



národní  
úložiště  
šedé  
literatury

### **Alternativní výživa rostlin fosforem**

Mikanová, Olga; Šimon, Tomáš  
2011

Dostupný z <http://www.nusl.cz/ntk/nusl-112966>

Dílo je chráněno podle autorského zákona č. 121/2000 Sb.

Tento dokument byl stažen z Národního úložiště šedé literatury (NUŠL).

Datum stažení: 30.09.2024

Další dokumenty můžete najít prostřednictvím vyhledávacího rozhraní [nusl.cz](http://nusl.cz) .

**Kdo rychle dává, dvakrát dává!**

Očekávaná náhra vybranými kmeny mikrobiotických bakterií dosáhne rychlejšího nárůstu kolonových hmot, a tím rozvoje rostlin. Různými výskumy je dokázáno, že mikrobiota semene je důležitá pro úspěch v půdě při dostatečném množství bakterií, která v plném rozsahu pouze u řádků, která je pěstována dva roky po sobě na stejném poli. Počet bakterií totiž po dvou letech v půdě bez biotické výživy klesá, a tím se snižuje i pravděpodobnost, že se více vyvíjí na kořenových rostlin. Na vždy se také vyskytují vhodné kmeny, které by odpovídaly zátěži půdní, keřnické NITRAZONEM zaplňované horní vrstvy půdy v sítkování, takže řádky dlouho začínají naplnit a dříve i při těžké půdě a je výrazně vyšší - až 150 kg, a toho slouží do příštího roku 60 kg.

**Při registraci nových odrůd rajče, okurky, papriky, květáky, brambory, řepky a polévky v naší republice, jsou podle sítě bakterie a používají se k odělení kmeny Rhizobium.**

**NITRAZON** také obsahuje bakterie, které způsobují se snížením, které se odělová se u každé plodiny. Provozní a příprava označení bakterií, které jsou vyvíjeny s malou nákladností a dává 0,9 kg/ha užití výkonné půdy nebo i při vysoké výživě.

**Kvalita především - základní NITRAZON**

Výrobce přípravků:  
 FARMATRAZON s.r.o.  
 Praha 4, 150 81 Nalobčany  
 Fax: 00420 323 495 818

e-mail: nitrazon@farmatrazon.cz  
 výřba: 00420 733 983 576  
 konzultace a prodeje: 00420 602 236 750

**Objednávkový listek**

Firma: .....	IČ: .....	NITRAZON		Množství: .....
		Probiotika	Nitroazot	
Město: .....	ÚO: .....	.....	.....	.....
PSČ: .....	Telefon: .....	.....	.....	.....
DIC: .....	Telefon: .....	.....	.....	.....
e-mail: .....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....

Olga Mikanová, Tomáš Šimon

**Alternativní výživa rostlin fosforem**

**METODIKA PRO PRAXI**



Výzkumný ústav  
rostlinné výroby, v.v.i.

2011

Metodika vznikla za finanční podpory MZe ČR a je výstupem řešení výzkumného záměru VÚRV v.v.i. č. MZe 0002700604 „Udržitelné systémy pěstování zemědělských plodin pro produkci kvalitních a bezpečných potravin, krmiv a surovin“.

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2011  
ISBN 978-80-7427-080-2

Olga Mikanová, Tomáš Šimon

Alternativní výživa rostlin fosforem

METODIKA PRO PRAXI

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha-Ruzyně

2011

### **Alternativní výživa rostlin fosforem**

Metodika poskytuje základní informace o využitelnosti prospěšných půdních bakterií, které mají schopnost transformovat málo rozpustné fosfáty do forem rozpustných. Metodika přehledně popisuje postupy izolací, testací a selekcí a uchovávání provozních kmenů těchto bakterií pro výrobu inokulačních preparátů. Součástí metodiky je popis technologie výroby těchto preparátů a jejich aplikace. Metodika nabízí využití inokulačních preparátů jako alternativní výživu rostlin. Výsledky praktických pokusů dokládají, že dodané P-solubilizující bakterie zvyšují čerpání a využitelnost fosforu. Prospěšné půdní bakterie v inokulačních preparátech zároveň podporují kořenový systém a tím zefektivňují příjem všech živin rostlinami.

### **Alternative phosphorus nutrition of plants**

The methodology summarizes the basic information on applicability of phosphorus solubilizing bacteria for inoculation of field crops. Specific procedures of isolation, screening, selection and maintaining of bacterial strains are described.

The technology of inoculant production, and application techniques are involved. The methodology offers the use of inoculants as an alternative plant nutrition. Results of practical experiments show that P - solubilizing bacteria increase the utilization of phosphorus. Plant growth promoting microorganisms in the inoculant also support the root system and consequently uptake of all nutrients by plants.

Metodika je určena výrobcům očkovacích látek, zemědělcům a zemědělským poradcům.

Metodika získala osvědčení o uznání uplatněné certifikované metodiky v souladu s podmínkami „Metodiky hodnocení výsledků výzkumu a vývoje“ vydané Ministerstvem Zemědělství - Odborem rostlinných komodit pod č.j. 203359/2011-17220

Ministerstvo zemědělství ČR doporučuje tuto metodiku pro využití v praxi.

## OBSAH

I. Cíl metodiky	5
II. Vlastní popis metodiky	5
II.1. Význam fosforu pro výživu rostlin	5
II.2. Možnosti účinnějšího využívání fosforu z půdní zásoby	6
II.3. Půdní mikroflóra při přeměnách fosforu	7
II.3.1. Izolace a testace P-solubilizujících mikroorganismů	8
II.3.2. Praktické využití fosfor solubilizující mikroflóry	10
II.3.3. Inokulace a inokulační preparáty	13
II.4. Perspektivy uplatnění v praxi	15
II.5. Závěry a doporučení pro praxi	16
III. Srovnání „novosti postupů“	17
IV. Popis uplatnění certifikované metodiky	17
V. Seznam použité související literatury	17
VI. Seznam publikací, které předcházely metodice	18
VII. Dedikace	19
VIII. Jména oponentů a názvy jejich organizací	19

## **I. Cíl metodiky**

Cílem metodiky je podat základní informace o využití prospěšných půdních bakterií k alternativní výživě fosforem. Metodika poskytuje také návod na izolace, testace a výběr aktivních fosfor solubilizujících bakterií. Obsahuje také praktický návod na inokulaci zemědělských plodin těmito prospěšnými půdními bakteriemi.

## **II. Vlastní popis metodiky**

### **II.1. Význam fosforu pro výživu rostlin**

Fosfor je jedním ze základních makrobiogenních prvků, nezbytných pro všechny metabolické procesy růstu a vývoje rostlin a je také jedním z rozhodujících faktorů tvorby výnosu.

V půdě je fosfor zastoupen v anorganických vazbách i v organických sloučeninách. Bezprostředním zdrojem fosforu pro rostliny je pouze ta malá zásoba půdního fosforu, která je obsažena v půdním roztoku. Když je vyčerpána, naruší se rovnovážný stav systému a uvolní se část labilního P do půdního roztoku. Některé propočty naznačují, že při intenzivním růstu rostlin a tím velkém příjmu P rostlinami se obsah P v půdním roztoku může obnovit 50 – 250 krát za den. Rostlinami (a mikroorganismy) odčerpaný fosfor je totiž kontinuálně nahrazován z jiných zásobníků P v půdě – pokud je v nich k dispozici. Přívod fosforu do kořenové zóny rostlin je hlavně závislý na mechanismu difúze. Výkonnost difúze je dána koncentračním gradientem a vláhovými podmínkami. I v půdách s dobrým fosfátovým režimem se labilní formy fosforu, které jsou vzdálené více než 3 mm od povrchu kořene, nemohou prakticky podílet na výživě rostlin fosforem během vegetace. Distribuce fosforu do rostliny je nerovnoměrná a ovlivňuje jí stáří a funkce orgánů. Nejvyšší spotřeba fosforu je v období květu a zrání plodů. Až 50 % rostlinou přijatého fosforu se hromadí v semenech. Nejcitlivějšími parametry, které mají vliv na příjem fosforu, jsou růst kořenů a průměr kořenů. Rozhodující pro příjem není délka kořenů, jako spíše bohatost kořenového vlášení, koncentrace P v půdním roztoku v zóně prokořenění a aktivita půdní nebo kořenové mikroflóry.

Důležitou roli zastává fosfor také při biologické fixaci  $N_2$ . Je známo, že fosfor je nezbytný k nodulaci i k procesu samotné fixace dusíku. Při dostatku dostupného fosforu se zvyšuje počet i hmotnost hlízek a také celková nitrogenázová aktivita. Podle dostupných výsledků výzkumů, některé kmeny rizobií při nízké koncentraci fosforu v půdě nerostou vůbec.

Fosfor je dodáván do půdy ve formě minerálních fosforečných hnojiv, hnoje, rostlinných zbytků, popřípadě domácích organických odpadů. Fosfor dodaný do půdy ve formě minerálních hnojiv se však až z 90 % přeměňuje na formy rostlinám těžko dostupné. Přestože půdy obvykle obsahují dostatečné množství celkového fosforu, množství přístupného fosforu je velmi malé.

Z ekonomického a ekologického hlediska proto stále vzrůstá potřeba zvýšit účinnost čerpání fosforu z půdní zásoby a účinněji využívat fosfor z minerálních fosforečných hnojiv. Jednou z možností, jak tohoto cíle dosáhnout, je solubilizace těžko rozpustných fosfátů půdní mikroflórou.

## **II.2. Možnosti účinnějšího využívání fosforu z půdní zásoby**

Jedním ze způsobů, jak zabránit vazbě fosforu do těžko rozpustných hlinitých a železitých sloučenin, je vápnění kyselých půd. Na půdách neutrálních a alkalických je naopak třeba vápnění vynechat, protože na půdách s vysokým obsahem vápníku může docházet až k tvorbě těžko rozpustného fosforečnanu vápenatého.

Také vhodné střídání plodin, zejména zařazování leguminóz do osevního postupu, slouží k mobilizaci fosforu. Většina těchto rostlin, v důsledku agresivnějších kořenových exudátů, může lépe využít fosfor z půdních sloučenin. Další výhodou zařazování leguminóz je jejich kořenový systém prorůstající do značných hloubek (zvláště u jetele a vojtěšky). Díky tomu jsou tyto rostliny schopné čerpat fosfor i z hlubších horizontů. Také bohaté kořenové zbytky, které zůstávají v půdě po sklizni jsou zdrojem organického fosforu a živin podporujících rozvoj půdní mikroflóry.

Další známou rostlinou, která uvolňuje fosfor pomocí svých exudátů je řepka. Zajímavé bylo zjištění že mnohem větší množství kyselých exudátů bylo uvolněno rostlinami, které byly pěstovány v půdě chudé na fosfor.

Dalším opatřením k mobilizaci fosforu je obohacování půdy organickou hmotou. Organické látky rostlinného a živočišného původu, které vstupují do půdy, jsou nejen zdrojem energie umožňující cyklus živin v půdě, ale také navracejí fosfor



do tohoto cyklu. Aplikace organické hmoty sníží sorpci fosforu a zvýší tak využitelnost fosforu pro rostliny zejména v dobře zavlažovaných půdách a aerobních podmínkách. Organická hmota je také substrátem, který obsahuje množství půdních mikroorganismů, zejména hub a bakterií, z nichž některé mají P-solubilizační aktivitu. Biomasa půdních mikroorganismů je z hlediska koloběhu živin sice malá, ale velmi významná součást půdní organické hmoty. V mikrobiální biomase může být dočasně vázáno asi 2–5 % z celkového množství fosforu v půdě. Po odumření mikroorganismů a jejich rozkladu je fosfor uvolňován a znovu zpřístupněn rostlinám. Rychlost příjmu fosforu z roztoku je u hub dvojnásobná a u bakterií devítinásobná oproti rychlosti příjmu P kořeny rostlin. Také mechanismus čerpání je velmi efektivní, takže jsou schopny čerpat P z roztoků o koncentraci několik tisíckrát menší než rostliny. Odčerpá-li se takto rychle a téměř zcela P z půdního roztoku, je v důsledku rovnováhy nahrazován fosforem vázaným na půdní částice - labilním fosforem. Půdní mikroorganismy (stejně tak, jako rostliny) přijímají fosfor pouze z půdního roztoku ve svém bezprostředním okolí. Proto množství fosforu z minerálních hnojiv, které je asimilováno mikrobiální biomasou, závisí mimo jiné na způsobu aplikace hnojiva a na způsobu kultivace půdy. Pokud je fosforečné hnojivo rovnoměrně promícháno s půdou, je množství fosforu zabudované do mikrobiálních buněk porovnatelné s množstvím, které je spotřebováno rostlinami.

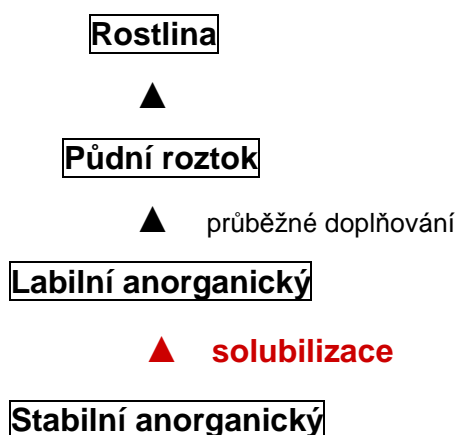
### **II.3. Půdní mikroflóra při přeměnách fosforu**

Vedle tradičních metod mobilizace fosfátů uvedených v předchozí kapitole, se ukazuje jako velmi perspektivní využití půdní mikroflóry. Asi 20 - 30 % půdních mikroorganismů má schopnost transformovat málo rozpustné fosfáty do forem rozpustných. Jsou to zejména P-solubilizující bakterie a P-solubilizující houby.

Primárním mechanismem solubilizace je uvolňování kyselin P-solubilizujícími mikroorganismy. To je obvykle provázeno snížením pH media.

Z bakterií se vyskytují například rody *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* a řada dalších. Tyto bakterie mohou být izolovány z půdy nebo z rhizosféry kořenů různých rostlin. Schopnost uvolňovat fosfor byla zjištěna také u bakterií rodu *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* a *Sinorhizobium*. Tyto bakterie, které jsou známé svojí schopností fixovat vzdušný dusík, jsou na celém světě běžně využívány pro inokulaci leguminóz.

Schéma přeměn anorganického fosforu:



Schopnost hub uvolňovat fosfor z fosfátů je známa již řadu let. Jedná se zejména o houby rodu *Penicillium* a *Aspergillus*. Další skupinou hub, u kterých byla zjištěna fosfor solubilizační schopnost jsou arbuskulární mykorhizní (AM) houby. AM houby byly nalezeny u většiny zemědělských plodin. Patří k endomykorhizním houbám a jejich pozitivní efekt při výživě rostlin spočívá zejména ve vytvoření sítě hyf, a tím i ke zlepšení příjmu živin z půdy, včetně zlepšení výživy rostlin fosforem. Jedná se většinou o kmeny rodu *Glomus* a *Gigaspora*. Je však třeba zmínit značnou nevýhodu užití AM hub jako inokulantu. AM houby nemohou být pěstovány in vitro na živném mediu, ale vždy pouze v symbióze s kořeny rostlin. To značně ztěžuje jejich uplatnění v zemědělské velkovýrobě.

### II.3.1. Izolace a testace P-solubilizujících mikroorganismů

Hlavním cílem izolací a testací je výběr kmenů s vysokou P-solubilizační aktivitou. Pro komerční účely inokulace je též požadován rychlý růst, dlouhodobé přežívání vybraných bakterií v inokulantech a konkurenceschopnost s přirozenou populací mikroorganismů v půdě.

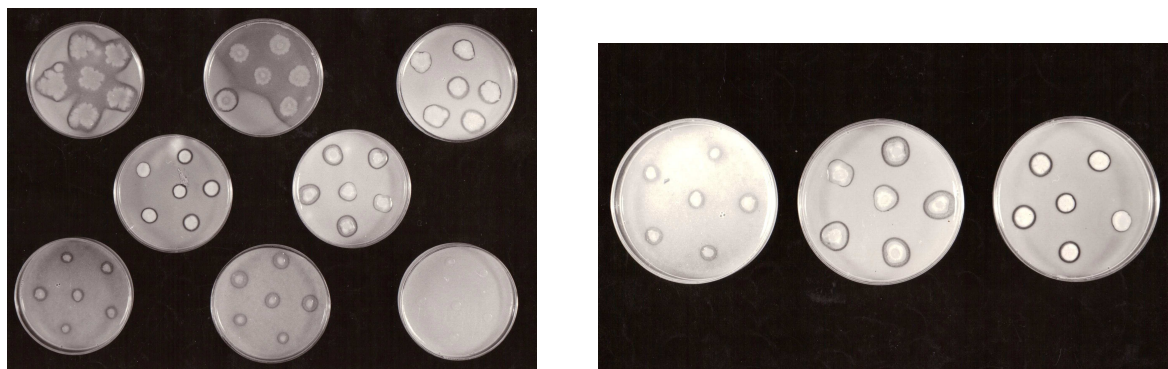
**Izolace** se provádějí na agarových deskách s obsahem nerozpustného fosforečnanu vápenatého. U fosfor solubilizujících mikroorganismů se tvoří kolem kolonií mikroorganismů prosvětlené zóny.

Metodika - Petriho misky s P-agarem (živný agar s obsahem nerozpustného fosforečnanu vápenatého) jsou v několika bodech zaočkovány testovaným

mikroorganismem. Složení P-agaru: Glukóza 10,0 g,  $K_2SO_4$  0,2 g, asparagin 1,0 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,4 g, kvasničný autolyzát 0,2 g, agar 17 g na 1 l destilované vody, před rozlíváním jsou přidány roztoky  $Na_3PO_4$  7 ml a  $CaCl_2$  3 ml na 200 ml agaru, roztoky obsahují 10,9 g  $Na_3PO_4 \cdot 12 H_2O$  a 22,0 g  $CaCl_2$  a každý je doplněný na 100 ml destilovanou vodou.

Velikost prosvětlené zóny ukazuje P-solubilizační aktivitu příslušného kmene. Tato metoda je výhodná z hlediska malé časové i pracovní náročnosti a umožňuje rychlý a předběžný odhad P-solubilizační aktivity velkého množství mikroorganismů.

Kolonie P-solubilizujících bakterií tvořících prosvětlené zóny



K přesnějšímu zjišťování P-solubilizační aktivity těchto mikroorganismů se užívá testací v tekutých kulturách s přidavkem fosforečnanu vápenatého. Následně je měřeno množství uvolněného fosforu.

**Testace** jsou založeny na měření obsahu uvolněného fosforu v tekutých třepaných kulturách zaočkovaných jednotlivými mikroorganismy. Kultivační medium (glukóza 10,0 g,  $K_2SO_4$  0,2 g, asparagin 1,0 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,4 g a kvasničný autolyzát 0,2 g na 1 l destilované vody) je rozlíváno po 100 ml do 250ml Erlenmayerových baněk (EB) a do každé je přidáno 0,05 g  $Ca_3(PO_4)_2$ . Do baněk jsou očkovány 2 ml inokula (suspenze mikrobů). Příprava inokula: Bakterie jsou namnoženy na maso-peptonovém agaru ve zkumavkách, dvě zkumavky jsou smyty sterilním fyziologickým roztokem, dohromady pak je odpipetováno 10 ml inokula. Baňky jsou inkubovány čtyři dni při teplotě 28 °C za stálého třepání. Po inkubaci je kultivační medium odstředěno (10 min. při 5000 otáčkách), filtrováno a ve filtrátu je stanovena koncentrace vodorozpustného fosforu. Princip stanovení - za přítomnosti vinanu antimonyl draselného reaguje fosforečnanový iont v prostředí kyseliny sírové

s molybdenanem amonným za vzniku kyseliny fosfomolybdenové, která se redukuje kyselinou askorbovou na molybdenanovou modř (Murphy a Riley 1962). Intenzita zbarvení způsobená molybdenovou modří je měřena kolorimetricky při 710 nm. Nakonec je stanoveno pH média.

Příklad výsledků testací – množství uvolněného fosforu v litru kultivačního média a pH média po kultivaci.

<b>P-solubilizující bakterie (kmen)</b>	<b>mg P v 1 litru</b>	<b>pH média</b>
<i>Bacillus megatherium</i>	73,5	3,8
<i>Rhizobium leguminosarum</i> D255	68,6	3,8
<i>Rhizobium leguminosarum</i> D569	67,2	4,2
<i>Rhizobium leguminosarum</i> D627	26,2	6,6
<i>Sinorhizobium meliloti</i> D134	53,8	4,1
<i>Sinorhizobium meliloti</i> D528	2,5	7,5
<i>Rhizobium trifolii</i> D660	76,2	4,5
<i>Rhizobium trifolii</i> D662	62,5	5,1
<i>Rhizobium trifolii</i> D593	2,5	6,1
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> D504	58,3	4,6
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> D538	56,4	4,8
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> D517	4,9	7,5

Mezi hodnotami uvolněného fosforu a pH média po inkubaci existuje nepřímá lineární závislost. To potvrzuje domněnku, že jedním z hlavních mechanismů solubilizace fosforu je snížení pH média pravděpodobně produkcí organických kyselin, přičemž variabilita těsnosti vztahu mezi P-solubilizující aktivitou a pH média může být způsobena dalšími mechanismy solubilizace.

### **II.3.2. Praktické využití fosfor solubilizující mikroflóry**

Z hlediska praktického využití vlastností P-solubilizujících mikroorganismů je rozhodující jejich působení v asociaci s kořeny rostlin. Praktické využití fosfor solubilizujících mikroorganismů představuje zejména cílené vnesení (inokulace) mikroorganismů přímo do půdy k pěstovaným rostlinám. Pro inokulaci jsou vybírány

mikroorganismy s vysokou aktivní schopností uvolňovat fosfor. Postup ověřování velikosti P-solubilizační aktivity půdní mikroflóry obvykle směřuje od zjišťování P-solubilizační aktivity kmenů v tekutých třepaných kulturách (in vitro), po testace kmenů v asociaci s kořeny rostlin (in vivo) v nádobových pokusech až po pokusy polní.

Nádobový pokus



Polní pokus



Nádobové a polní pokusy s fosfor solubilizujícími mikroorganismy můžeme rozdělit na pokusy se symbiotickými baktériemi rodu *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* a ostatní P-solubilizující mikroflórou.

**Symbiotické hlízkové bakterie (rizobia)** jsou specifické a dusík fixují v hlízkách na kořenech leguminóz (luskovin). Nejčastěji pěstované hostitelské rostliny a jejich symbionti: Hrách - *Rhizobium leguminosarum*, jetel - *Rhizobium trifolii*, vojtěška - *Sinorhizobium meliloti*, sója - *Bradyrhizobium japonicum*.

#### **Příklad nádobového pokusu s hrachem:**

V nádobách se zeminou byl založen pokus s cílem zjistit vliv inokulace a fosforečného hnojení na výnos leguminóz. Byl zaset hrách, odrůda Tyrkys. Nádoby obsahovaly 5 kg přesáté zeminy z pozemku VÚRV Praha - Ruzyně. Obsah přístupného P byl 42 mg . kg<sup>-1</sup>. Byly založeny varianty hnojené superfosfátem v dávce odpovídající 45 kg P na hektar a varianty bez hnojení. Po zasetí byla semena inokulována suspenzí směsi kmenů *Rhizobium leguminosarum* s vysokou nitrogenázovou aktivitou a zároveň s vysokou fosfor-solubilizační aktivitou, směsí

kmenů *Rhizobium leguminosarum* s vysokou nitrogenázovou aktivitou bez fosfor solubilizační aktivity a byla založena kontrolní varianta bez inokulace.

#### **Výsledky** nádobového pokusu s hrachem:

Výnos sušiny semen byl ovlivněn jak inokulací hrachu, tak dávkou použitého hnojiva. U variant inokulovaných směsí neefektivních kmenů a u kontroly (bez inokulace) došlo ke zvýšení sušiny semen při hnojení superfosfátem. U varianty inokulované efektivními fosfor solubilizujícími kmeny nebyl výnos hnojením ovlivněn. Výnos sušiny semen u varianty nehnojené, inokulované směsí fosfor solubilizujících kmenů je vyšší než u nehnojených variant ostatních a přibližně stejný jako u variant ostatních, hnojených 45 kg P na hektar.

Pokusy s leguminózami inokulovanými efektivními kmeny rodu *Rhizobium* jsou založeny na skutečnosti, že oba faktory, přístupný fosfor i inokulace zvyšují nodulaci a nitrogenázovou aktivitu a mohou tedy ovlivňovat i úrodu. Vzhledem k tomu, že k inokulaci byly vybrány kmeny vykazující srovnatelnou nitrogenázovou aktivitu, lze zvýšení výnosu alespoň částečně přičítat jejich rozdílné fosfor solubilizační aktivitě.

Naše výsledky (i výsledky uváděné v některých světových studiích) ukazují, že inokulace kmeny *Rhizobium leguminosarum* s P-solubilizační aktivitou zlepšuje výživu inokulovaných rostlin a v důsledku toho ovlivňuje pozitivně i výnosy.

#### **Příklad parcelového pokusu s vojtěškou:**

Maloparcelkový pokus s vojtěškou, odrůdou Europe byl založen v Praze - Ruzyni (obsah P - 31 mg . kg<sup>-1</sup> - Mehlich II ) a stejný pokus v Tišicích (obsah P - 67 mg . kg<sup>-1</sup>). Pokusy měly 3 varianty - variantu inokulovanou P-solubilizujícím kmenem D 134, variantu inokulovanou kmenem D 528 bez fosfor solubilizační aktivity, ale s přibližně stejnou nitrogenázovou aktivitou a kontrolní variantu bez inokulace.

#### **Výsledky** maloparcelkového pokusu s vojtěškou v Ruzyni a v Tišicích:

Výsledky obou pokusů ukázaly, že největšího výnosu sušiny nadzemní hmoty bylo dosaženo při inokulaci P-solubilizujícím kmenem D 134. U pokusu v Tišicích (na rozdíl od Ruzyně) však byly rozdíly nevýznamné. Důvodů může být několik. Obecně lze konstatovat, že u polních pokusů nebývají výsledky tak přesvědčivé, jako u pokusů laboratorních a nádobových. Půda je velmi složitý systém na který působí celá řada vlivů. V tomto pokusu došlo s největší pravděpodobností k potlačení P-

solubilizační aktivity mikroorganismů přítomností rozpustného fosfátu. Podle rozborů patří půda v Tišicích k půdám dobře zásobeným fosforem. Z literárních údajů a také z našich pokusů vyplývá, že zvýšená koncentrace rozpustných fosfátů potlačuje P-solubilizační aktivitu. Je nesporné, že větší efekt inokulace P-solubilizujícími bakteriemi získáme na půdách chudých na fosfor. Tuto skutečnost je třeba brát v úvahu při rozhodování o prospěšnosti inokulace.

### II.3.3. Inokulace a inokulační preparáty

**Cílem inokulace** je zvýšit půdní úrodnost introdukcí specifických mikroorganismů. Existují však problémy spojené s aplikací inokulantů do půdy. Hlavní problém introdukce mikroorganismů do půdy souvisí s jejich přežitím. Introdukované mikroorganismy přežívají v půdě mnohem hůře, než mikroorganismy dlouhodobě v půdě žijící. Ani mikroorganismus, který přežije, se však ještě nemusí prosadit v konkurenci s půdní mikroflórou a dále vykazovat aktivity, pro které byl vybrán. Je však třeba zdůraznit, že inokulační preparáty obsahují vždy vybrané efektivní kmeny, které procházejí neustálým testováním na danou aktivitu, pro kterou byly vybrány a jsou proto ve své aktivitě výkonnější než populace přirozené.

**Kombinované inokulace.** Velká pozornost je věnována kombinované inokulaci. Snaha sloučit několik pozitivních efektů do jednoho inokulantu je pochopitelná, protože náklady v podstatě zůstávají stejné a efekt se může násobit.

Dlouhodobě je pozornost věnována kombinované inokulaci fosfor solubilizujícími bakteriemi společně se symbiotickými i nesymbiotickými fixátory  $N_2$ . Z mnoha pramenů bylo zjištěno: 1. Inokulace *Rhizobium* spp. zvyšuje nodulaci a nitrogenázovou aktivitu u luskovin; 2. Inokulace *Azotobacter* spp. ukládá dusík do půdy ihned po zasetí a inokulaci u všech plodin; 3. Inokulace P-solubilizujícími bakteriemi zvyšuje obsah přístupného fosforu v půdě. **Kombinovaná inokulace zvyšuje všechny tyto parametry a kromě toho i výnos suché nadzemní hmoty a semen.**

**Praktická inokulace** předpokládá přípravu vhodného inokulantu. Základem očkovacích látek je vysoký počet vitálních a efektivních mikroorganismů na vhodném

nosiči. Pro laboratorní, nádobové nebo maloparcelkové pokusy nejsou na inokulanty kladeny požadavky co se týká nosiče. Tyto inokulanty jsou připravovány těsně před použitím a není proto nutné jejich dlouhodobé přežívání. Musí však obsahovat dostatečný počet efektivních mikroorganismů. Pro preparáty vyráběné průmyslově je však vhodný nosič, který zaručí dlouhodobější přežívání mikroorganismů nezbytným předpokladem.

Používání biologických preparátů přináší tyto výhody: nízkou cenu, jednoduchou aplikaci, chrání půdu a životní prostředí, široké uplatnění v praxi, použití i tam, kde se hnojiva nebo chemické preparáty používat nesmějí (v ochranných pásmech vodních zdrojů nebo v chráněných krajinných oblastech) a zvýšení výnosu. Z těchto důvodů je výroba biopreparátů rozšířena po celém světě. Mezi biopreparáty můžeme zahrnout i preparáty obsahující P-solubilizující mikroorganismy.

Velmi perspektivní se ukazuje využití P-solubilizujících organismů ve spojení s další aktivitou těchto mikroorganismů. V České republice má používání biopreparátů dlouhou tradici. Od roku 1949 je v ČR vyráběn očkovací preparát Rizobin obsahující hlízkové bakterie schopné v symbióze s rostlinami poutat vzdušný dusík. Tradiční testování vhodných kmenů rizobií pro výrobu Rizobinu bylo založeno na měření nitrogenázové aktivity.

Nyní jsou v ČR vyráběny další očkovací preparáty pod názvem Nitrazon a Nitrazon + N. Oba tyto preparáty jsou určeny pro luskoviny a kromě všeobecně známé fixace vzdušného dusíku pomocí rhizobií v kořenových hlízkách se testování bakterií zaměřilo na další, již zmiňovanou schopnost těchto bakterií, jíž je schopnost rozpouštět málo rozpustné minerální fosfáty. Jsou vybírány kmeny nejen podle efektivity symbiózy pokud jde o poutání vzdušného dusíku, ale také podle schopnosti zpřístupňovat rostlinám fosfor z těžko rozpustných fosfátů. Působením dalších bakterií rodu *Bacillus* se pro rostliny uvolní přibližně 40 kg fosforu. Preparát Nitrazon + N obsahuje také kmeny rodu *Azotobacter*, které k fixaci dusíku nepotřebují symbiózu s rostlinami. Jsou to bakterie známé jako volní fixátoři dusíku a okamžitě po aplikaci preparátu začnou ukládat dusík do půdy. Tím je nahrazena startovací dávka dusíku pro leguminózy.

Dalším z již vyráběných preparátů s kombinovaným účinkem je Azotobag. Tento přípravek obsahuje volné fixátory dusíku (*Azotobacter* spp.) a bakterie s P-solubilizujícím účinkem (*Bacillus megatherium*) a je ideální pro použití v kukuřici



a obilí. Okamžitě po zasetí začnou kmeny *Azotobacter* ukládat dusík do půdy a tím podpoří rozvoj kořenového systému. *Bacillus* díky své fosfor solubilizující aktivitě uvolní do půdy až 40 kg fosforu. Dlouhodobě prokázané jsou také účinky bakterií rodu *Azotobacter* na rozklad zbytků rostlin. Zároveň také dochází k celkovému mikrobiálnímu oživení půdy.

Preparáty Nitrazon, Nitrazon + N a Azotobag vyrábí FARMA ŽIRO, s.r.o. a jsou distribuovány jako pomocné rostlinné přípravky.

#### **Ověření účinnosti inokulačního preparátu v polních podmínkách.**

Účinnost inokulačního preparátu, který obsahoval vybrané kmeny *Bradyrhizobium japonicum* (symbiotické hlízkové bakterie pro sóju) s P-solubilizující schopností, byla ověřována také v polních podmínkách v maloparcelkovém pokusu v Tišicích. Byla založena varianta inokulovaná preparátem a varianta kontrolní, bez inokulace. Obě varianty pak měly parcelky nehnojené a parcelky hnojené superfosfátem v dávce odpovídající 40 kg P na hektar. Na konci pokusu byla vyhodnocena sušina semen sóji.

**Výsledky** maloparcelkového pokusu se sójou v Tišicích:

Pokud srovnáme obě varianty nehnojené, bylo vyššího výnosu dosaženo u varianty inokulované preparátem obsahujícím hlízkové bakterie s P-solubilizující aktivitou. Nejvyššího výnosu bylo dosaženo při současném hnojení a inokulací P-solubilizujícími rizobiemi.

#### **II.4. Perspektivy uplatnění v praxi**

Používání inokulačních preparátů obsahujících prospěšné půdní bakterie se stalo součástí moderních pěstitelských technologií. V současné době existují snadné a účinné způsoby izolací a testací těchto zemědělsky prospěšných bakterií. Možnost alespoň částečně nahradit stále klesající dávky minerálního hnojení je v dlouhodobé perspektivě nejen ekologická, ale také ekonomická. Použití efektivních inokulantů přispívá k výživě pěstovaných plodin a udržuje výnosy na ekonomicky přijatelné úrovni.

Fosfor solubilizující bakterie uvolní (díky své fosfor solubilizující aktivitě) do půdy (v optimálních podmínkách) až několik desítek kg fosforu. V optimálních podmínkách a při efektivní inokulaci by bylo možné o tuto dávku snížit minerální fosforečné hnojení.

Na druhé straně je třeba respektovat pravidla pro zachování půdní úrodnosti. Z metodiky výživy rostlin a hnojení (Klír a kol. 2008) vyplývá, že při stanovení potřeby hnojení plodin fosforem, je nejvhodnější využít způsobu tzv. „nahrazovacího hnojení“, tedy navrácení živin odvezených z pozemku ve sklizených produktech.

## II.5. Závěry a doporučení pro praxi

Fosfor dodaný do půdy ve formě minerálních hnojiv se až z 90 % přeměňuje na formy rostlinám těžko dostupné. Stále proto vzrůstá potřeba zvýšit účinnost čerpání fosforu z půdní zásoby a účinněji využívat fosfor z minerálních fosforečných hnojiv. Jednou z možností, jak tohoto cíle dosáhnout, je solubilizace těžko rozpustných fosfátů půdní mikroflórou. Praktické využití P-solubilizujících mikroorganismů představuje zejména cílené vnesení (inokulace) P-solubilizujících mikroorganismů přímo do půdy k pěstovaným rostlinám. Pro praktickou inokulaci jsou vybírány mikroorganismy testované na aktivitu, pro kterou byly vybrány.

Inokulace *Rhizobium* spp. zvyšuje nodulaci a nitrogenázovou aktivitu u luskovin. Inokulace *Azotobacter* spp. ukládá dusík do půdy ihned po zasetí a inokulaci u všech plodin. Inokulace P-solubilizujícími bakteriemi zvyšuje obsah přístupného fosforu v půdě. Kombinovaná inokulace zvyšuje všechny tyto parametry a kromě toho i výnos suché nadzemní hmoty a semen.

Inokulace je nezbytnou součástí moderních pěstitelských technologií. Pro pěstování luskovin lze doporučit očkovací preparát Nitrazon +. Tento preparát je kromě všeobecně známé fixace vzdušného dusíku pomocí rhizobií schopen nahradit i startovací dávku cca 30 kg/ha dusíku. P-solubilizující bakterie pak zabrání vazbě fosforu do těžko rozpustných sloučenin a umožní tím lepší využití fosforečného hnojení.

Pro ekonomicky efektivní pěstování kukuřice a obilí je určen pomocný rostlinný přípravek Azotobag.

Obecně se dá říci, že rostlinám prospěšné bakterie obsažené v inokulantech prokazatelně podporují kořenový systém a napomáhají tím k efektivnějšímu příjmu všech živin do inokulovaných rostlin. S přihlédnutím k obsahu živin v půdě a s ohledem na předplodinu, je možné částečně nahradit minerální fosforečné hnojení aplikací efektivních bakteriálních inokulantů s P-solubilizujícími bakteriemi.

### **III. Srovnání „novosti postupů“**

Metodika je založena na možnosti využití P-solubilizujících mikroorganismů a jejich schopnosti zpřístupňovat fosfor pro rostliny. Pro tyto účely byla ve VÚRV ověřena vhodná metoda, kterou lze posoudit efektivitu testovaných P-solubilizujících bakterií a vyčíslit množství fosforu, které jsou schopné uvolnit do půdy. Metodika obsahuje také praktická doporučení pro inokulaci rostlin prospěšnými baktériemi a doporučení pro ekonomicky efektivní pěstování luskovin, kukuřice a obilí.

### **IV. Popis uplatnění certifikované metodiky**

Metodika poskytuje současné znalosti o možnostech uplatnění nových přístupů při zásobování rostlin fosforem a jsou zde popsány možnosti účinnějšího využívání fosforu z půdní zásoby.

Metodika také představuje používání očkovacích preparátů jako nezbytnou součást moderních pěstitelských technologií. Zároveň nabízí inokulační preparáty, které jsou dostupné na současném trhu ČR.

Metodika bude primárně nabídnuta k využití českému výrobcí očkovacích látek (Farma Žiro, s.r.o. Pražská 40, 250 81 Nehvizdy) a dalším potenciálním zájemcům o její praktické využití a širší odborné veřejnosti.

### **V. Seznam použité související literatury**

Kabátová, L. (2010): Culture Collection of Rhizobia. Catalogue of Cultures, Crop Research Institute, Prague, ISBN: 978-80-7427-045-1.

Klír, J., Kunzová, E., Čermák, P. (2008): Rámcová metodika výživy rostlin a hnojení. Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., Praha, 48 str. ISBN 978-80-87011-61-4.

Mehlich, A. (1984): Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15 , 1409-1416.

Mikanová, O., Nováková, J. (2002): Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensitivity to soluble phosphate. *Rostlinná Výroba*, 48 (9), 397-400.

Murphy, J.P., Riley, J.P. (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal.Chem.Acta* 27, 31-36.

## **VI. Seznam publikací, které předcházely metodice**

Kubát, J., Mikanová, O. (1996): Půdně mikrobiologické aspekty aplikace kompostů a biopreparátů do půdy. In: Sborník příspěvků ze semináře "Komposty - Biohnojiva - Biopreparáty" Deštné v Orlických horách, 1-5.

Mikanová, O. (2000): Studium mikroorganismů uvolňujících fosfor a jeho využití pro zlepšení výživy rostlin. Disertační práce, 83 str.

Mikanová, O., Kubát, J. (2006): Phosphorus Solubilizing Microorganisms and their Role in Plant Growth Promotion. In: *Microbial Biotechnology in Agriculture and Aquaculture* (ISBN: 1-57808-443-1), Volume II, pp. 556. Ray R.C. (Eds.) Science Publishers, New Hampshire, USA, 111-145.

Mikanová, O., Kubát, J. (2009): Practical Use of Phosphate Solubilizing Soil Microorganisms. In: *Phosphate Solubilizing Microbes for Crop Improvement* (ISBN:978-1-60876-112-8). Khan M.S, Zaidi A (Eds.) Nova Science Publishers, Inc. USA. pp.129-143.

Šimon, T., Mikanová, O. (2009): Principy a nové směry selekcí hlízkových bakterií pro výrobu inkubačních preparátů, *Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., Praha*, 20 str. ISBN 978-80-7427-013-0.

Šimon, T., Mikanová, O. (2010): Využití a podpora bakterií rodu *Azotobacter* pro výživu rostlin. *Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., Praha*, 22 str. ISBN 978-80-7427-040-6.

## **VII. Dedikace**

Tato metodika vznikla v rámci řešení výzkumného záměru MZe ČR 0002700604.

## **VIII. Jména oponentů a názvy jejich organizací**

1) Za státní zprávu - Dr. Ing. Pavel Čermák, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

2) Za odbornou veřejnost - Doc. RNDr. Jitka Nováková, CSc.

Autoři: **Ing. Olga Mikanová, PhD., Ing. Tomáš Šimon, CSc.**

Název: Alternativní výživa rostlin fosforem  
Vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

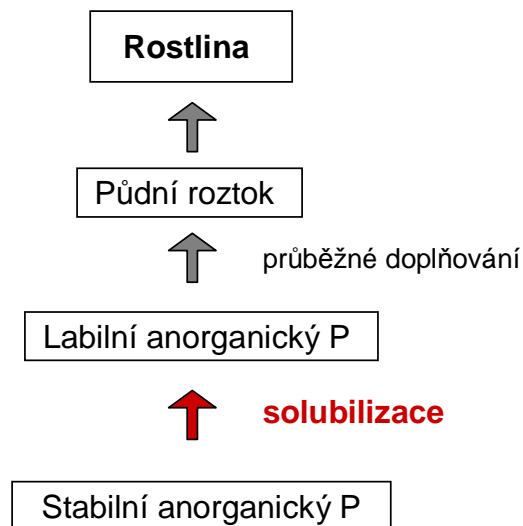
Sazba, tisk: Výzkumný ústav zemědělské techniky, v.v.i.  
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

Náklad: 250 ks

Vyšlo v roce 2011

Kontakt na autory: [mikanova@vurv.cz](mailto:mikanova@vurv.cz) , [simont@vurv.cz](mailto:simont@vurv.cz)

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2010  
ISBN 978-80-7427-080-2



Vydal Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
ve Výzkumném ústavu zemědělské techniky, v.v.i.

2011