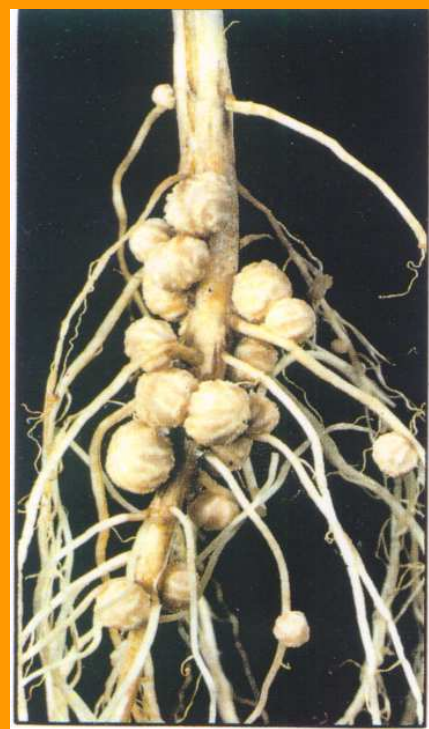
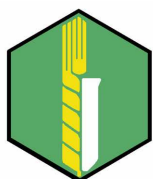




Olga Mikanová, Tomáš Šimon

Alternativní výživa rostlin dusíkem

METODIKA PRO PRAXI



Výzkumný ústav
roślinné výroby, v.v.i.

2013

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“.

Olga Mikanová, Tomáš Šimon

Alternativní výživa rostlin dusíkem

METODIKA PRO PRAXI

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

2013

Alternativní výživa rostlin dusíkem

Metodika poskytuje základní informace o využitelnosti bakterií fixujících vzdušný dusík. Metodika popisuje postupy izolací a testací prospěšných půdních bakterií *Azotobacter* spp. a *Rhizobium* spp. Zároveň poskytuje doporučení na podporu biologické fixace dusíku. Metodika také představuje používání očkovacích preparátů jako nezbytnou součást moderních pěstitelských technologií.

Alternative nitrogen nutrition of plants

The methodology provides the basic information about the usability of nitrogen-fixating bacteria. The methodology describes procedures of the isolation and screening of beneficial soil bacteria *Azotobacter* spp. and *Rhizobium* spp. It also provides recommendations to promote biological nitrogen fixation. The methodology also represents the use of inoculants as a necessary part of modern farming practices.

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 České republiky č. 77200/2013-MZE-17221.

Ministerstvo zemědělství ČR doporučuje tuto metodiku pro využití v praxi.

OBSAH

I. Cíl metodiky	3
II. Vlastní popis metodiky	3
II.1. Význam dusíku pro výživu rostlin	3
II.2. Zdroje dusíku pro rostliny	3
II.2.1. Minerální hnojení	5
II.2.2. Organické hnojení	6
II.3. Biologická fixace dusíku – alternativní hnojení	6
II.3.1. Symbiotická fixace dusíku	7
II.3.2. Nesymbiotická fixace dusíku	11
II.3.3. Podpora biologické fixace dusíku	14
II.3.4. Inokulační (očkovací) preparáty	16
II.4. Výhody a perspektivy alternativního hnojení	19
II.5. Závěry a doporučení pro praxi	20
III. Srovnání „novosti postupů“	21
IV. Popis uplatnění certifikované metodiky	22
V. Ekonomické aspekty	22
VI. Seznam použité související literatury	23
VII. Seznam publikací, které předcházely metodice	23
VIII. Dedikace	24
IX. Jména oponentů a názvy jejich organizací	24

I. Cíl metodiky

Cílem metodiky je podat základní informace o využití půdních bakterií fixujících vzdušný dusík. Tyto bakterie mohou účinně doplnit nebo částečně nahradit dusíkatá průmyslová hnojiva. Metodika přehledně popisuje postupy izolací a testací dusík fixujících bakterií rodů *Azotobacter* a *Rhizobium*. Zároveň poskytuje doporučení na podporu biologické fixace dusíku. Součástí metodiky je také praktický návod na inokulaci zemědělských plodin těmito prospěšnými půdními bakteriemi.

II. Vlastní popis metodiky

II.1. Význam dusíku pro výživu rostlin

Dusík (N) má nezastupitelnou úlohu pro růst a vývoj zemědělských plodin. Je jednou z hlavních živin a je naprosto nezbytný pro tvorbu biomasy i pro životní funkce buněk všech organismů. V rostlinách plní dusík řadu funkcí, např. stavební, metabolickou, transportní i zásobní. Je obsažen zejména v bílkovinách, nukleových kyselinách, chlorofylu, chitinu i v enzymech. Množství dusíku v sušině rostlin se v průměru pohybuje v rozmezí 1 – 3 %. Dusík je živinou, která nejvíce limituje rostlinnou produkci, a proto je všeobecně aplikován do půdy ve velkém množství. Obsah celkového dusíku v půdě se často uvádí ve spojení s obsahem humusu v půdě nebo s obsahem oxidovatelného uhlíku jako poměr C:N. Jeho hodnota je poměrně stálá. Celkový obsah dusíku v půdách se pohybuje v širokém rozmezí od 0,02 do 0,5 % a to zejména ve formě organických látek. Nedostatek dusíku způsobuje u rostlin omezení tvorby stavebních a funkčních bílkovin, což se projevuje omezením růstu, následně snížením výnosu a většinou i zhoršením kvality produkce. Výrazným znakem nedostatku N je světlejší zabarvení rostlin, které je způsobeno sníženou tvorbou chlorofylu.

II.2. Zdroje dusíku pro rostliny

Zdrojem dusíku není matečná hornina, jako je tomu u ostatních prvků. Do půdy se dostává především ze vzduchu, činností mikroorganismů fixujících půdní dusík nebo při bouřkách ve formě kyseliny dusičné nebo dusité a rozkladem

organické hmoty. O zásobování rostlin dusíkem nerozhoduje jeho celkové množství v půdě, ale jen množství v přijatelných formách.

Z půdy mohou rostliny přijímat dusík převážně jen z jeho minerálních sloučenin. Dusíku v této formě však obsahuje půda pouze 1 – 2 % z celkového obsahu N v půdě a navíc jeho množství sezónně podléhá rychlým a kvantitativně velkým změnám.

Většina dusíku v půdě (98-99 %) se nachází v organické formě. Ke zdrojům organického dusíku patří zejména biomasa mikroorganismů, metabolity organismů žijících v půdě, rostlinné a živočišné zbytky. Rozložitelné organické dusíkaté látky jsou v půdě činností půdních mikroorganismů mineralizovány až na výsledný amoniak, který může být sorpčně poután, z půdního roztoku přijímán rostlinami, nitrifikován nebo denitrifikován. Vedle rozkladu organických dusíkatých látek v půdě však dochází též k syntéze nových látek na bázi dusíku.

Hlavním aktivním zásobníkem dusíku je atmosféra. Atmosféra je primárním zdrojem většiny dusíku, který v současnosti koluje v biosféře. V ovzduší se vyskytuje řada dusíkatých látek. Jejich depozice na povrch Země se označuje jako suchý a mokrý spad. Suché a mokré depozice jsou relativně velkým zdrojem dusíku a činí asi $5 - 60 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ podle stupně znečištění ovzduší. Dalším zdrojem dusíku z atmosféry je molekulární dusík (N_2). Některé bakterie a sinice mají schopnost asimilovat tento dusík. Takovýto proces redukce molekulárního dusíku na amoniak se nazývá biologická fixace dusíku. Tímto způsobem se může dostat do půdy až $300 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$.

Přesto, že půda i atmosféra jsou zdrojem značného množství dusíku, rostliny a mikroorganismy jej také mnoho odčerpávají. Hlavní podmínkou pro zachování půdní úrodnosti je pravidelné navracení odebraných živin zpět do půdy. Dobrá půdní úrodnost je definována jako schopnost půdy umožňovat rostlinám růst, vývoj a dosažení žádoucího výnosu, kvality a nezávadnosti produkce. Je nezbytným předpokladem intenzivní rostlinné výroby a na jejím poklesu nebo zvýšení závisí ekonomická efektivnost zemědělských farem. Dusík se proto musí do zemědělských půd pravidelně dodávat.

Nejdůležitějšími zdroji dusíku pro výživu rostlin v intenzivní rostlinné výrobě je aplikace hnojiv, jak průmyslových (minerálních), tak organických (statkových) a fixace vzdušného dusíku (symbiotická i nesymbiotická).

II.2.1. Minerální hnojení

Využívání různých forem dusíkatých hnojiv prodělalo v posledních desítkách let obrovský rozvoj. Pro zajištění dobrého růstu a výnosu se dusíkatá hnojiva často aplikují v nadbytku. Neustálé zvyšování dávek minerálního dusíku přineslo zvýšení výnosů pěstovaných plodin, ale na druhé straně mělo a stále má též negativní dopady na životní prostředí. Velká část dodaných živin však často nebývá využita a může docházet i k nežádoucím jevům negativně ovlivňujícím životní prostředí jako je vysoká emise skleníkových plynů a vyplavování nitrátů do podzemních vod. Účinnost dusíku aplikovaného do půdy tak může být někdy menší než 70 %.

V České republice po prudkém poklesu v letech 1990 - 1994 spotřeba minerálních dusíkatých hnojiv postupně roste. Současně však klesá přívod dusíku do půdy ve statkových hnojivech živočišného původu. V důsledku poklesu stavu skotu byly sníženy i výměry jetelovin. Následně poklesl o 50 % přívod dusíku symbiotickou fixací. Zvyšující se spotřeba minerálních dusíkatých hnojiv tedy částečně nahrazuje uvedené propady v přívodu dusíku, zejména v podnicích bez chovu hospodářských zvířat.

Tabulka 1: Průměrný přívod dusíku do půdy v minerálních hnojivech, statkových hnojivech a symbiotické fixaci N_2 . Údaje jsou uvedeny v kg na ha zemědělské půdy (*od roku 2010 vztaženo k využívané zemědělské půdě dle Českého statistického úřadu). Statková hnojiva jsou uvedena v exkrementech hospodářských zvířat po odpočtu ztrát živin ve stájích a při skladování.

Forma dusíku / Rok	1985	1990	1995	2000	2005	2010*	2011*	2012*
Minerální hnojiva	102,7	89,8	55,4	58,9	73,2	76,7	100,7	98,9
Statková hnojiva	41,0	41,5	27,0	24,2	21,5	22,4	21,3	21,0
Symbiotická fix. N	21,5	19,6	17,2	13,6	9,8	8,8	8,2	

Zdroj: Mze ČR, VÚRV, v.v.i.

Největší význam pro výživu rostlin má nitrátový dusík (NO_3^-). Kořeny rostlin ho přijímají aktivně spolu s vodou, protože není vázán půdními koloidy. Amonný dusík se v půdě nachází převážně ve formě kationtu NH_4^+ . Část NH_4^+ je ve výměnné formě a může být přijímána rostlinami, část vlivem činnosti nitrifikačních bakterií podléhá

nitrifikaci až na výsledný nitrát (NO_3^-), který je rovněž přístupný rostlinám. Intenzivní nitrifikace může však vést ke ztrátám dusíku vyplavením, případně denitrifikaci a následné volatilizaci dusíku. Vyplavením se v závislosti na druhu půdy a intenzitě srážek může ročně ztratit až 50 kg N na hektar. Obecně se dá říci, že tyto ztráty rostou s intenzitou hospodaření.

II.2.2. Organické hnojení

Organická hnojiva jsou hnojiva univerzální, která obsahují všechny rostlinné živiny, tedy i dusík. Prostřednictvím těchto hnojiv jsou živiny do půdy dodávány ve vhodném poměru, půda je navíc obohacována aktivními látkami a to umožňuje také lépe využívat živiny z minerálních hnojiv i z půdní zásoby. Aplikace organických hnojiv má také zásadní vliv na zvyšování obsahu organické hmoty v půdě. Tam, kde je zachovaná vazba rostlinné výroby na výrobu živočišnou, nedochází k přerušení přirozeného toku organických látek ve statkových hnojivech do půdy.

Statková hnojiva vznikají jako vedlejší produkt při chovu hospodářských zvířat nebo pěstování kulturních rostlin. Mezi statková hnojiva živočišného původu patří nejen hnůj, močůvka, kejda a drůbeží trus, ale i výkaly a moč zanechané hospodářskými zvířaty při pastvě. Mezi statková hnojiva rostlinného původu patří vedlejší produkty, jako je sláma a řepný chrást nebo celé rostliny zapravované do půdy při zeleném hnojení nebo ponechané na povrchu půdy např. při mulčování trávy. Obecně se jedná o sklíditelné rostlinné zbytky použité ke hnojení. Do budoucna je očekáván růst významu méně obvyklých organických hnojiv jako je digestát z bioplynových stanic nebo kompost.

II.3. Biologická fixace dusíku – alternativní hnojení

Význam biologické fixace dusíku

Biologická fixace molekulárního dusíku je po fotosyntéze druhý nejdůležitější biologický proces na Zemi. Je to jediný významnější přirozený proces, kterým je pro organismy nedostupná forma N_2 převáděna na minerální formu dusíku metabolizovatelnou všemi rostlinami a mikroorganismy. Biologická fixace je nejefektivnějším a z hlediska nároků na energii i optimálním způsobem zabezpečení rostlin dusíkem. Celosvětově je ročně fixováno přibližně 175 miliónů tun dusíku a toto

množství více jak 4x převyšuje celkovou průmyslovou výrobu dusíkatých hnojiv za stejné období. Význam biologické fixace jako zdroje dusíku pro zemědělské plodiny je znám již více než 100 let. Pochopení principů a základních podmínek pro fixaci dusíku a jejího ekonomického významu pro zemědělskou výrobu stimulovalo prudký vzrůst aktivity výzkumu v této oblasti. Biologickou fixaci molekulárního dusíku mohou provádět pouze organismy vybavené příslušnými enzymy. Fixátoři N_2 jsou výlučně prokaryotické mikroorganismy – bakterie a sinice. Podle své schopnosti metabolizovat dvojatomovou molekulu dusíku se nazývají diazotrofové.

Mnohé diazotrofické mikroorganismy mohou žít volně, nezávisle na jiných organismech. V půdách našeho pásma patří mezi nejznámější bakterie podporující růst a vývoj rostlin především volně žijící rod *Azotobacter*. Jiné mikroorganismy vytvářejí symbiózy s rostlinami. Nejznámějším a velice rozšířeným typem symbiózy diazotrofů s rostlinami je symbióza bakterií rodu *Rhizobium* (a několika dalších příbuzných rodů) a rostlin čeledi *Fabaceae*, tkz. leguminóz. Všichni diazotrofové však pro fixaci N_2 využívají stejný nebo velice podobný enzymatický aparát, jehož centrální složkou je enzym nitrogenasa.

II.3.1. Symbiotická fixace dusíku **(*Rhizobium* spp.)**

Symbiotická fixace dusíku má z hlediska zemědělské výroby v podmínkách mírného pásma větší význam než fixace nesymbiotická. Je to především symbióza hlízkových bakterií - rhizobií - s leguminózami. Bylo zjištěno, že z celkového počtu okolo 20 000 druhů leguminóz je většina schopna tvořit symbiózu a poutat atmosférický dusík. Symbiózy rhizobií s luskovinami jsou schopné ročně fixovat 50 - 200 kg N/ha a s píceňkami (vojtěška a jetel) 200-300 kg/ha. Symbiotická fixace dusíku využívá energii získanou fotosyntézou u rostlin k přeměně N_2 na NH_3 . Na této přeměně se zúčastňuje v převážné míře rod *Rhizobium*.

Rhizobia jsou gram-negativní, obligátně aerobní, heterotrofní bakterie schopné fixovat vzdušný dusík. Mají tyčinkovitý tvar a jsou opatřeny subpolárně umístěnými bičíky. Taxonomicky se dělí na „rychle rostoucí“ které tvoří hlízky na vojtěšce, jeteli a hrachu, protože v čistých kulturách rostou mnohem rychleji než „pomalu rostoucí rhizobia“ nodulující např. sóju a lupinu. Základní schopností rhizobií je reagovat na klíčící rostlinky leguminóz, které produkují signální bílkoviny - noduliny

a přitahují tak k sobě specifická rhizobia pro určitý druh leguminózy. Rhizobia se uchycují na povrchu kořínku, čímž dochází k jeho zakrucování, rychle se množí, tvoří infekční vlákna a pronikají do kortexu kořenu. Svým průnikem stimulují tvorbu buněk kořene a vytvoření hlízek. Tyčinky rhizobií se současně mění v morfologicky odlišnou bakteroidní formu, shluky bakteroidů se obklopují buněčnou membránou a dochází ke koordinaci metabolických pochodů obou partnerů. Po těchto pochodech je prostřednictvím enzymu nitrogenasy zahájena samotná fixace dusíku. Počty rhizobií stejně jako jejich rodové a druhové zastoupení v půdách závisí na abiotických a biotických vlivech prostředí a na druzích pěstovaných nebo divoce rostoucích leguminóz. Na vznik a vývoj hlízek mají velký vliv hlavně fyzikální vlastnosti půdy jako je teplota, půdní vlhkost, zásobenost živinami, hlavně dusíkem a pH. Některé bakterie rodu rhizobium mají také schopnost transformovat málo rozpustné fosfáty do rozpustných forem. Navíc je známo, že rhizobia jsou schopna kolonizovat rhizosféru řady rostlin a mohou též endofyticky osidlovat neleguminózní rostliny. Přítomnost rhizobií v rhizosféře rostlin tak může mít pozitivní vliv na klíčení a růst rostlin. Tento efekt, v literatuře popisovaný jako plant-growth promoting rhizobacteria effect (PGPR), byl zaznamenán u různých rodů a druhů rhizobií.

Izolace rhizobií se provádí z hlízek kulturních leguminóz. Pro izolaci se vybírají vyrovnané zdravé porosty na nehnojených neočkovaných pozemcích v oblastech, kde se daný druh leguminóz hojně pěstuje, nebo přirozená stanoviště divoce rostoucích leguminóz. Přínosem je získání izolátů z různých lokalit. Tyto izoláty jsou adaptované na různé specifické podmínky cílových stanovišť a lépe obstojí v konkurenci ostatních půdních mikroorganismů. Izolace se dělají na začátku květu rostlin, kdy jsou rhizobia v hlízkách nejaktivnější. Z kořenů se po opatrném promytí vodou na sítu odebere hlízka nejvhodnější pro izolaci, tj. největší ze zjištěných hlízek, pokud možno růžové barvy, umístěná na hlavním kořeni. Hlízka se omyje silným proudem vody a povrchově se dezinfikuje 2 minuty absolutním alkoholem. Pak se ožehnutou pinzetou přenesse na 2 minuty do 0,1 % HgCl_2 . Poté se přenáší postupně do dvou až tří Petriho misek se sterilní vodou, kde se po dobu 5 až 7 minut promývá a potom se přenesse do prázdné sterilní Petriho misky. Obsah hlízky se opatrně vymáčkne na agarovou živnou půdu (hrachový agar nebo Ashbyho agar s krystalovou violetí). Misky se inkubují 3-7 dní v termostatu při teplotě 28-30 °C. Použitím uvedené metody a dodržení sterility práce se získají čisté kultury rhizobií. Narostlé kolonie se mikroskopicky kontrolují a čisté izoláty se označí čísly a

přeočkují na zkumavky se šikmým hrachovým agarem a uchovávají v ledničce při teplotě 7 °C. Složení hrachového agaru: 50 g hrách, 17 g agar, 10 g glukosa, 1 g K_2HPO_4 . Do odvaru hrachu v 1 l vody se přidá vše ostatní a agar, pH se upraví na 7,1-7,2.

Hlízky na kořenech komonice



Hlízky na kořenech sóji



Testace účinnosti rhizobií. Izoláty bakterií rodu *Rhizobium* se testují na nitrogenasovou aktivitu jako ukazatele schopnosti fixovat vzdušný dusík. Za tímto účelem se používá standardní acetylen-ethylen redukční metoda. Podstatou měření je zjistit, kolik přidaného acetylenu je enzymem nitrogenasou, přítomným v buňkách těchto bakterií, redukováno na ethylen. Vybrané druhy leguminóz se zaočkují izoláty rhizobií a pěstují do začátku květu v nádobách s perlitem syčeným živným roztokem bez dusíku. Nadzemní hmota rostliny se odstřihne, kořen s hlízkami se opatrně vyklepne z nádoby a přemístí do infuzní lahvičky, která se uzavře gumovou zátkou a kovovým šroubovacím víčkem. K takto uzavřenému kořeni je přidán acetylen do výsledné objemové koncentrace 10 % a kořen je v tomto prostředí inkubován 60 minut. Po inkubaci se z lahviček odeberou vzorky plynu (2ml stříkačky) a za použití plynového chromatografu (např. Hewlett-Packard 5890, FI detektor) se ve vzorcích plynu stanoví množství vytvořeného ethylenu. Nitrogenasová aktivita se potom vyjádří v $\mu\text{molC}_2\text{H}_4/\text{rostlina}/\text{hod}$.

Výběr kmenů rhizobií. Hlavním cílem selekčních programů hlízkových bakterií je zajistit produkci takového inokula, které bude obsahovat kmen nebo kmeny rhizobií, schopné tvořit plně efektivní dusík fixující hlízky na leguminózách, pro které je určeno, a v půdních a klimatických podmínkách, ve kterých jsou dané plodiny pěstovány. Další požadovanou vlastností je schopnost vysoké infekitivity selektovaných kmenů, schopnost vysoké fixace N_2 . Důležitá je též odolnost k nepříznivým vlivům prostředí. U kmenů používaných k inokulaci píce, se též požaduje dlouhodobé přežívání. Dalším důležitým faktorem při selekcích kmenů rhizobií je prověření konkurenceschopnosti selektovaných kmenů proti přirozené populaci rhizobií vyskytující se v půdě. Vzhledem k tomu, že se rhizobiální kmeny od sebe vzájemně liší v mnoha vlastnostech, zvláště pocházejí-li z různých od sebe odlišných lokalit, je možné vyselektovat výborný kmen. Pro zjištění virulence a mohutnosti fixace vzdušného dusíku izolovanými kmeny rhizobií a jejich konkurenceschopnosti v přirozených podmínkách jsou zakládány laboratorní, hydroponické a skleníkové pokusy a následně i pokusy polní. Jejich účelem je vybrat nejúčinnější z izolovaných kmenů pro přípravu očkovací látky, resp. kontrolovat účinnost provozních kmenů.

Uchovávání provozních kmenů. Vybraný provozní kmen rhizobií, který je charakterizován vysokou N_2 fixační aktivitou a virulencí, by měl vykazovat minimální variabilitu a intenzivní růst na pevných a zvláště v tekutých médiích. V poslední době jsou vybírány kmeny rhizobií, které kromě schopnosti fixovat vzdušný dusík mají P-solubilizační aktivitu. Tato aktivita zajišťuje rostlinám lepší čerpání a využitelnost fosforu. Provozní kmeny také nemají tvořit nadbytečný sliz. Provozní kmeny se uchovávají ve zkumavkách s hrachovým agarem nebo jsou udržovány v lyofilizovaném stavu. Na agaru se kultivují 2-5 dní při teplotě 28-30°C a potom uchovávají přibližně při teplotě 5°C. Přeočkování se provádí pravidelně po 6 měsících, přitom se kultury prohlížejí a nejméně jedenkrát ročně se kontrolují pod mikroskopem. Infikované kmeny se přečišťují zředovací metodou na hrachovém agaru nebo na Ashbyho agaru s krystalovou violetí.

II.3.2. Nesymbiotická fixace dusíku (Bakterie rodu *Azotobacter*.)

Vedle symbiotických hlízkových bakterií jsou v půdách našeho pásma zastoupeny další prospěšné půdní rhizobakterie, které podporují růst a vývoj rostlin. Mezi ně patří především volně žijící bakterie rodu *Azotobacter*, které fixují vzdušný dusík. Azotobactery se vyskytují především v orných půdách s neutrálním pH a vyšším obsahem organických látek. Obecně se uvádí, že biologická fixace volně žijícími fixátory dusíku se pohybuje ročně od 5 do 10 kg N na hektar, vyšší fixace až 30 kg N/ha/rok je dosahovaná při vyšší vlhkosti a teplotě půdy a při vyšším zásobení půdy organickou hmotou.

Bakterie rodu *Azotobacter* jsou gram-negativní nesymbiotické volně žijící půdní bakterie, které jsou schopny fixovat vzdušný dusík. Buňky jsou 2-10 μm dlouhé a 1-2 μm široké, některé druhy mají bičíky a jsou pohyblivé. Vyskytují se především v orných půdách mírného pásma s neutrálním pH a vyšším obsahem organických látek. Výskyt a počty bakterií rodu *Azotobacter* a jejich schopnost fixovat vzdušný dusík úzce souvisí spolu navzájem i s obsahem dusíku v půdě. Aplikace vysokých dávek průmyslových N hnojiv potlačuje N_2 fixační aktivitu těchto bakterií, naopak používání organických hnojiv (hnůj, kompost, zaorávka slámy) zvyšuje výskyt azotobactera v půdě i jeho aktivitu. Vedle podpory podmínek je možné těmito prospěšnými bakteriemi přímo inokulovat půdu nebo osivo před setím.

Izoláty bakterií ve zkumavkách



Kolonie bakterií azotobactera



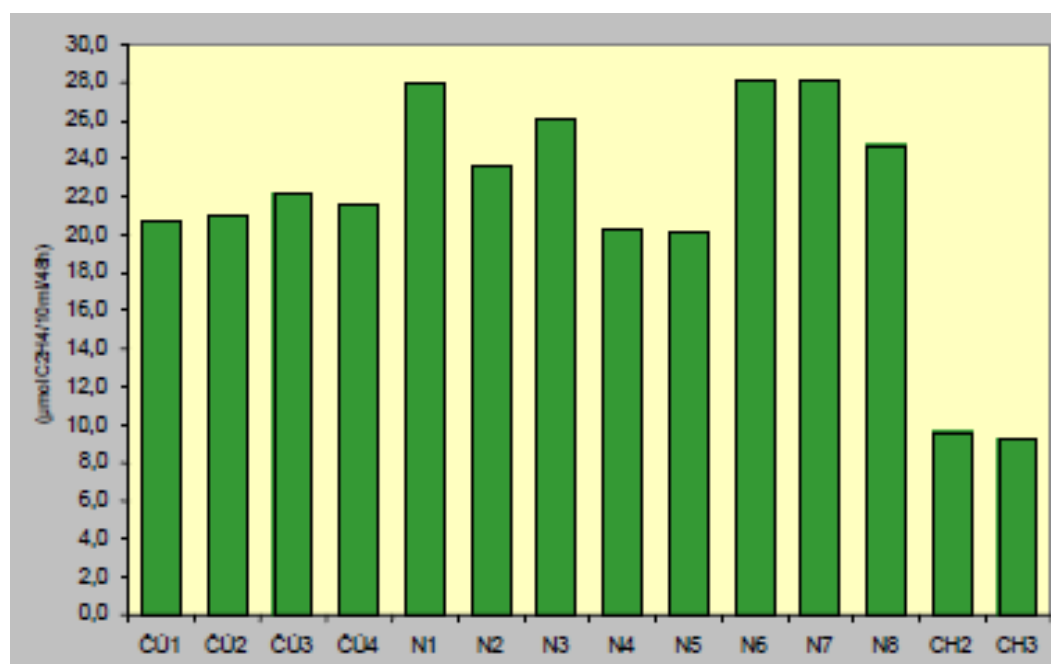
Izolace rodu *Azotobacter*. Pro izolaci se vybírají půdy s hojným výskytem přirozených bakterií tohoto rodu; jsou to především půdy nehnojené průmyslovými N hnojivy s vyšším obsahem půdní organické hmoty a neutrálním pH. Při vyhledávání vhodných lokalit pro odběr vzorků půd za účelem izolace kmenů lze cíleně vybrat též takové oblasti, kde se vyskytují specifické kolonie těchto bakterií, které se přizpůsobily méně příznivým podmínkám (např. omezená dostupnost živin, nízká biologická aktivita půdy apod.) a byly tak tlakem okolního prostředí vyselektovány k vyšší životaschopnosti a vyšší aktivitě. Pro izolace se odebírají čerstvé půdní vzorky, nejlépe z hloubky 0-20 cm. Jako živné médium se používá Ashbyho agar. Základní suspenze vzorků pro izolaci bakterií se připraví ředěním a dokonalým zhomogenizováním 10 g vzorku půdy v 90 ml sterilní destilované vody se skleněnými kuličkami. Ze základní suspenze se připraví řada desetinásobných ředění postupným pipetováním 1 ml suspenze do připravených zkumavek s 9 ml sterilní destilované vody. Ředící řada se připraví od prvního do čtvrtého ředění. Do připravených sterilních Petriho misek se pipetuje 1 ml z každého ředění suspenze (ve třech opakováních) na dno Petriho misky, potom se nalije ochlazená živná půda, která se ihned důkladně promíchá. Po utužení živných půd se misky uloží k inkubaci do termostatu při teplotě 28 °C. Po pěti dnech se misky s narostlými koloniemi bakterií vyjmou z termostatu a pro izolaci bakterií rodu *Azotobacter* se vyberou misky s typickými slizovitými nárůsty kolonií. Z vybraných kolonií se očkovací kličkou přenese obsah na nové Petriho misky s Ashbyho agarem. Čistota izolátů se ověří barvením podle Grama a mikroskopováním. Získané čisté izoláty se označí čísly a přeočkují na zkumavky se šikmým Ashbyho agarem a uchovávají při teplotě 7 °C v ledničce. Složení Ashbyho agaru: 0,2 g KH_2PO_4 , 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g NaCl, 5 g CaCO_3 , 0,1 g CaSO_4 , 10 g mannitol, 15 g agar, doplnění destilovanou vodou na 1 litr, úprava pH na 7.

Testace účinnosti rodu *Azotobacter*. Izoláty bakterií se testují na nitrogenasovou aktivitu jako ukazatele schopnosti fixovat vzdušný dusík. Za tímto účelem se používá standardní acetylen-ethylen redukční metoda. Podstatou měření je zjistit, kolik přidaného acetylenu je enzymem nitrogenasou, přítomným v buňkách těchto bakterií, redukováno na ethylen. Jednotlivé izoláty se kultivují v tekutém Ashbyho médiu tři dny na třepačce při 28 °C. Do infuzních lahvíček (objem 100 ml) se naváže 50 g proseté zeminy (2mm síto) a přidá 10 ml třepané bakteriální kultury a 2 ml 7,5% roztoku glukosy a lahvičky se plynotěsně uzavřou. 10 % objemu lahvíček

se potom injekční stříkačkou nahradí stejným objemem acetylenu a lahvičky se nechají inkubovat 48 hodin při teplotě místnosti. Lahvičky se během této doby několikrát protřepou. Po inkubaci se z lahviček odeberou vzorky plynu (2ml stříkačky) a za použití plynového chromatografu (např. Hewlett-Packard 5890, FI detektor) se ve vzorcích plynu stanoví množství vytvořeného ethylenu. Aktivita nitrogenasy se potom vyjádří v $\mu\text{molC}_2\text{H}_4/10\text{ml kultury}/48\text{hod}$.

Tato standardní metoda byla modifikována a ověřena ve VÚRV, v.v.i. a na jejím základě lze posoudit efektivitu testovaných izolátů bakterií rodu *Azotobacter*. Shora uvedenou metodou izolací byla ve VÚRV, v.v.i. založena pracovní sbírka bakterií rodu *Azotobacter*. Tyto kmeny byly testovány na aktivitu nitrogenasy popsáním způsobem.

Graf 1: Nitrogenasová aktivita izolátů bakterií rodu *Azotobacter*



Z výsledků testů je patrné, že se jednotlivé kmeny v aktivitě nitrogenasy výrazně liší a pro přípravu inokulačních preparátů je možno vybrat izoláty podle efektivity.

Výběr kmenů rodu *Azotobacter*. Hlavním cílem selekčních programů bakterií rodu *Azotobacter* je zajistit produkci takového inokula, které bude v dostatečném počtu obsahovat efektivní kmen nebo kmeny těchto bakterií. Kritéria pro úspěšnou selekci provozních kmenů: izolované kmeny musí vykazovat vysokou

aktivitu, kmeny se musí rychle množit na sterilních i nesterilních médiích a nesmějí způsobovat kořenové choroby rostlin. Před samotnou přípravou inokulačních preparátů musí být účinnost kmenů prověřena v různých půdních a klimatických podmínkách. Vzhledem k tomu, že se kmeny od sebe vzájemně liší v mnoha vlastnostech, zvláště pocházejí-li z různých od sebe odlišných lokalit, je možné selektovat kmeny s ohledem na požadované vlastnosti nebo cílové lokality.

II.3.3. Podpora biologické fixace dusíku

Podpora rozvoje a aktivity bakterií rodu *Azotobacter* v půdě (nesymbiotická fixace)

Organické hnojení

Jednou z možností jak zvýšit nesymbiotickou fixaci v půdě je aplikace organických hnojiv. Vytvořením vhodných podmínek pro rozvoj azotobaktera v půdě, zejména dostatečnou zásobou organické hmoty, se zároveň zvyšuje zásobování půdy dusíkem. Je však nezbytné sledovat zásobenost půdy přístupným dusíkem a to jak ve formě amonné, tak ve formě nitrátové. Vysoký obsah přístupného dusíku má inhibiční vliv na počty azotobaktera, a tím bývá nepříznivě ovlivněna i jeho nitrogenasová aktivita.

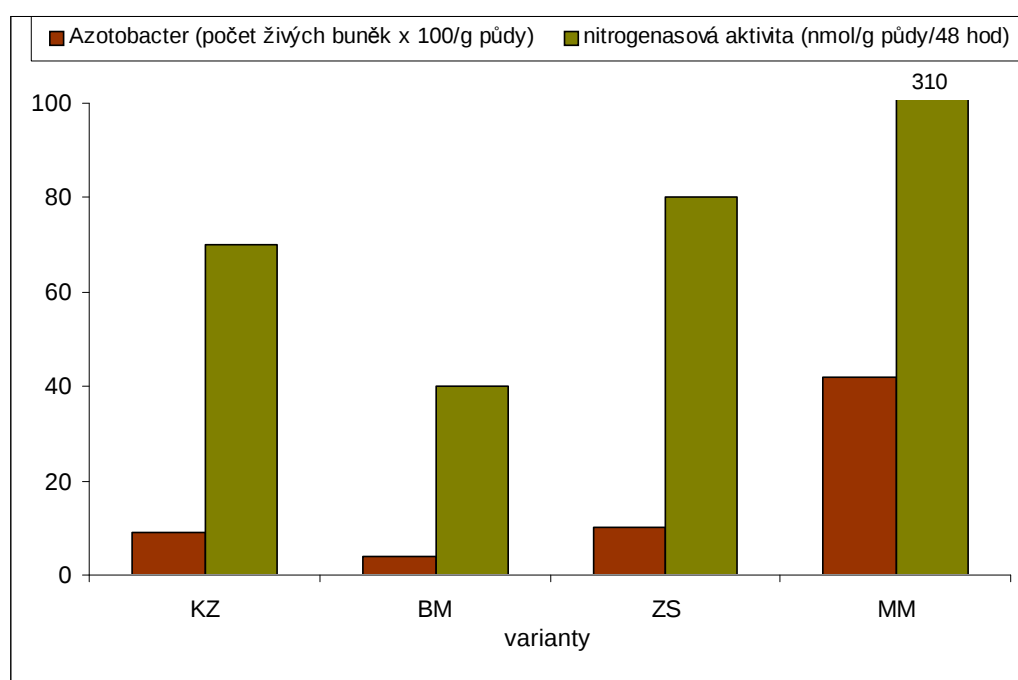
Pro podporu rozvoje a aktivity bakterií rodu *Azotobacter* má tedy zásadní význam hnojení organickými hnojivy. Organické hnojení, zejména hnojem a komposty zlepšuje půdní úrodnost zvýšením obsahu půdní organické hmoty a aktivity půdní mikroflóry, a tím přispívá ke zlepšení biologických vlastností půdy.

Pūdoochranné technologie

Vedle aplikace organických hnojiv napomáhají rozvoji prospěšných půdních bakterií, mezi které patří i bakterie rodu *Azotobacter*, též určitá agrotechnická opatření a způsoby zpracování půdy před setím. Pūdoochranné technologie jsou jedním z nich. Ochranné zpracování půdy má za následek změnu distribuce uhlíku a dusíku v půdním profilu. Při redukovaném zpracování půdy dochází obvykle v orničním profilu ke kumulaci organických látek a ty se pak stávají stálým zdrojem energie pro prospěšné půdní mikroorganismy.

Rozvoj a aktivita bakterií rodu *Azotobacter* byla prakticky dokumentována na výsledcích z polního pokusu ve VÚRV, v.v.i. v Praze – Ruzyni, kde je praktikován ochranný způsob zpracování půdy. Z výsledků bylo zjištěno, že počty azotobacteria a následně i potenciální nitrogenasová aktivita půdy jsou pozitivně ovlivněny zaoranými posklizňovými zbytky a mulčem z meziploidy.

Graf 2: Počty bakterií rodu *Azotobacter* a potenciální nitrogenasová aktivita půdy ve variantách pokusu s různým zpracováním půdy
(KZ – konvenční zpracování, BM – bezorebné zpracování bez mulče, ZS – sláma a posklizňové zbytky jako mulč, MM – mulč z meziploidy)



Z výsledků grafu je vidět, že počty azotobacteria a následně i potenciální nitrogenasová aktivita jsou pozitivně ovlivněny zaoranými posklizňovými zbytky a mulčem z meziploidy.

Podpora symbiotické fixace dusíku pro výživu leguminóz (*Rhizobium* spp.)

Leguminózy jsou specifické v tom, že mají schopnost žít v symbióze s bakteriemi poutajícími vzdušný dusík. Tímto způsobem pokrývají téměř celou svoji potřebu dusíku a zároveň obohacují o dusík i půdu pro následné plodiny. Brzy po vzcházení, ve fázi intenzivního růstu kořenů, dochází na kořenech k tvorbě hlízek, která je reakcí rostliny na jejich infekci hlízkovými bakteriemi rodu *Rhizobium*. Infekce a nodulace kořenů je druhově specifická. Nodulaci a účinnost rhizobií ovlivňují

podmínky prostředí, především půdní reakce (optimální pH přibližně 6,5 - 7,0), vlhkost půdy (optimální navlhčení půdy na 40 – 60 % vodní jímavosti), provzdušňenost, teplota půdy (nad 10°C) a zásobenost živinami, především dusíkem a fosforem.

Z hlediska vytváření optimálních podmínek pro fixaci dusíku je potřeba při zakládání porostů leguminóz vybírat vhodná stanoviště podle druhu pěstované leguminózy, volit vhodné půdy - neutrální nebo mírně kyselé reakce, s vyváženým poměrem živin (hlavně P, K, Ca) a s pokud možno nízkou hladinou minerálního N, je třeba také zajistit dobré zpracování půdy před setím a dodržovat agrotechnické termíny.

Podpora biologické fixace dusíku aplikací biopreparátů

Podpora biologické fixace jako zdroje dusíku pro rostliny je důležitá nejen ve výživě leguminóz, ale i při pěstování ostatních plodin. Za tímto účelem je možné nejen v ekologickém zemědělství aplikovat do půdy pomocné půdní látky obsahující prospěšné půdní mikroorganismy (vyhláška MZe ČR 263/2003). Prospěšné půdní mikroorganismy, podporující růst a vývoj rostlin, jsou často označovány jako rhizobakterie. Tato skupina půdních mikroorganismů kolonizuje kořeny rostlin, fixuje vzdušný dusík a produkcí a uvolňováním metabolitů, jako jsou růstové regulátory, fytohormony a biologicky aktivní látky, stimuluje růst rostlin. Podílí se též na řadě klíčových procesů v půdě, přispívá ke zvyšování dostupnosti živin pro rostliny a napomáhá k udržení dobré půdní struktury. Úspěšná kolonizace rhizosféry rostlin je vedle samotné aktivity těchto mikroorganismů základním předpokladem k tomu, aby se prospěšné působení těchto mikroorganismů projevilo. Důležitým faktorem je proto očkování osiva.

II.3.4. Inokulační (očkovací) preparáty

Význam bakteriální inokulace

Význam bakteriální inokulace spočívá v možnosti snížit vysoké dávky minerálních dusíkatých hnojiv používané pro kvalitní výnosy zemědělských plodin a zlepšit tak ekonomiku jejich pěstování. Také dochází ke změně druhové diverzity

mikroorganismů a zvýšení mikrobiální aktivity půdy. Mikroflóra, která je hlavním činitelem koloběhu látek mezi půdou a rostlinou, ovlivňuje podmínky růstu a výživy rostlin. Půdní prostředí, ve kterém je bohatá mikrobiální činnost, lépe splňuje nároky rostlin než prostředí mikrobiologicky chudé.

Existují však problémy spojené s aplikací inokulantů do půdy. Hlavní problém introdukce mikroorganismů do půdy souvisí s jejich přežitím. Vnesené 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.

Prospěšnost inokulace bakteriemi rodů *Rhizobium* a *Azotobacter*, jako součást trvale udržitelného hospodaření na půdách, byla sledována a prokázána v mnoha studiích. Řada prací z dřívějších let a hlavně z poslední doby dokumentuje, že aplikace takovýchto mikroorganismů k zemědělským plodinám zvyšuje nejenom jejich výnos, ale může zlepšit i jejich odolnost k nepříznivým vlivům prostředí, jako je nedostatek vody a živin nebo kontaminace půd těžkými kovy. Další studie ukazují, že použití prospěšných bakterií jako půdního inokulantu se projevuje ještě dalšími pozitivními účinky jako je produkce růstových hormonů, produkce fungicidních látek a v neposlední řadě schopnost rozpouštět fosfáty v půdě a tím zpřístupňovat P rostlinám.

Na základě těchto poznatků se významně rozvinula možnost využití těchto půdních bakterií pro přípravu biopreparátů určených k inokulaci osiva pěstovaných plodin nebo půdy.

Výroba inokulačních preparátů

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 skladování. Musí však obsahovat dostatečný počet efektivních mikroorganismů. Pro preparáty vyráběné průmyslově je

však vhodný nosič, který zaručí dlouhodobější přežívání mikroorganismů nezbytným předpokladem.

Inokulační preparáty se vyrábějí v různých formách a s různými nosiči. Nosné substráty pro mikroorganismy by měly nabídnout určité specifické vlastnosti jako je vysoká vododržnost, chemická a fyzikální stabilita, nepřítomnost toxických látek a šetrnost k životnímu prostředí. Zároveň by mělo jít o materiály s neutrálním nebo snadno nastavitelným pH, které se v daných oblastech použití vyskytují nebo jejichž výroba je ekonomicky výhodná. Obecně se jako nejlepší osvědčily inokulační preparáty vyráběné na bázi vysoce kvalitní jemně mleté sterilní rašeliny. V poslední době je rašelina i díky nižší dostupnosti nahrazována jinými materiály jako jsou např. granulované jílové minerály. Stále jsou vyvíjeny nové formy nosičů, které by měly zajistit prodlouženou dobu skladování a uživatelskou i cenovou výhodnost.

Preparát na rašelinovém a granulovaném nosiči



V současné době jsou v České republice vyráběny očkovací preparáty pod názvem Nitrazon a Nitrazon + N. Oba tyto preparáty jsou určeny pro leguminózy. Pro přípravu preparátů jsou vybírány kmeny hlízkových bakterií nejen podle efektivity symbiózy pokud jde o poutání vzdušného dusíku, ale také podle schopnosti zpřístupňovat rostlinám fosfor z těžko rozpustných fosfátů. Preparát Nitrazon + N obsahuje vedle rhizobií také kmeny bakterií rodu *Azotobacter*, které k fixaci dusíku nepotřebují symbiózu s rostlinami a okamžitě po aplikaci preparátu začnou ukládat dusík do půdy. Tím je nahrazena startovací dávka dusíku pro počáteční růst

leguminóz. 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 doporučován pro použití při pěstování kukuřice a obilí. Po zasetí začnou kmeny *Azotobacter* ukládat dusík do půdy a tím podpoří rozvoj kořenového systému vzcházejících rostlin. Bakterie rodu *Bacillus*, díky své fosfát solubilizační aktivitě, uvolní pro rostliny až 40 kg fosforu z nepřístupných forem. Dlouhodobě prokázané jsou také pozitivní účinky bakterií rodu *Azotobacter* na rozklad zbytků rostlin. Zároveň také dochází k celkovému mikrobiálnímu oživení půdy. Kombinované inokulaci je v současné době věnována velká pozornost. Snaha sloučit několik pozitivních efektů do jednoho inokulantu je pochopitelná, protože náklady zůstávají stejné a efekt se může násobit. Preparáty Nitrazon, Nitrazon + N a Azotobag vyrábí FARMA ŽIRO, s.r.o. a jsou distribuovány jako pomocné rostlinné přípravky.

Aplikace inokulačních preparátů

Pro úspěšné využití potenciálu inokulačních preparátů je nutné věnovat aplikaci těchto preparátů náležitou pozornost. Velmi důležité je aplikaci provést tak, aby se účinné mikroorganismy, které tyto preparáty obsahují, vždy dostaly do co nejtěsnějšího kontaktu s klíčícím osivem. Jenom tak bude zajištěna jejich správná funkce. Díky kolonizaci rhizosféry vyvíjejících se plodin dodanými bakteriemi se mohou ve velké míře projevit jejich příznivé vlastnosti a následně dochází k podpoře růstu a vývoje inokulovaných plodin. Vzhledem k tomu, že preparáty obsahují pouze přírodní nosné substráty a prospěšné nezávadné půdní bakterie, mohou být využívány v rámci všech způsobů hospodaření (včetně ekologického) jako účinný doplněk nebo náhrada průmyslových hnojiv.

II.4. Výhody a perspektivy alternativního hnojení

Využití prospěšných půdních mikroorganismů pro přípravu biopreparátů a jejich aplikace při pěstování zemědělských plodin má v porovnání s běžně používanými minerálními hnojivy několik výhod. Hlavní výhodou je, že bakteriální biopreparáty jsou neškodné z hlediska životního prostředí a žádné toxické látky se

neakumulují v potravním řetězci a jsou proto vhodné i pro použití v ekologickém zemědělství.

Ekologické zemědělství představuje systém, který používá pro životní prostředí šetrné způsoby hospodaření. Odpovídá tak principům trvale udržitelného rozvoje hospodaření v krajině, které plní nejen produkční funkci, ale i funkci mimoprodukční. Základem ekologického hospodaření je zdravá půda. K ekologickému hospodaření patří mimo jiné zásada nepoužívat průmyslově vyráběná minerální hnojiva. Potřeba dusíku proto musí být saturována statkovými hnojivy, komposty, posklizňovými zbytky, zeleným hnojením a též fixací vzdušného dusíku v půdě. Právě fixace vzdušného dusíku proto sehrává důležitou roli jako zdroj této živiny nejen pro luskoviny a píce, ale pro celý pěstební systém. Leguminózy jsou cenné právě tím, že díky schopnosti fixovat vzdušný dusík zvyšují produktivitu a udržitelnost pěstebních systémů. Díky těmto vlastnostem mají vysokou předplodinovou hodnotu především pro obiloviny. Vedle těchto ekologických výhod je nezanedbatelnou výhodou biopreparátů obsahujících dusík fixující bakterie možnost snížit vysoké dávky minerálních dusíkatých hnojiv používané pro kvalitní výnosy zemědělských plodin při konvenčním způsobu hospodaření.

II.5. Závěry a doporučení pro praxi

Zvýšení účinnosti biologické fixace dusíku jako zdroje dusíku pro rostliny je důležité nejen ve výživě leguminóz, ale i při pěstování ostatních plodin. Inokulace je nezbytnou součástí moderních pěstitelských technologií. Použití efektivních inokulantů pomáhá při výživě pěstovaných plodin a udržuje výnosy na ekonomicky přijatelné úrovni.

Pro pěstování leguminóz lze doporučit očkovací preparáty **Nitrazon a Nitrazon + N**. Oba tyto preparáty obsahují efektivní kmeny rodu *Rhizobium*. Inokulace *Rhizobium* spp. zvyšuje nodulaci a nitrogenázovou aktivitu. Očkování osiva leguminóz přípravky obsahujícími rhizobia je jednou ze základních možností jak zajistit dostatečný počet účinných hlízkových bakterií v blízkosti klíčících kořenů a úspěšnou nodulaci. Očkování osiva se proto doporučuje provádět před každým výsevem. V praxi je sice rozšířený názor, že v půdě je dostatek původních bakterií a očkování osiva má význam pouze tam, kde leguminóza nebyla dosud pěstována, ale tento názor platí pouze omezeně. Počet bakterií v půdě v nepřítomnosti

leguminóz po dvou letech výrazně klesá, a tím klesá i pravděpodobnost včasného uchycení na kořenech. Navíc účinnost místních populací rhizobií není zaručena a může být ve srovnání s dodanými rhizobii podstatně nižší. Leguminózy většinou na inokulaci silně pozitivně reagují jestliže jsou zaváděny do nových oblastí, kde chybí přirozená rhizobia. To je v našich podmínkách především situace při zavádění nových odrůd sóji a lupiny do nových oblastí. Preparát Nitrazon + N obsahuje také kmeny bakterií rodu *Azotobacter*, které k fixaci dusíku nepotřebují symbiózu s rostlinami a po aplikaci začnou velmi rychle ukládat dusík do půdy. Tím může být nahrazena startovací dávka dusíku pro luskoviny.

Pro ekonomicky efektivní pěstování obilovin a kukuřice je určen pomocný rostlinný přípravek **Azotobag**. Tento přípravek obsahuje vybrané bakterie *Azotobacter* spp. Vedle přímé aplikace inokulačních preparátů je nutné podporovat rozvoj a aktivitu baktérií fixujících dusík nepřímo. Agrotechnická opatření se v udržitelných systémech hospodaření musí orientovat na zvyšování humusu v půdě a podporu biologické aktivity půdy. K dalším základním opatřením patří pěstování mezplodin a podsevů, hnojení hnojem nebo kompostem a snaha o šetrné zpracování půdy. 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.

III. Srovnání „novosti postupů“

Metodika je založena na možnosti využití bakterií rodu *Rhizobium* a *Azotobacter* a jejich schopnosti fixovat vzdušný dusík. Nabízí inovované bakteriální preparáty pro alternativní výživu rostlin dusíkem. Preparát Nitrazon + N obsahuje kromě vysoce efektivních symbiotických bakterií *Rhizobium* spp. také nesymbiotické bakterie *Azotobacter* spp., které ukládají dusík do půdy ihned po zasetí a inokulaci. Tím může být nahrazena startovací dávka dusíku pro luskoviny. Přípravek Azotobag je pomocný rostlinný přípravek, který je určen pro efektivní pěstování kukuřice a obilí. Metodika obsahuje také praktická doporučení pro inokulaci rostlin prospěšnými baktériemi a doporučení pro ekonomicky efektivní pěstování leguminóz, kukuřice a obilí.

IV. Popis uplatnění certifikované metodiky

Metodika poskytuje současné znalosti o možnostech uplatnění nových přístupů při zásobování rostlin dusíkem.

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

V současnosti existují celkem snadné způsoby izolací prospěšných půdních bakterií a jejich testování. Výzkum a výsledky polních pokusů s těmito bakteriemi v posledním desetiletí otevírá nový prostor pro výrobu přípravků na jejich základě. Vedle polního použití existují další specifické oblasti jejich využití. Mezi ně patří např. komerční pěstování květin a zahradnictví prováděné ve sklenících. Velké možnosti využití inokulantů lze spatřovat též při bioremediacích např. výsypek po důlní činnosti nebo oblastí zatížených těžkými kovy a kontaminanty z průmyslové výroby. Perspektivou a možností pro zvýšené využití inokulačních preparátů je stále se rozšiřující ekologické a organické hospodaření na půdě, při kterém nejsou používána minerální průmyslová hnojiva.

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. Ekonomické aspekty

Předpokládané ekonomické přínosy pro uživatele se pohybují kolem 20 % a představují ušetřené náklady na minerální hnojení při použití inokulantů obsahujících prospěšné půdní bakterie fixující vzdušný dusík. Při zavádění nových odrůd sóji a lupiny do nových oblastí se ekonomické přínosy pohybují kolem 30 %.

Dalším nevyčíslitelným přínosem je zvýšení mikrobiální diverzity půdy vnesením půdních mikroorganismů, které podporují rozvoj kořenového systému rostlin, fixují vzdušný dusík a zlepšují biologické vlastnosti půdy. Značný přínos lze očekávat v oblasti ekologického a organického hospodaření na půdě, při kterém nesmí být používána minerální průmyslová hnojiva. Perspektivu ve využití inokulantů lze spatřovat též při bioremediacích, komerčním pěstování květin a u skleníkového zahradnictví.

VI. 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.

Šimek, M. (2003): Základy nauky o půdě, 3. Biologické procesy a cykly prvků, Studijní text, Biologická fakulta JU, České Budějovice, 151 str., ISBN 80-7040-630-5.

Vaněk, V. a kol. (2002): Výživa a hnojení polních a zahradních plodin, Studijní text, ČZU Praha, 132 str., ISBN 80-902413-7-9.

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice

Mikanová, O., Šimon, T. (2011): Alternativní výživa rostlin fosforem, Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., Praha, 20 str., ISBN 978-80-7427-080-2.

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

Šimon, T., Mikanová, O. (2009): Využití půdních mikroorganismů pro inokulaci hrachu a ječmene. Úroda, 9: 61-63.

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.

Šimon, T., Mikanová, O. (2012): Vliv kmenů bakterie *Azotobacter* na růst jarního ječmene. Úroda, 6: 83-85.

VIII. Dedikace

Tato metodika vznikla v rámci řešení výzkumného záměru MZe ČR 0002700604, podíl práce prvního autora je 50 % a druhého autora 50 % (suma = 100 %).

IX. Jména oponentů a názvy jejich organizací

- 1) Za státní správu - Ing. Michaela Budňáková, MZe ČR, Úsek zemědělských komodit, výzkumu a poradenství

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

Poznámky

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

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

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

Náklad: 250 ks

Vyšlo v roce 2013

Kontakt na autory: mikanova@vurv.cz , simont@vurv.cz

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2013
ISBN 978-80-7427-143-4

Kdo rychle dává, dvakrát dává!



Očkováním osiva vybranými kmeny hlizkových bakterií dosáhneme rychlého nárůstu kořenových hlizek, a tím rozvoje rostlin. Rozšířený názor, že inokulace semen je zbytečná, protože v půdě je dostatek přírodních bakterií, platí v plném rozsahu pouze u sóji, která je pěstovaná dva roky po sobě na stejném poli. Počet bakterií totiž po dvou letech v půdě bez hostitele výrazně klesá, a tím se snižuje i pravděpodobnost, že se včas uchytí na kořenech rostlin. Ne vždy se též vyskytnou vhodné kmeny, které by odpovídaly zaseté plodině. Inokulací Nitrazonem zajistíme kontakt bakterií již s klíčkem, takže fixace dusíku začíná nejméně o dva i tři týdny dříve a je výrazně vyšší - až 150 kg, z toho uloženo do příštího roku 80 kg

Při registraci nových odrůd sóji, hrachu, vaječky, lupiny, bobu, jetele a pelužky v naší republice, jsou podle nich izolovány a použity další efektivní kmeny Rhizobií. NITRAZON tak obsahuje bakterie žijící zejména na odrůdách, které se skutečně u nás pěstují. Prostor v přípravku nezabírají bakterie, které jsou využívány s malou efektivitou a dávka 0,9 kg/ha zajistí výborné pokrytí osiva i při vysokém výsevu.

Kvalita především - základní NITRAZON

Výrobce přípravku:
FARMA ŽIRO, s. r. o.
Pražská 40, 250 81 Nehvizdy
Fax: 00420 321 695 818

e-mail: nitrazon@atlas.cz
výroba: 00420 723 982 576
konzultace a poradenství: 00420 602 236 756

www.farma-ziro.cz

Zdroj: uděleno

Objednávkový lístek

Firma:	NITRAZON		NITRAZON +N
ulice:	Počet hektarů		Počet hektarů
město:	Druh plodiny		
PSČ: IČO:	Jetele (Čistelná)		
DIČ: Tel.	Vaječká (Lucerna síťá)		
e-mail:	Hrách setý, peluška, vikv		
	Bob		
	Fazole (Fazuľa)		
	Lupina (Vlčí bob)		
	Čočka (Soľovica)		
	Sója		
	Celkem		
	Cena Kč/ha do 24 ha		210,-
	Cena Kč/ha za 24 ha a více		195,-
	Dávování		
	1 balení (0,9 kg)		1 balení (1,8 kg)
	= 1 hektar		= 2 hektary

NITRAZON +N je v balení na 2 hektary, není možné jej dělit a objednávat po 1 ha. Uvedené ceny jsou bez DPH.

Při velkoodběrech ceny dohodou.

Vydal Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

2013