,05	13,1	10,2	8,39
14	Proradix	32,9	6,98	14,5	11,1	9,78
15	Proradix	33,6	7,77	12,2	11,1	9,48
16	Proradix	33,0	7,24	19,8	10,2	7,53
Průměr		31,2	7,76	14,9	10,6	8,80
17	Combifector	24,7	7,27	15,2	11,2	8,75
18	Combifector	30,0	7,93	19,5	12,0	8,49
19	Combifector	26,6	7,17	14,8	9,80	11,5
20	Combifector	49,4	7,09	16,2	11,8	17,3
Průměr		32,7	7,37	16,4	11,2	11,5
F- test		2,86	1,34	3,29	0,68	1,08
Hladina významnosti		ns	ns	ns	ns	ns

7. Diskuze

Ve výsledcích svých pokusů s *B. amyloliquefaciens* Yuxuan et al. (2015) uvádějí, že podle srovnávacích pokusů, které byly prováděny na sazenicích rajčat, byly prokázány jejich zlepšené vlastnosti z hlediska průměru stonku, výšky rostlin, plochy listů a podílu sušiny oproti ostatním kontrolním rostlinám. Proto je *B. amyloliquefaciens* dále více zkoumán z hlediska molekulárních mechanismů jako například možný růstový stimulátor, či možné opatření proti plísňovým chorobám rostlin. V našem případě byly rozdíly ve výšce rostlin v průběhu pokusu i při jeho sklizni mezi kontrolní variantou a variantou ošetřenou RhizoVitalem statisticky neprůkazné.

V pokusech, které prováděli Horn et. al (2016) bylo uvedeno, že *Trichoderma harzianum* vytváří s rostlinami dlouhodobý vztah prostřednictvím symbiózy. Z fyziologického hlediska bylo prokázáno, že T22 měla pozitivní vliv na kořeny rostlin. Rostliny, které byly touto houbou ošetřeny, prokazovaly změny v tvorbě potřebných proteinů oproti kontrolním neošetřeným rostlinám. U ošetřených rostlin došlo k vyšší tvorbě proteinů a rovněž vyšší odolnosti proti stresu. Rovněž zde bylo prokázáno, že aplikace Trichodermy T22 vedlo ke zvýšení výnosů rostlin. To se však v našich pokusech nepotvrdilo.

Anonym (2000) uvádí, že mobilizace živin i ochrana rostlin po přidání vybraných bakterií *Pseudomonas* přirozeně probíhá po celou vegetační dobu a tím se podílí na vyšším výnosu i kvalitě plodů. Po aplikaci přípravku Proradix, obsahujícím právě bakterie *Pseudomonas spp.*, se bakterie v oblasti kořenů rostlin množí a dochází tak k růstu a vzniku nových kořenů. Kmen *Pseudomonas* posiluje buněčné stěny kořene a soutěží s půdními patogeny o kořenové exudáty. V našem pokusu se zkoumaný vliv Proradixu na výnos rostlin rajčat statisticky průkazně nepotvrdil.

Vaněk et al. (2012) v literatuře uvádí, že: Celkové množství fosforu (P) v půdě kolísá od 0,01-0,15 % (tj. 100 – 1500 mg/kg P). Vyšší obsah P vykazují většinou půdy s vyšším obsahem organické hmoty, zatímco půdy lehké s malým obsahem organické hmoty mají obsah P nízký.

V našem pokusu byl měřen pouze obsah přístupného P. Blume et al. (2002) uvádějí, že obsah přístupného P ve srovnání s celkovým obsahem tvoří pouze méně než 10 %. Proto hodnoty 9,68-11,1 mg/kg odpovídají, spíše nižším hodnotám přístupného P. Půdy s nižším obsahem P, byly pro tento pokus zvoleny záměrně, aby rostliny nevyužívaly P z přístupných forem v půdě a využily naopak fosfor zprostředkovaný aplikovanými bioefektory.

Sorauer (1969) ve své studii uvádí že, fosfor jako makrobiogenní prvek je nepostradatelný pro růst a vývin rostlin. Celkový obsah fosforu v kulturních rostlinách se pohybuje mezi 0,1 a 0,5 % P v sušině. V našem pokusu dosahovaly hodnoty obsahu fosforu v plodech rajčat 227 - 251mg/kg, tj. 0,02 – 0,03 %. Jednalo se tedy o hodnoty přibližně 10 x nižší. To lze vysvětlit faktem, že distribuce fosforu v rostlině je nerovnoměrná a v některých částech jsou jeho obsahy nižší (Vaněk, 2012). Studie Sorauera (1969) uvádí pouze průměrný obsah P v sušině celé rostliny bez ohledu na jeho distribuci.

Vaněk et al. (2012) dále uvádí že: Fosfor je přijímán rostlinami ve formě aniontů kyseliny trihydrogenfosforečné, převážně ve formě H_2PO_4^- a HPO_4^{2-} . Příjem jednotlivých forem je závislý na pH půdy. Rostliny jsou schopny přijímat fosfor i při velmi nízké koncentraci v půdním roztoku. Musí však překonávat značný koncentrační gradient (sto- až tisíckrát vyšší koncentrace v rostlinách než v půdním roztoku). V našem pokusu pH dosahovalo rozsahu hodnot 5,8-5,9, což značí pH neutrální až lehce kyselé a jednalo se tedy o vhodné podmínky pro příjem P.

Nash (2015) dále uvádí že: Fosfor, který se dostane do půdy, se v závislosti na podmínkách (především hodnotě pH a činnosti půdních mikroorganismů), velmi rychle váže na ionty Fe, Al a Ca a vytváří relativně stabilní sloučeniny anorganických fosfátových minerálů (apatity, vivianit, variscit, strengit). Fosfor se tedy stává součástí půdního komplexu.

Výhodou je, že tyto stabilní formy půdního fosforu lze najít v celém rozmezí hodnot pH různých půd - v zásaditých půdách tvoří P sloučeniny s vápníkem, v kyselých půdách s železem a hliníkem. Celý proces je výsledkem chemických a biologických mechanismů v půdě a je ovlivněn množstvím různých faktorů. V našem pokusu tedy mohlo být nepatrné či patrné množství fosforu vázáno právě do vazeb tvořených s železem.

Obsah železa v našem pokusu byl naměřen v hodnotách 94,2-114 mg/kg. Toto tvrzení mohou podpořit fakta uvedená od Ivanič et al. (1984) a to, že podíl přijatelného fosforu pro rostliny tvoří jen asi 1-8 % z celkového obsahu fosforu v půdě. Jelikož se anorganické fosfáty v půdě přeměňují vždy od méně stabilních forem k nejstabilnějším, tj. těžko rozpustným minerálním sloučeninám, lze obecně konstatovat, že v kyselých půdách jsou především fosforečnany železa a hliníku, v neutrálních a zásaditých půdách převládají fosforečnany vápenaté

8. Závěr

Bakalářská práce vycházela z hypotézy, že bioefektory budou zpřístupňovat fosfor a další vybrané živiny z hůře rozpustných forem v půdě, a to prostřednictvím mykorhizy, podpory růstu kořenů nebo produkcí sloučenin rozpouštějících stabilní formy fosforu. Rajčata byla vybrána jako jedna z nejnáročnějších zahradních plodin na fosfor.

Cílem práce bylo prokázat účinnost bioefektorů na zvýšení mobility fosforu a ostatních vybraných živin v půdě chudé na P a tím i zvýšení výnosů a odběrů živin rajčaty.

V rámci práce byly použity bioefektory obsahující následující mikroorganismy: *Trichoderma harzianum*, kmen T22, *Bacillus amyloliquefaciens*, kmen FZB42, *Pseudomonas sp.* a kombinace *Trichodermy harzianum* s *Bacillus subtilis* s přidanými mikroprvky Zn a Mn. Byl sledován vliv přidaných bioefektorů na výšku, hmotnost nadzemní hmoty a výnos plodů rajčat; obsah přístupných makroprvků a vybraných mikroprvků v substrátu a dále pak celkový obsah makroprvků a vybraných mikroprvků v plodech rajčat.

Z výsledků nádobových pokusů s rajčaty realizovaných ve skleníku ČZU v Praze, můžeme vyvodit následující tvrzení:

- Ve většině sledovaných parametrů nebyly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly mezi variantami
- Obsah hořčíku v substrátu byl průkazně vyšší u varianty *Trichoderma* ve srovnání s variantou Proradix, avšak pouze při nízké hladině významnosti 0,05.
- Celkový obsah síry v plodech u varianty *Trichoderma* byl průkazně nižší ve srovnání s variantami Proradix a Combifector, a to při hladině významnosti 0,01.

Závěrem lze konstatovat, že aplikace bioefektorů ve většině případů nevedla ke statisticky průkazné změně sledovaných parametrů. Stále je však nutné hledat strategie pro efektivnější využívání půdního fosforu i fosforu z dodaných hnojiv. Proto lze pro další výzkum doporučit zejména testování bioefektorů v půdách s různými vlastnostmi a hlubší mikrobiologické rozborů sloužící k pochopení mechanismů účinnosti a k určení životaschopnosti produktů.

V případě tohoto pokusu byl sledovaný především fosfor pro rostlinu, jehož obsah nebyl nijak průkazně ovlivněn. Pokus tedy určil, že použité Bioefektory prozatím neovlivňují tuto živinu, ale tyto přípravky se stále vyvíjejí a očekáváme změnu.

9. Seznam použité literatury:

Anderson R., Wu Y., 2001: Phosphorus quantity-intensity relationship and agronomic measures of P in surface layers of soil from a long-term slurry experiment. *Chemosphere*. 42 (2). 161 - 170.

Anon. 2000. Sourcon Padena GmbH & Co. KG. Top quality potatoes due to the excellent broad effectivity [online]. [sourcon-padena.com](http://www.sourcon-padena.com). 2000 [cit. 2016-02-05]. Dostupné <<http://www.sourcon-padena.com/produkte/proradix/>>.

Anon 2005. Intrachem Bio. Proradix® - Biologischer Phosphatmobilisator [online]. [intrachem-bio.de](http://www.intrachem-bio.de). 2005: [cit 2016-02-05]. Dostupné <<http://www.intrachem-bio.de/produkte/duengemittel/>>.

Blume, H. P., Brümmer, G. W., Schwertmann, U., Horn, R., Knabner, I. K., Stahr, K., Auerswald, K., Beyer, L., Hartmann, A., Litz, N., Scheinost, A., Stanjek, H., Welp, G., Wilke, B. M. 2002: *Lehrbuch der Bodenkunde - Scheffer/Schachtschabel*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH. Heidelberg – Berlin. 15. Aufl. 607 p. ISBN: 3-8274-1324-9. 210-215.

Compant S., Duffy B., Nowak J., Clement C., Barka E. A., 2005: Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (9). 4951-4959.

Eghball B., Binford G. D., Baltensperger D. D., 1996: Phosphorus movement and adsorption in a soil receiving long term manure and fertilizer application. *Journal Environmental Quality* 25, 1339-1343.

Excel. Microsoft Office Excel 2010: Microsoft office Enterprise 2010. USA. release SP2

Hedley M., Mortvedt J. J., Bolan N. S., Syers J. K. 2002; Phosphorus fertility management in agroecosystems. 45 (7). 176-180.

Horn I. R., Rijn M., Zwetsloot T. J. J., Basmagi S., Driks-Mulder A., Leeuwen W. B., Ravensberg W. J., Gravendeel B., 2016: Development of a multiplex Q-PCR to detect *Trichoderma harzianum* Rifai strain T22 in plant roots. 42 (4). 3574-3579.

Harman G.E., Björkman T., 1998: Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium: Vol. 2, Enzymes, Biological Control and Commercial Application*. Taylor & Francis, London, UK. 229-266.

- Ivanič J., Havelka B., Knop K. 1984: Výživa a hnojenie rastlín. Príroda Bratislava - SZN Praha. 482 s.
- Larcher W., 1988: Fyziologická ekologie rostlin. Academia, Praha. p. 361. ISBN: 03/15-472521-102-88.
- Lewis D. R., McGechan M. B., 1998: Simulating field-scale nitrogen management scenarios involving fertiliser and slurry applicatoins. International Conference, Oslo. 98-157.
- Luscombe P. C., Syers J.K., Gregg, P.E.H., 1979: Water extraction as a soil testing procedure for phosphate. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 10. 1361-1369.
- McDowell R. W., Sharpley A. N., 2003: Phosphorus solubility and release kinetics as a function of soil test P concentration. Geoderma 112. 143-154.
- McGechan M. B., Lewis D. R., 1998: Modeling in support of decision about field spreading on animal slurry to avoid surface runoff. Paper No 98-E016, AgEng98 Onternational Conference, Oslo. 84. 210-218.
- McGechan M. B., Lewis D. R. 2000: Watercourse pollution due to surface runoff following slurry spreading, Part 2: dicision support to minimize pollution. Journal of Agricultural Engineering Research, 75. 419-428.
- McGechan M. B., Wu L., 1998: Enviromental and economic implivation of some slurry managment options. Journal of Agricultural Engineering Research, 71. 273-283
- Mehlich A., 1984: Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 15. 1409-1416.
- Minasny, B., McBratney A. B., Brough, D. M., Jacquier, D., 2011: Models relating soil pH measurements in waterand calcium chloride that incorporate electrolyte concentration, University of Sydney, Australia, p. 728 – 732.
- Nash, D. M., Watkins, M., Heaven, M. W., Hannah, M., Robertson, F., McDowell, R., 2015: Effect of cultivation on soil and soil water under different fertiliser regimes. Soil and Tillage Research. 145. 37-46.
- Sharpley A. N., Smith S. J., Stewart B. A., Mathers A. C., 1948: Forms of phosphorus in soil receiving cattle feedlot waste. Journal of Environmental Quality 13. 211-215.

- Schmidt, J. P., Buol, S. W., Kamprath, E. J., 1997: Soil phosphorus dynamics during 17 years of continuous cultivation: A method to estimate long-term P availability. *Geoderma*. 78. 59-70.
- Sims J. T., Simard R. R., Joern B. C., 1998: Phosphorus loss in a agricultural drainage; Historical perspective and current research. *Journal of Environmental Quality* 27, 277-293.
- StatSoft. 2015. *Statistica*. StatSoft Inc. 1984-2015 s.r.o. ver. 12. Praha. Česká republika.
- Vaněk V., Balík J., Černý J., Pavlík M., Pavlíková D., Tlustoš P., Valtera J., 2012: *Výživa Zahradních rostlin*. Academia. Praha. 103-116. ISBN: 978-80-200-2147-2.
- Withers, R. S. Bradley, D. L. Jones, J. R. Healey, Talboys P. J., 2014: Feed crop not the soil: Rethinking Phosphorus management in the food chain 48 (12). 6523-6530.
- Worsfold P. J, Gimbert L. J., Mankasingh U., Omaka O. N., Hanrahan G., Gardolinski P. C. F. C., Haygarth, . Turner B. L., Keith-Roach M. J., McKelvie I. D., 2005: Sampling, sample treatment and quality assurance issues for the determination of phosphorus species in natural waters and soils. 66 (2) 273-293.
- Yuxuan Q., Yuzhu H., Yaqiong Y., Qingmao S., Bao Z., Pinglan L., 2015: Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* L-S60, a plant growth-promoting and antifungal bacterium 3 (1). 1368-1400.