

Stanovení ekotoxických vlivů produktů získaných z bílkovinných odpadů na vyšší rostliny

Bc. Jana Brezinová

Diplomová práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Jana Brezinová
Osobní číslo:	T18353
Studijní program:	N2808 Chemie a technologie materiálů
Studijní obor:	Inženýrství ochrany životního prostředí
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Stanovení ekotoxických vlivů produktů získaných z bílkovinných odpadů na vyšší rostliny

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. U předložených vzorků proveďte tzv. zkoušku růstu.
3. Naměřená a vypočtená data statisticky zpracujte a dosažené výsledky kriticky zhodnotte.

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. Zákon č. 156/1998 Sb., 1998: zákon o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech).
2. MOKREJS, P., et al. Využití vedlejších kolagenních produktů z porážky drůbeže k přípravě želatin a hydrolyzátů. *Chemické listy*, 2019, 113.2: 121-125.
3. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Efficacy evaluation of plant protection products – Phytotoxicity assessment.
4. vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Markéta Julinová, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **3. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 3. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Během posledních let si keratinové odpady zpracované na bílkovinné hydrolyzáty získaly velkou popularitu pro jejich použití jako pomocných rostlinných přípravků. V této diplomové práci se zabývám účinkem keratinového a kolagenového hydrolyzátu na vyšší rostliny. Teoretická část práce je zaměřená na stručnou charakteristiku pomocných rostlinných přípravků jejich dělení do dvou základních skupin na regulátory růstu a biostimulanty. Poslední kapitola literární studie uvádí přehled doposud publikovaných prací studujících vliv různých typů hydrolyzátů na růst rostlin. Na základě literární studie byly zvoleny základní typy screeningových testů – test klíčivosti na Petriho miskách a inhibice růstu kořene. Z výsledků práce vyplývá, že testované proteinové hydrolyzáty připravené enzymatickou hydrolýzou mají prospěšný účinek na zvýšení rychlosti klíčení a růst kořenového systému rostlin za testovaných podmínek při aplikační koncentraci 300 mg/l na rostliny – řeřicha setá (*Lepidium sativum*), rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum L.*) a 400 mg/l na rostliny – paprika (*Capsicum annuum*), okurka nakladačka (*Cucumis sativus*). V testu inhibice růstu kořene výsledky ukázaly, že testované proteinové hydrolyzáty mají prospěšný účinek na růst kořenů ječmenu setého (*Hordeum vulgare*) za testovaných podmínek při aplikaci koncentrace 1500 mg/l ve fázi růstu – po vyklíčení semen.

Klíčová slova: regulátor růstu, hydrolyzát, biostimulant, ječmen setý, test růstu, testy klíčivosti

ABSTRACT

In recent years, keratin waste processed into protein hydrolysates has gained great popularity for use as plant auxiliaries. In this diploma thesis I deal with the effect of keratin and collagen hydrolyzate on higher plants. The theoretical part of the work is focused on a brief description of auxiliary plant preparations, their division into two basic groups into growth regulators and biostimulants. The last chapter of the literature study provides an overview of previously published works studying the effect of different types of hydrolysates on plant growth. Based on the literature study, the basic types of screening tests were selected -

germination test on Petri dishes and inhibition of root growth. The results show that the tested protein hydrolysates prepared by enzymatic hydrolysis have a beneficial effect on increasing the germination rate and growth of the plant root system under the tested conditions at an application concentration of 300 mg / l on plants - watercress (*Lepidium sativum*), stick tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and 400 mg / l for plants - pepper (*Capsicum annuum*), pickled cucumber (*Cucumis sativus*). In the root growth inhibition test, the results showed that the tested protein hydrolysates have a beneficial effect on the growth of *Hordeum vulgare* roots under the tested conditions at a concentration of 1500 mg / l in the growth phase - after seed germination.

Keywords: growth regulator, hydrolyzate, biostimulant, sown barley, growth test, germination tests

Poděkování zejména patří paní doc. Ing. Markétě Julinové, Ph. D., která mi pomohla svými cennými radami, připomínkami, vhodnými materiály a také svým odborným vedením. Dále bych také ráda poděkovala pánovi doc. Ing. P. Mokrejšovi, Ph.D., který poskytl vzorky testovaných hydrolyzátů. Poděkování také patří všem, kteří mě během celé doby studia podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 POMOCNÉ ROSTLINNÉ PŘÍPRAVKY.....	12
1.1 PŘÍRODNÍ ROSTLINNÉ REGULÁTORY RŮSTU.....	14
1.2 BIOSTIMULANTY	27
1.3 HLAVNÍ KATEGORIE ROSTLINNÝCH BIOSTIMULANTŮ	31
2 CHARAKTERIZACE BÍLKOVINOVÉHO HYDROLYZÁTŮ	37
2.1 VLIV HYDROLYZÁTŮ ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU NA ROSTLINY	41
3 SHRnutí LITERÁRNÍ REŠERŠE A CÍLE PRÁCE	45
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	46
4 METODIKA	47
4.4 TEST KLÍČIVOSTI NA PETRIHO MISKÁCH ROSTLIN ŘEŘICHY SETÉ (<i>LEPIDIUM SATIVUM</i>), OKURKY NAKLADAČKY (<i>CUCUMIS SATIVUS</i>), RAJČETE TYČKOVÉHO (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM L.</i>) A PAPRIKY (<i>CAPSICUM ANNUUM</i>).....	48
4.5 METODA MĚŘENÍ INHIBICE RŮSTU KOŘENŮ U JEČMENE SETÉHO (<i>HORDEUM VULGARE</i>)	55
5 DISKUZE VÝSLEDKŮ.....	62
5.1 TEST KLÍČIVOSTI NA PETRIHO MISKÁCH	62
5.1.1 Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>).....	62
5.1.2 Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum L.</i>).....	69
5.1.4 Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>).....	81
5.1.5 Porovnání výsledků testu klíčivosti pro různé rostliny	88
5.2 INHIBICE RŮSTU KOŘENE	91
ZÁVĚR	98
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	100
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	107
SEZNAM OBRÁZKŮ	109
SEZNAM TABULEK.....	111

ÚVOD

Už od počátků zemědělství se člověk snažil získat kontrolu nad růstem rostlin, které potřeboval k svému přežití. Jedním z negativních faktorů byly nepříznivé klimatické podmínky, kvůli kterým začal migrovat. V současnosti je hlavním důvodem oteplování podnebí a změny v globálních srážkách, hlavně sucho, které ovlivňují rostlinnou výrobu. Dnes se pěstitelé snaží kontrolovat jejich růst a chránit je vůči nepříznivým abiotickým podmínkám pomocí různých metod. Jednou z možností, jako kontrolovat růst, je používání regulátorů rostlinného růstu, které plní svoji úlohu při obraně proti stresům. K těmto účelům se v komerční sféře využívají především anorganické i organické látky syntetického původu.

Intenzivní chemické ošetření ovlivňuje nejen ekofyziologické vlastnosti rostlin, symbiózu s endofytickými mikroorganismy a mykorhizními houbami, ale také kvalitu půd a půdní ekosystém.

Použití ekologicky šetrných pomocných rostlinných přípravků může být řešením pro moderní rostlinnou výrobu, která vyžaduje rovnováhu vysoké a konzistentní produktivity s maximální bezpečností pro spotřebitele, pracovníka v zemědělství a životní prostředí. Většina dnes používaných komerčních pomocných rostlinných přípravků jsou složité směsi chemických látek. Jedná se většinou o směs biostimulantů a regulátorů růstu rostlin, pocházejících z biologických procesů anebo získaných extrakcí z biologických materiálů obvykle odpadního charakteru.

Evropská komise v roce 2015 navrhla nařízení, jehož cílem je podpořit používání ekologických hnojiv a hnojiv na bázi odpadů tak, aby se dostala na úroveň tradičních minerálních hnojiv, neboť v současné době je recyklováno pouze 5 % odpadních organických materiálů a následně použito jako hnojivo. Opětovné použití odpadních surovin ze živočišné výroby je jedním z hlavních opatření v oblasti oběhového hospodářství.

Cílem diplomové práce je tedy experimentální ověření vlivu bílkovinných hydrolyzátů živočišného původu na vyšší rostliny, na základě zhodnocení kvalitativních a kvantitativních parametrů růstu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POMOCNÉ ROSTLINNÉ PŘÍPRAVKY

Dnešní zemědělské postupy využívají především chemická hnojiva a pesticidy. Předpokládá se, že světová spotřeba hnojiv se zvyšuje o 2 % ročně. Při dlouhodobém používání jak syntetických hnojiv, tak i pesticidů ztrácí půda svoji účinnost, snižuje se obsah živin a dochází ke vzniku celé řady environmentálních problémů. [RENGASAMY, Kannan R. R. a kol., 2015]

Významnou skupinou těchto látek jsou dusíkatá hnojiva. Antropogenním vlivem se dusík dostává do zemědělských systémů hlavně prostřednictvím průmyslových minerálních hnojiv (NPK hnojiva). Jednou z nevýhod, je skutečnost, že aplikovaná dusíkatá hnojiva ztrácejí určité množství dusíku volatilizací NH_3 (ztráta dusíku z půdy zapříčiněná těkavým amoniakem uvolňujícím se z povrchu půdy) a proměnou na N-NO_x způsobuje primární emise N_2O , do ovzduší, v čem je zemědělství nezanedbatelným producentem. U syntetických hnojiv je uváděna ztráta dusíku do 10 % a u organických hnojiv (rostlinné zbytky, statková hnojiva aj.) dokonce až do 20 %. [ŠISKA, Bernard a kol.]

Další „nebezpečnou“ složkou syntetických hnojiv je fosfor, který je na jedné straně nezbytnou živinou pro růst organismů a rostlin a na druhé straně je indikátorem kvality povrchové vody. Jak je známo, jen asi 10–20 % fosforu obsaženého v běžných fosforečných hnojivech používaných na zemědělskou půdu je přijímáno rostlinami, zbytek je buď zafixovaný půdou dle reaktivity s půdními složkami, nebo vyplavován do podzemních a následně povrchových vod. Používání fosforečných hnojiv ve velké míře je nejen nákladné, ale vede také k množství závažných environmentálních problémů, jako je degradace půdy, eutrofizace vody a znečištění podzemních vod.

Řada odborných studií uvádí, že výše zmíněné nevýhody NPK hnojiv se dají do určité míry odstranit použitím systémů s pozvolným uvolňováním, rostliny tak získávají živiny (N-P-K) během celého vývoje a zároveň se sníží frekvence hnojení a tím i ekonomické náklady. [Shuangfeng Xu Xin Li a kol., 2018]. Nicméně základní environmentální problémy to neřeší.

Naopak jako perspektivní řešení se v posledních letech ukazuje použití ekologicky šetrných pomocných rostlinných přípravků. [RENGASAMY, Kannan R. R. a kol., 2015]

Zákon o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech) 156/1998

definuje pomocné rostlinné přípravky následovně: „*pomocným rostlinným přípravkem je látka bez účinného množství živin, která jinak příznivě ovlivňuje vývoj kulturních rostlin nebo kvalitu rostlinných produktů, s výjimkou přípravků na ochranu rostlin*“. [Zákon o hnojivech 159/1998]

Jak již bylo zmíněno v úvodu této práce komerční produkty, označené jako pomocné rostlinné přípravky, jsou obvykle směsí dvou základních typů látek tzv. regulátorů růstu a biostimulantů. Za regulátory růstu, jsou označovány takové látky, které ovlivňují zdravý vývoj celé rostliny či kterékoliv její části od vyklíčení až po dozrání semen. [Kutina, Josef, 1988]. Biostimulatem rostliny je jakákoli látka nebo mikroorganismus aplikovaný na rostliny s cílem zvýšit účinnost výživy, kvalitu plodin a abiotickou toleranci ke stresu, aniž by obsahovali živiny, půdní zlepšovače nebo pesticidy. [ARNAO, Marino B. a kol., 2019]

Regulátory růstu mohou být jak přírodního, tak syntetického charakteru a dělíme je na:

- *nefytohormonální povahy* (např. sodné soli nitrofenolů, deriváty kyseliny benzoové, huminové látky, hydrolyzáty bílkovin – aminokyseliny, extrakty z mořských řas aj.)
- *fytohormonální povahy* (auxiny, gibbereliny, cytokininy, kyselina abscisová, etylen, brassinosteroidy a jasmonáty) [URBAN, Jaroslav a kol., 2018]

Synteticky připravené deriváty fytohormonů, které se v přírodě nevyskytují, nejsou fytohormony, proto tyto sloučeniny vykazující fytohormonální aktivitu označujeme souhrnně jako regulátory růstu rostlin, zatímco pojmenování fytohormony přísluší pouze těm regulátorům růstu, které se vyskytují jako přirozené rostlinné látky. [URBAN, Jaroslav a kol., 2018]

Biostimulanty se:

obecně dělí do tří hlavních skupin na základě jejich zdroje a charakteru látek v nich obsažených na produkty obsahující:

- huminové látky (HS);
- hormony (HCP) jako jsou extrakty z mořských řas, které obsahují identifikovatelné množství aktivních látek pro růst rostlin, jako jsou auxiny, cytokininy nebo jejich deriváty;
- aminokyseliny. [DU JARDIN, Patrick, 2015]

1.1 Přírodní rostlinné regulátory růstu

Je již známo, že regulace růstu rostlin, vývoje a zmírnění negativních účinků environmentálních stresů během ontogeneze (vývoje rostliny) jsou důležitými faktory určujícími produktivitu pěstovaných rostlin. Taky víme, že biotický a abiotický stres brání podstatě všem úrodným systémům dosáhnout jejich výnosový potenciál. Abiotickému stresu lze předejít optimalizací podmínek růstu rostlin, poskytováním dostatečného množství vody, živin a v neposlední řadě přidávkou regulátorů růstu rostlin. [YAKHIN Oleg I a kol., 2017].

Rostlinné regulátory růstu (fytohormonální povahy) se používají na podporu anebo inhibici růstu rostlinného těla, jejich použití ve fázi klíčení v některých případech zlepšuje vývoj sazenic, zrychluje vzcházení a zvyšuje potenciál semen různých druhů. Chemické látky, které mají schopnost měnit metabolismus jiných buněk a orgánů, nejsou zdrojem energie ani stavební látkou, mají regulační funkci, zabezpečují celistvost rostlinného organismu během růstu a ontogenetického vývinu. Vznikají především v meristematických pletivech¹. Použití biologicky aktivních chemických sloučenin jako jsou regulátory růstu může zastavit anebo snížit vliv nepříznivých faktorů během procesu klíčení semen. Každý stimulator může mít v určitých případech i brzdící účinek a také každý z inhibitorů může sice brzdit jeden druh procesu, ale jiný proces jím může být povzbuzen, například stimulatory ve vyšších koncentracích mohou růst rostlin brzdit a inhibitory ve velmi nízkých koncentracích naopak

¹Meristém – dělivé pletivo je rostlinné pletivo tvořené buňkami s dělivou funkcí.

růst podporovat, je to antagonisticky vzájemný vztah mezi hormony. [LOPES, Higino Marcos a kol., 2008, UK, Přírodovědecká fakulta, 2016].

Dělení regulátorů růstu (plant growth regulator – PGR) a příklady zástupců (obr. 1):

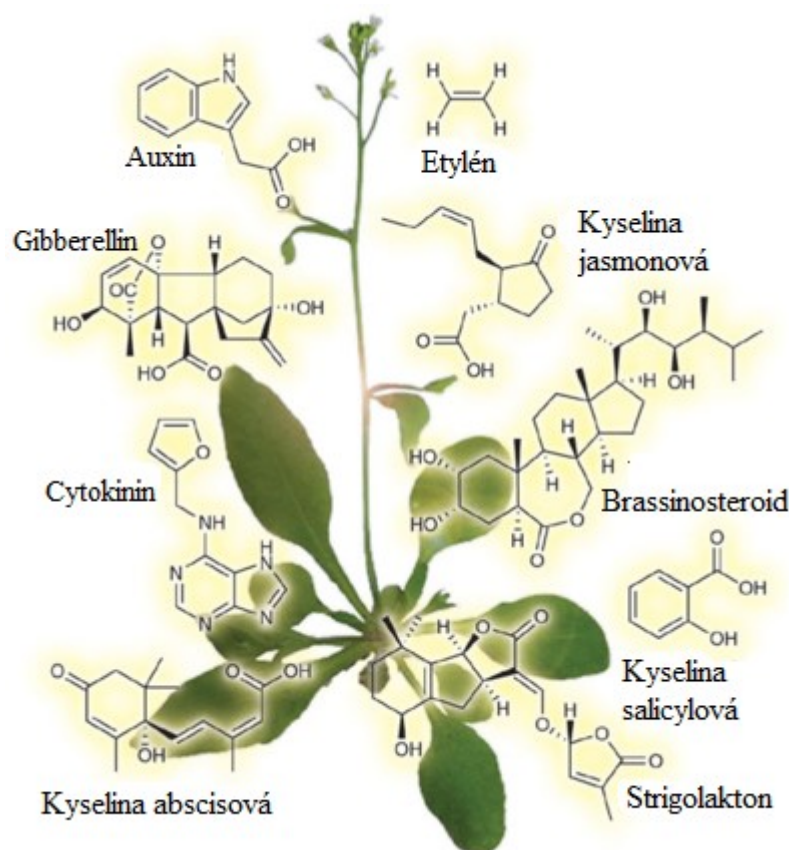
A) *inhibitory* – brzdí až zastavují růst rostlin

- nativní (přírozené) – kyselina abscisová (ABA), fenolické látky
- retardanty (syntetické) – chlormequat chloridu (CCC), 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) [UK, Přírodovědecká fakulta, 2016]

B) *stimulátory* – povzbuzují a urychlují růst

- endogenní (přírozené) – auxiny, gibereliny, cytokininy
- exogenní (syntetické) – auxinoidy, kinetin [UK, Přírodovědecká fakulta, 2016]

Nutno podotknout, že regulátory růstu rostlin stimulují mimo jiné biosyntézu terpenoidů v různých aromatických rostlinách. Přičemž biosyntéza terpenoidů je závislá od primárního metabolismu (fotosyntéza) a oxidační cesty pro dodávku uhlíku a energie, což může vést k prospěšným změnám v kvalitě a objemu terpenoidů. [AFTAB, Tariqa kol., 2010]



Obrázek 1 Přehled základních rostlinných regulátorů růstu z kategorie fytohormonů [PATHWAYZ, 2020]

A) Inhibitory růstu rostlin

Inhibitory růstu jsou obvykle syntetické sloučeniny používané ke snížení délky rostlin, kterého je dosaženo především snížením prodloužení buněk, ale také snížením dělení buněk. Svým účinkem na morfologickou strukturu rostlin jsou inhibitory opakem stimulantů jako jsou gibberelliny a auxiny, rostlinné hormony primárně zodpovědné za prodlužování výhonků. První synteticky připravený inhibitor růstu chlorocholin chlorid (CCC) se použil u pšenice za účelem snížení výšky a ke zvýšení průměru stopky. Vedle k tomu skutečnost, že odrůdy obilovin pěstované v minulých letech byly převážně dlouhostébelné (náchylné k poléhavosti), proto se výzkum zaměřil na snížení délky stébel použitím právě CCC. V 80. letech minulého století byl široce testován inhibitor růstu ethefon. Jeho vliv na rostliny byl srovnatelný s CCC. Nicméně výzkumný ústav rostlinné výroby upozorňuje ve své dlouholeté studii Spitzera a Bílovkého publikované v roce 2017 na rizika spojená s aplikací ethefonu (576 g a.i./ha) za účelem snižování délky rostlin máku. Účinky na rostlinu máku

a její výnos byly studovány v terénních experimentech. Autoři studie zaznamenali statisticky významné snížení délky rostliny, které zabránilo poléhání máku, avšak zároveň se snížila výtěžnost, což je z hlediska produkce nežádoucí [Spitzer T., Bílovský J., 2017]

V současné době jsou k dispozici nové látky, které mohou být označeny jako inhibitory růstu 2. generace (zejména triazoly) a 3. generace (acylcyklohexandion), které jsou nyní používány pro aplikace nejen v zemědělských, ale i zahradnických plodinách ke snížení vegetativního růstu a případné stabilitě výnosu a kvality produkce. Řada dalších sloučenin s účinky regulace růstu je čím dál více používána u obilovin a olejnin. [Spitzer T., Bílovský J., 2017]

Jedním z nejvýznamnějších inhibitorů růstu rostlin je **kyselina abscisová** zkráceně zvaná také ABA, která všeobecně inhibuje růst, resp. klíčení. Vyvolává apikální dormanci (podřízení postranních pupenů hlavnímu) pupenů a semen, čímž zabraňuje klíčení. To brání klíčení semen v teplejších zimních dnech a zajišťuje, že klíčí jenom tehdy, když je teplota dlouhodobě vyšší. Zároveň ABA zpomaluje růst v zralých částech rostliny a uzavírá stomatu (malé póry na spodní straně listů) v reakci na nedostatek vody. [PATHWAYZ, 2020]

B) Stimulanty růstu

Auxiny

Auxin je nejdéle známým rostlinným hormonem, důležitým pro mnoho aspektů vývoje a růstu rostlin na embryonální i postembryonální úrovni. Nejdůležitější zástupce ze skupiny auxinů představuje kyselina indolyl-3octová (IAA), která byla dlouhou dobu jediným známým přirozeně se vyskytujícím auxinem v rostlinách. Až později zavedením nových citlivějších analytických metod byly v rostlinách zjištěny i další endogenní auxiny jako je kyselina indolyl-3maslová, kyselina fenylactová a kyselina 4chlór-indolyl-3octová. [MEDVEĎOVÁ Z., 2016]

Tyto hormony jsou produkovány v apikálním meristému výhonku, stimulují růst a prodloužení buněk. Všeobecně jsou auxiny pozitivním regulátorem růstu. Stimulují vývoj tkániva a inhibují růst vrcholových pupenů, čímž zajišťují, že u rostliny dochází k aktivaci a růstu postranních pupenů a k větvení (apikální dominance). Velmi nízké koncentrace

auxinu, které běžně kořeny obsahují, podporují růst a kořenové větvení. Vyšší dávky však inhibují růst a expanzi kořenových buněk, čím dochází k jejich prodloužení, tedy ve vysokých koncentracích jsou používány jako herbicidy na ničení plevelu. [PATHWAYZ, 2020]. Krom řízení mnohých aspektů normálního vývoje rostlin má IAA také úlohu v několika interakcích mezi rostlinami a mikroorganismy. [KUNKEL, Barbara N a kol., 2018]

Na druhou stranu nedávno publikovaná studie Barbary N Kunkel a kol. (2018) uvádí, že zvýšená hladina IAA anebo zvýšená signalizace auxinu může podporovat vývoj chorob v důsledku některých interakcí mezi rostlinou a patogenem. Navzdory skutečnosti, že rostliny jsou vystavené mnohým mikroorganismům je výskyt chorob poměrně nízký, kvůli tomu, že rostliny jsou schopné detekovat potencionální patogeny a indukovat obranné systémy. Rostlinné patogeny na druhé straně vyvinuly různé strategie na potlačení obranyschopnosti hostitele, což jim umožňuje kolonizovat všechny rostlinná tkániva. Hormony důležité pro rostlinnou obranu jako kyselina salicylová (SA), jazmonáty a etylén hrají důležitou úlohu při regulaci obrany proti mikroorganismům. [KUNKEL, Barbara N a kol., 2018]

Jako příklad lze uvést obranné mechanismy ječmene. Signálními nebo regulačními molekulami obranných mechanismů ječmene jsou kyselina salicylová, jasmínová a methyljasmonát jejichž biosyntéza se zvýší je-li rostlina vystavená stresorům. Výše uvedené kyseliny spustí signální kaskádu, která pozitivně reguluje transkripci genů stresové odpovědi, výsledkem je etapa změn ve strukturách molekul, které účinně reagují na přítomnost patogenů. Jedním z faktorů stresů se zaměřením na ječmen je infekce houbovým patogenem *Fusarium*, který snižuje výnos ječmene a jeho kvalitu, také může ovlivnit lidské zdraví v důsledku produkce mykotoxinů např. deoxynivalenol. Řada patogenů si však vyvinula koncepci, jak tyto složky obrany rostlin využít ve svůj prospěch a snáze kolonizovat hostitele. [Linda Salačová a kol., 2015]

Rovněž bylo v nedávném zkoumání zjištěno, že zvýšená hladina auxinu a zvýšená signalizace v hostitelské tkáni podporuje patogenezí *P. syringae*, *Puccinia graminis* a *X. campestris* a *Ralstonia solanacearum*. Mnoho bakteriálních rostlinných patogenů syntetizuje rostlinné hormony včetně etylénu a auxinu. Ve většině případů schopnost patogenních kmenů syntetizovat tyto molekuly způsobuje jejich virulenci (schopnost mikroorganismu vniknout do těla a způsobit chorobu). To znamená, že auxin syntetizovaný

patogenem je faktorem virulence v důsledku potlačení obranyschopnosti rostliny zprostředkované SA. Není to však podmínkou. [KUNKEL, Barbara N a kol., 2018]

Cytokininy

Cytokininy jsou jedním z pěti skupin rostlinných hormonů (fytohormonů), jejich charakteristickou vlastností je schopnost přispívat k dělení buněk a stimulovat metabolismus rostlin, především syntézu RNA a proteinů. Dále podporují tvorbu výhonků, senescenci listů, mobilizaci živin, formování a aktivitu výhonkového apikálního meristému, vývin pupenů a rozvoj květů, diferenciaci chloroplastů. Inhibují růst vrcholových pupenů, čímž zajišťují, že u rostliny dochází k aktivaci a růstu postranních pupenů a k větvení. Nejvýznamnější využití cytokininů v rostlinných biotechnologiích je přidavek do kultivačních médií při množení zemědělských okrasných rostlin a dále při regeneraci rostlin *in vitro*. Cytokininy se rovněž používají ke stimulaci větvení okrasných rostlin a ve spojení s gibereliny ke tvarování plodů některých odrůd jablek. Ektogenní aplikace cytokininů u obilovin ve fázi kvetení způsobí větší počet zrn v klasech. Cytokininy jsou sloučeniny purinového charakteru odvozené od adeninu, mezi ty nejznámější patří zeatin, kinetin a aminopurín. [HUSKOVA Renata a kol., 2000]

V současné době získávají syntetické deriváty s cytokininovým účinkem hlavní podíl na globálním trhu regulátorů růstu rostlin díky schopnosti oddálit stárnutí listů. [KHADILKAR Nikhil, 2020] Jako příklad aplikace látek s cytokininovým účinkem lze uvést práci Radoslava Koprnu a kol. (2017). Autoři ve své studii posuzovali výnosové a ekonomické výhody komerčních stimulantů v kombinaci se stimulantem – syntetickým derivátem močoviny s cytokininovým účinkem označeným jako RR-H u pěstování řepky olejky ozimé ve sklizňových letech 2016 a 2017. Pokusy probíhaly na třech lokalitách, osivo bylo namořeno látkou TS Osivo (obsahující aminokyseliny a huminové látky na podporu klíčivosti) v dávce 2,5 l/t. Dále byl testován stimulant TS Impuls (podporující růst mladých rostlin, kořenů, regenerace pletiva) a aplikován postřikem ve fázi BBCH² 16-17 (6–7 pravých listů) v dávce 0,5l /ha. Na jedné z lokalit byl testován vliv přípravku s cytokininovým účinkem (RR-H) v kombinaci s přípravkem TS Impuls. Cílem bylo ověření spolupůsobícího stimulačního účinku této látky s již registrovaným přípravkem TS Impuls.

² Stupnice BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) označuje mezinárodně používanou stupnici vývojových a růstových stádií rostlin (fenologických fází, fenofází).

Přidáním růstového regulátoru k TS Impuls, došlo k nárůstu výnosu řepky o 13,36 %, oproti 6,80 % u samotného stimulatoru bez látky RR-H. Ve vývoji další generace stimulačních přípravků můžeme na trhu očekávat i tuto kombinaci s cytokininovým derivátem na bázi močoviny. [KOPRNA, Radoslav a kol., 2017]

Etylén

Navzdory své jednoduché struktuře je olefin etylén účinným regulátorem růstu a vývoje rostlin. Zúčastňuje se různých stresových reakcí a vývojových procesů, včetně klíčení semen, modelace kořenů, stárnutí květů a zrání ovoce. [WANG, Kevin L. a kol., 2002]. Etylen inhibuje odnožování, regeneraci rostlinných odřezků a větvení stonků, inhibuje transport auxinu a formování adventivních kořenů na listech, stonkách, pozitivně reguluje rozvětvení kořenových vlásečnic. [UK, Přírodovědecká fakulta, 2016]. Tvorba etylénu je striktně regulovaná vnitřními signály během vývoje a v reakci na environmentální stresy, jako jsou například poranění, hypoxie, ozón, chlad anebo mráz. Rostliny vnímají tento plyn za pomoci soustavy proteinů, které se podobají prokaryotickým i eukaryotickým signalizačním proteinům. Jeho metabolickým prekurzorem je kyselina 1-aminocyklopropán-1karboxylovoá. [WANG, Kevin L. a kol., 2002]

Gibberelíny (GA)

Jedná se o sloučeniny terpenoidů, které se tvoří v nejmladších listech, zůstávají v organizmu dlouhou dobu, protože přecházejí do inaktivní formy apexu (vrcholku) výhonku, v kořenech a v semenech. Nejznámější je kyselina gibberelová (GA3) patřící do skupiny fytohormonů, která vykazuje v rostlinách široké spektrum fyziologických účinků. Stimuluje buňkové dělení a prodlužovací růst, dělení buněk, stimulují vývin plodů bez oplodnění (partenokarpie), tvorbu květů a narušují dormanci pupenů a semen. GA také zvyšuje metabolickou aktivitu spojenou se stresem a sekundární metabolity spojené s obranou. [AFTAB, Tariqa kol., 2010] Použití gibberelinu ve fázi klíčení může zlepšit vitalitu a klíčení semen různých druhů, zejména v nepříznivých podmínkách. [LOPES, Higinio Marcos a kol., 2008]

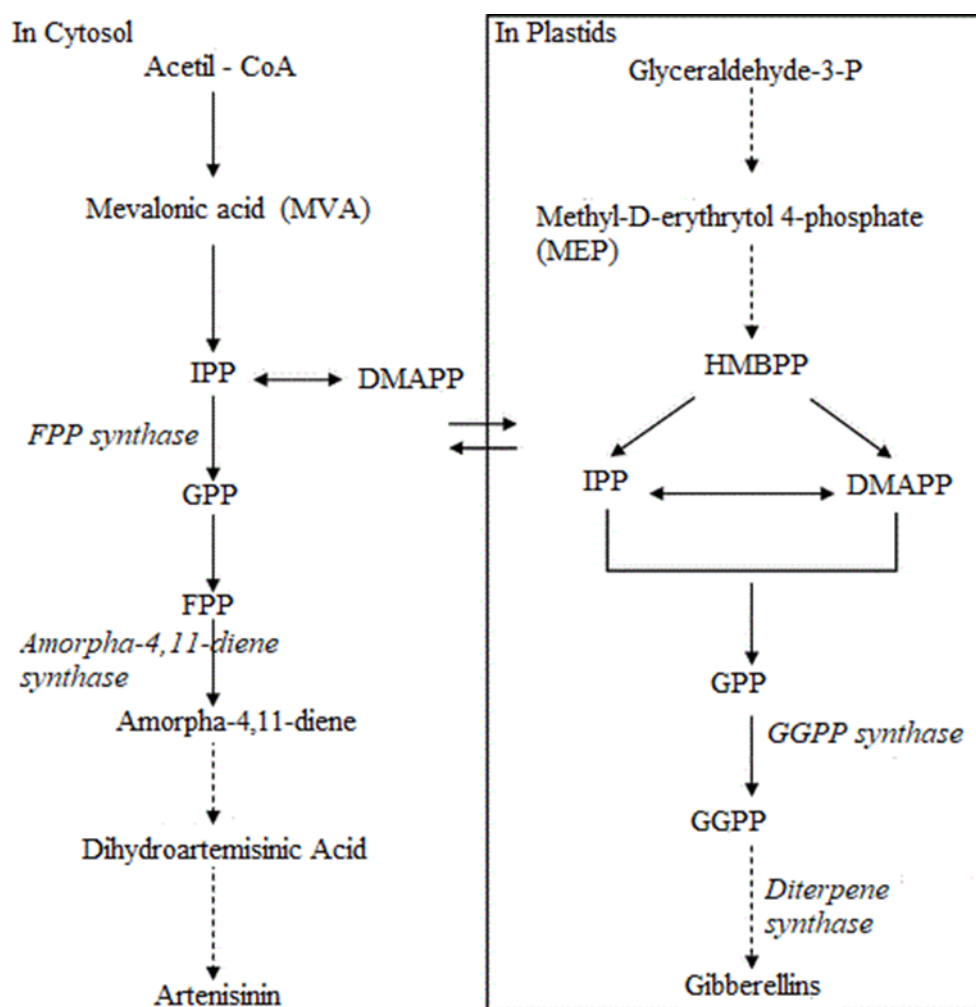
Nejčastěji se GA používá proto, že ve všeobecnosti vytváří stimul pro růst stonku a dá se použít na zvýšení produktivity, přičemž byl pozorován také prospěšný účinek pro růst trávy, zeleniny a okrasných plodin. Intenzita procesu kvetení a dopad na kvalitu plodiny se liší v závislosti od odrůdy a podnebí. Naopak k dosažení raného zrání se používá etofón (kyselina 2chlóretylfosfónová). Tento chemický výrobek zabraňuje například kvetení cukrové třtiny a zvyšuje její růst. Schopnost zabránit kvetení je velmi důležitá v pěstování tohoto typu zemědělských plodin, zejména když kvetení snižuje obsah sacharózy a v souvislosti s tím ekonomický přínos. [MARTINS, Maria Bernadete Gonçalves a kol, 1999]

Maria Bernadete Gonçalves a kol. [MARTINS, Maria Bernadete Gonçalves a kol, 1999] uvedla ve své studii výsledky účinku GA na anatomii rostlin. Ve své práci uvádí, že tyto regulátory rostlin používané při pěstování cukrové třtiny ovlivňují anatomické vlastnosti mladé rostliny. Ukázalo se, že giberelin, používaný na zvýšení vývoje a produktivity v teplotně nepříznivých podmínkách podporuje meristematickou aktivitu, tedy růst rostlinného těla. [MARTINS, Maria Bernadete Gonçalves a kol, 1999]

Velmi zajímavá studie AftabaTariqa a kolektivu o aplikaci stimulantů růstu na antimalarické rostliny *Artemisiaannua* L, popisuje významné zvýšení atributů jako jsou výhonky, délka kořenů a biosyntéza artemisinínu (viz. obrázek č. 2). Rostliny byly ošetřené stimulantem růstu triakontanolem s kombinací kyselinou giberelovou, která podporuje rozšiřování buněk a dělení buněk, zatím co triakontanol vyvolává sekundárního posla, který se rychle pohybuje v celé rostlině, co vede k stimulaci růstu (zvýšení suché hmotnosti) a absorpci vody. Na závěr své práce Aftaba a kol. konstatují, že výše uvedený kombinovaný postřik na listy ($1,5 \text{ mg l}^{-1}$ triakontanolu + 75 mg l^{-1} kyseliny giberelové) byl vysoce efektivní na produkci biomasy a obsah artemisinínu, zároveň zlepšil celkový výnos plodiny. Ukázalo se, že je velice důležitý pro zvýšení fotosyntézy, produktivity plodin, aktivity dusičnan reduktázy, aktivita karboanhydrázy, obsahu artemisinínu a výtěžek *Artemisiaannua* L. [AFTAB, Tariqa kol., 2010]

Biosyntetická dráha giberelinu a artemisinínu (obr.2) je regulovaná světelným režimem a teplotou, přerušované šipky představují více než jeden krok syntézy. Izopentenyl difosfát (IPP) a jeho allylický izomér dimetylallyl difosfát (DMAPP), jsou dva stavební prvky pro izoprenoidy v rostlinách. Cytosolická dráha je podnícena acetylkoenzymem A, kde se tvoří

kyselina mevalonová (MVA), která se mění na IPP a DMAPP a dále se kombinují a prodlužují na seskviterpeny a triterpeny, jelikož dráha plastidu, jako je MEP, poskytuje prekurzory pro biosyntézu gibberelínů a dalších terpenů. Tato subcelulární kompartmentace umožňuje, aby pochody probíhaly současně, ale nezávisle od sebe. Avšak jsou případy, kdy se podílejí při biosyntéze určitých metabolitů společně. [AFTAB, Tariqa kol., 2010]



Obrázek 2: Biosyntetická dráha giberelinu a artemisininu. DMAPP, dimethylallylpyrofosfát; FPP, farnezylypyrofosfát; GGPP, geranyl geranylpyrofosfát; GPP, geranylpyrofosfát; HMBPP, 1-hydroxy-2metyl- (E) -butenyl-4difosfát; IPP, izopentenylpyrofosfát; MEP, metyl-D-erythrytol-4fosfát; MVA, kyselina mevalonová.

[AFTAB, Tariqa kol., 2010]

Strigolaktony

Strigolaktony (SL) jsou sloučeniny, které pocházejí z karotenoidů a je známe, že spouštějí klíčení semen parazitických rostlin rodů *Orobanch* či *Striga*. Prvním identifikovaným přírodním strigolaktómem byl strigol, který byl izolován jako stimulátor klíčivosti semen parazitických rostlin *Striga lutea*, *Orobanch* a *Phelipanchespp.* a *Alectra.spp.* Vnímaví hostitele pro *Striga spp.* jsou semenné plodiny, jako je kukuřice, rýže, proso a širok dvoubarevný (*Sorghumbi color*), díky čemu jsou tyto parazitické rostliny vážným zemědělským škůdcem, hlavně v subsaharské Africe, kde představují biotickou příčinu ztráty plodin. [MARCELA DVOŘÁKOVÁ a kol.,2015]. Vyklíčená semena jsou pak schopná navázat se na kořeny hostitelské rostliny, přičemž vzniká speciální orgán, haustorium³, který vytvoří propojení s vaskulárním systémem rostliny. Napojení vyklíčených semen na hostitelskou rostlinu musí proběhnout v řádu několika dnů, jinak vyklíčené semeno zahyne, čehož lze využít pro regulaci jejich výskytu. Za pomoci stimulatorů klíčení strigolaktónů se nechají semena parazitické rostliny v půdě vyklíčit bez přítomnosti hostitelské rostliny. Až pak se do takto ošetřené půdy vysadí průmyslové plodiny. Strigolaktony mohou indukovat klíčení parazitických rostlin již při extrémně nízkých koncentracích a pouze na základě signálu vyvolaného stimulatory klíčení přítomnými v půdě. [MARCELA DVOŘÁKOVÁ a kol.,2015]

Avšak strigolaktony mají nejen negativní účinky na hostitelské rostliny, jejich důležitý úkol jako je chemický signál pro kolonizaci kořenů symbiotickými arbuskulárními mykorhizními houbami (AMF) byl prokázán a SL se stali uznávanými jako prospěšné rostlinné metabolity. Na základě signálu se na hyfě vytvoří přísavky, kde se hyfy soustředí na hustě větvené struktury zvané arbuskuly zajišťující transport živin. Zlepšuje příjem živin, zvyšuje schopnost rostlinám růst a vyvíjet se jako i odolávat stresům a patogenům. Přibližně 80 % suchozemských rostlin se podílí na symbióze s AMF a mněli zásadní roli v kolonizaci Země rostlinami. [RUYTER-SPIRA a kol., 2013, MARCELA DVOŘÁKOVÁ a kol.,2015].

Krom těchto funkcí v rhizosféře se nedávno ukázalo, že SL anebo jejich metabolity jsou novou třídou rostlinných fytohormonů, které inhibují větvení výhonků, ovlivňují vývoj kořenů a dalších částí rostliny, společně působí také s dalšími rostlinnými hormony jako jsou auxiny, gibbereliny nebo kyselina abscisová, na organizaci transportu auxinů, dělení buněk,

³ Haustorium , savý orgán parazitické rostliny, kterým vrůstá do vodivého pletiva hostitelské rostliny a čerpá z ní živiny. Jedná se o metamorfózy kořene (příchytné kořeny, stahovací kořeny) u parazitických rostlin.

či rozdělení živin. Dále se předpokládá, že SL mají další biologické funkce v komunikaci s rhizosférou a v růstu a vývoji rostlin. [RUYTER-SPIRA a kol., 2013].

Přírodní strigolaktony jsou velmi složité molekuly a jejich syntéza je tedy náročná a drahá. Byla vyvinuta syntetická látka dokonale podobná přírodnímu strigolaktonu a používá se v pokusech zejména tam, kde se přirozené látky vyskytují v malých množstvích a jejich získání v čisté formě je obtížné. Strigolakton se přirozeně vyskytuje ve výměšcích z kořenů odkud jsou částečně uvolňovány do rhizosféry. Jeho působení závisí na koncentraci, v rostlinách putuje lodyhou (nedřevnatý stonek bylin) z kořenů nahoru, tam brzdí růst pupenů, a je tedy chemickým signálem působícím v rostlině na větší vzdálenost. Otázkou zůstává, jak může stejná látka podporovat růst hub a potlačovat růst i větvení rostlin. Stále jen částečně chápeme, jak se strigolaktony biosyntetizují, distribuují se v celé rostlině a vylučují se do půd. Vezmeme-li v úvahu dvě první informace o hormonální funkci strigolaktonu a spoustou již publikovaných prací o jiných fytohormonech, nabízí se otázka, zda můžeme strigolakton spolehlivě zařadit mezi fytohormony? [GOMEZ-ROLDAN a kol., 2008]

Brassinosteroidy

Brassinosteroidy (BR) jsou skupinou stimulačních sloučenin, které se přirozeně vyskytují v rostlinách a mají širokou biologickou aktivitu s možností zvýšení úrody plodin prostřednictvím změny metabolismu rostlin a ochrany rostlin před stresem v životním prostředí. Patří do třídy rostlinných polyhydroxysteroidů. Počátkem 60. letch bylo pečlivě zdokumentováno, že BR mohou indukovat široké spektrum biologických odpovědí, jako je prodloužení stonku, inhibice kořenů a diferenciace xylému. Bylo prokázáno, že nedostatek BR vede k trpasličímu fenotypu. Tyto zásadní úlohy BR v rozvoji rostlin zařadila BR mezi fytohormony. Další pozoruhodnou vlastností BR je jejich potenciál zvyšovat odolnost rostlin vůči širokému spektru stresů, jako jsou nízké a vysoké teploty, sucho a vysoká salinita. Nedávná studie Krishna a kol. byla zaměřená na pochopení toho, jak BR regulují stresové reakce. Schopnost BR zvyšovat odolnost rostlin vůči environmentálním stresům se zkoumala v laboratorních, skleníkových a polních podmínkách. Výsledky práce naznačují, že BR indukovali stresovou toleranci v rostlinách v důsledku komplexních molekulárních změn. BR vyvolali velký zájem na použití v zemědělství, ale při jejich aplikaci u experimentů realizovaných v polních podmínkách nebylo dosaženo uspokojivé

reprodukovatelnosti. Stejně jako při vývoji rostlin se vyžaduje definitivní genetický a biochemický důkaz schopnosti BR modulovat reakce stresu rostlin předtím, než se BR mohou použít v komerčním zemědělství. [KRISHNA, Priti, 2003]

Ve většině publikacích a knihách autorů Clouse a Sasse 1998, Mandava 1998 a Kamuro a Takatsuto 1999 uvedli výsledky studií, kde byly ošetřené rostliny BR a neošetřené rostliny vystavené stresovým podmínkám a následně sledovali také aspekty růstu rostlin, jako je vegetativní a reprodukční růst, klíčení, zakořenění a zeleň listů. Sazenice kukuřice jsou vysoko citlivé na teplotní stres během klíčení, ošetřením BR se podpořilo obnovení růstu kukuřičných sazenic a odolnost kukuřičných listů vůči vnějším vlivům. Podobné výsledky testů byly u sazenic okurek klíčících ze semen namočených v roztoku BR během inhibice mnohdy vyšší růst v porovnání s kontrolním vzorkem v chladných podmínkách (5 ° C během 3 dní). Růstové podpůrné účinky BR u rostlin rýže byly zřejmé při nízkoteplotních podmínkách, ale ne za optimálních pěstitelských podmínek. Opačný případ je studie Kulaeva a kol., 1991 kde uvádí účinky vysokoteplotního stresu v listech pšenice ošetřené BR a neošetřené pšenice na úrovni celkové syntézy proteinů a ultrastruktury listových buněk. Během tepelného stresu v rostlinách se malé proteiny tepelného šoku shlukují za vzniku uspořádaných cytoplazmatických komplexů označovaných jako granuly tepelného šoku (HSG). To znamená, že při tepelném stresu se v listech produkují obranné granuly HSG na obranu proti stresu a studie prokázala, že při ošetření BR bylo HSG ve shlucích mnohem více. Stejně tak byly prokázány příznivé účinky BR na stres způsobený vysokým obsahem solí u ječmenných listů a stres na sucho u cukrové řepy, kde po přidavku roztoku BR se inhibiční účinek soli značně snížil a také úplně kompenzovalo snížení biomasy cukrové řepy způsobené suchem. Nutno je také zmínit studii Khripach a kol., 2000 která uvádí, že BR se uplatnili z hlediska jejich ochranných účinků jako standardní fungicidy. Výsledky minulých i nedávných studií naznačují, že BR mají schopnost dát rostlinám toleranci vůči širokému spektru biotických a abiotických stresů, ale mechanismy, za pomoci, kterých BR indukují toleranci vůči stresu, zůstávají do značné míry neprobádané. [KRISHNA, Priti, 2003]

Oligoaglináty

Polysacharidy mořských řas, a hlavně jejich odvozené oligosacharidy, stimulují růst suchozemských rostlin a stromů zvýšením asimilace uhlíku a dusíku, bazálního metabolismu a buňkového dělení, jako i úroveň éterického oleje nebo fenylypropanoidních sloučenin s antimikrobiálními vlastnostmi, které mohou určovat zvýšení ochrany proti patogenům. [GONZÁLEZ, Alberto a kol., 2013]

Je zřejmé, že rostlinné oligosacharidy mohou aktivovat anebo inhibovat růst a vývoj rostlin. Oligoalgináty získané depolymerizací alginátů z hnědých mořských řas zvyšují růst různých rostlin zvýšením asimilaci dusíku a bazálního metabolismu. [GONZÁLEZ, Alberto a kol., 2013]

Polysacharidy, jako je alginát sodný, se používají v depolymerizované formě jako účinné promotory růstu rostlin. Aplikace alginátových oligosacharidů, získaných z alginátu sodného, významně zvyšuje určité fyziologické / biochemické parametry, jako i celkový růst např. v práci Khana a kol. bylo prokázáno, že aplikací fyzikálně upraveného alginátu sodného (gama záření - 520 kGy) v koncentracích 120 ppm došlo ke zvýšení obsahu opiátů v semenech máku setého. Rostliny máku setého měly délku výhonů o 37 % a kořenů o 63,5 % vyšší než u kontrolních rostlin (bez aplikace). Významný byl také nárůst biomasy čerstvé a suché hmotnosti rostliny. Na konci experimentu bylo dosaženo o 59,8 % a 47,6 % vyšších hodnot. [KHAN, Zeba H. a kol., 2011]

Melatonin (rostlinný)

Jedním z dalších produktů získaných z rostlin z kategorie regulátorů růstu je melatonin, který se extrahuje z rostlinného tkaniva ošetřeného kapalným dusíkem s použitím organických rozpouštědel, jako je metanol, chloroform anebo ethylacetát. V rostlinách má melatonin důležitou regulační a ochrannou funkci v souvislosti s abiotickým stresem (chlad, teplo, sucho, zamokření, salinita, zásaditost, kyselá dešť, chemická kontaminace těžkými kovy UV zářením) a biotickým stresem (baktérie, houby, virus). Publikována byla řada studií o antistresových účincích melatoninu. [ARNAO, Marino B. a kol., 2019]

Například práce Afreena a kol. z roku 2006, sumarizuje poznatky o syntéze melatoninu a reakci na vývoj rostliny lékořice uralské (*Glycyrrhiza uralensis*) za působení různé intenzity spektrálního světla (stresový faktor), včetně červeného, modrého a bílého světla (kontrola) a UV-B záření (280–315 nm). Melatonin byl extrahován a kvantifikován z tkání semen, kořenů a listů zkoumané rostliny. Koncentrace melatoninu naměřená v kořenových tkáních byla nejvyšší v rostlinách vystavených UV záření o vysoké intenzitě po dobu 3 dnů, poté následovalo záření o nízké intenzitě po dobu 15 dnů. Pokles melatoninu za delší dobu exponování UV-B naznačuje, že syntéza melatoninu může souviset s intenzitou a dobou trvání záření UV-B. Melatonin v lékořici uralské (*Glycyrrhiza uralensis*) má pravděpodobně ochrannou funkci před oxidačním poškozením způsobeným UV zářením. [AFREEN, F. a kol. 2006]

1.2 Biostimulanty

Definovat biologický základ biostimulátorů jako třídu sloučenin je složité, protože jsou získávané z různých zdrojů přítomných na trhu, mezi které patří bakterie, houby, mořské řasy, vyšší rostliny, zvířata a humátové suroviny a s tím související velká rozmanitost průmyslových procesů používaných při jejich přípravě. Nutno říci, že biostimulant není hnojivo, liší se od nich způsobem účinku a to tak, že dokáže přímo stimulovat metabolismus rostlin. Yakhin a kol. definují biostimulant jako produkt biologického původu, který zlepšuje produktivitu rostlin v důsledku nových anebo vznikajících vlastností komplexu složek, a ne jako jediný důsledek přítomnosti známých základních rostlinných živin, regulátorů růstu rostlin anebo sloučenin na ochranu rostlin. [YAKHIN Oleg I a kol., 2017] Biostimulanty se liší od tradičních regulátorů růstů tím, že působí na rostliny různými mechanismy bez ohledu na přítomnost živin v produktech, biostimulace plodin tak doplňuje výživu a ochranu plodin. [VERPLANCKEN Barbora, 2011]. Nemají přímé účinky proti škůdcům anebo chorobám, a tudíž je nelze zařadit do skupiny přípravků na ochranu rostlin, protože působí jenom na jejich vitalitu.

Účinky biostimulantů:

- zlepšují účinnost metabolismu rostlin důsledkem kterého je zvýšení úrody a zvýšení kvality plodin;
- zvyšování tolerance rostlin a zotavování se z abiotických stresů;
- ulehčení asimilace, translokace a použití živin;
- zvyšování kvalitativních znaků produktu včetně obsahu cukru, barvy, sadby ovoce atd.;
- regulace a zkvalitnění bilance vody v rostlinách;
- zlepšení určitých fyzikálně-chemických vlastností půdy a podpora rozvoje půdních mikroorganismů. [VERPLANCKEN Barbora, 2011]

Počátek vývoje biostimulačních produktů je spojený s pozorováním rostlin a jejich ekosystému a následným důsledným výzkumem s cílem objevit nové bioaktivní sloučeniny, identifikovat prospěšné mikroorganismy a pochopit, jak kooperace umožní silnější účinky stejně, jako kterákoliv samostatná látka anebo samostatně pracující mikroorganismus. Mnohé složky biostimulačních produktů jsou v přírodě běžné, příkladem jsou aminokyseliny, půdní mikroorganismy a chitin, druhý nejrozšířenější přírodní polymer po celulóze.

Vědci a komerční podniky věnovali rostlinným biostimulantům na bázi přírodních materiálů značnou pozornost, hlavně v posledních 25 letech. [YAKHIN Oleg I a kol., 2017]. Inovativní ekologické technologie související s jejich produkcí tvoří v 21. století podstatu. [VERPLANCKEN Barbora, 2011] Podstatou řady novodobých technologií je využití odpadních surovin, neboť spousta surovin určených na výrobu biostimulantů by se jinak považovalo za odpad. Proměna těchto produktů na biostimulanty snižuje a někdy dokonce vylučuje potřebu zneškodňovat velké množství odpadů především z živočišného průmyslu. [VERPLANCKEN Barbora, 2011]

Tyto výrobky na bázi odpadních surovin jsou schopné zlepšit účinnost rostliny při využívání živin a zvýšit její toleranci vůči biotickým a abiotickým stresům. Bulgari R a kol. ve své práci shrnuje současný stav a budoucí možnosti širšího využití biostimulantů v praxi.

Krom toho, dílčí část práce věnoval intenzivním zemědělským systémům specializujícím se na, produkci květin. Při pěstování zeleniny umožnilo použití biostimulantů redukcí syntetických hnojiv při zachování stejného výnosu a kvality. U listové zeleniny, která je náchylná na akumulaci dusičnanů, došlo při aplikaci biostimulantů ke zvýšení kvality produktu s obsahem dusičnanů pod limitními hodnotami stanovenými nařízením EÚ. Působením biostimulantů došlo ke zvýšení obsahu listového pigmentu (chlorofyl a karotenoidy), a růstu rostlin stimulací růstu kořenů a zvýšením antioxidačního potenciálu rostlin. [BULGARI, R. a kol., 2014]

Na výrobu biostimulantů se hojně používají také mikroorganismy, které mohou pocházet z bakterií, kvasinek a hub. Tyto přípravky mohou obsahovat živé nebo neživé mikroorganismy a jejich metabolity. [YAKHIN Oleg I a kol., 2017]

Biocontrol-PGPB (baktérie podporující růst rostlin) a PGP jsou prospěšné mikroorganismy, nahrazují v zemědělství používání syntetických chemických látek, jsou schopné zlepšovat růst rostlin dodáváním rostlinných živin a také pomáhají udržovat dobrou produktivitu půdy a zdravé životní prostředí. Mezi bakterie podporující růst rostlin (PGPB)“ včetně kmenů rodů patří *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholdria*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Rhizobium* a *Serrotia*. Účinek PGPB na podporu rostlin probíhá uvolňováním metabolitů přímo stimulujících růst.

Mechanismy, kterými PGPB podporuje růst rostlin:

- produkce rostlinných hormonů, jako jsou auxiny, cytokininy, gibbereliny a inhibují produkci etylénu;
- asymbiotická fixace N₂;
- solubilizace (do micel povrchově aktivní látky jsou včleňovány molekuly další látky) anorganického fosfátu a mineralizace organického fosfátu anebo jiných živin.
- produkce sideroforů (látky vážící a přenášející železo), syntéza antibiotik, enzymů anebo fungicidních sloučenin při boji proti fytopatogenním mikroorganismům. [ESITKEN, Ahmet a kol., 2010]

Studie publikované v letech 1999 až 2007 ukázaly, že PGPB stimulovali růst a zvýšili výnosnost u několika druhů ovoce včetně jablek, sladkých třešní, citrusů, malin, vysokých

keřů, borůvek a meruněk. Avšak prací zkoumajících vliv PGPB na bobulovité ovoce není mnoho, z tohoto důvodu bylo cílem studie Ahmeta Esitkena bylo prozkoumat účinky postřiku aplikovaném na květy a listy jahod a naočkovaní jejich kořenů bakterií *Bacillus* (M3 a OSU-142) a *Pseudomonas* BA-8 na úrodu, jejich růst a obsah minerálu v podmínkách ekologického pěstování. Táto studie se uskutečnila na zemědělské výzkumné stanici univerzity Atatürk v Erzurume v Turecku s polosuchým klimatem o teplotě 20 až 25 °C, zatím co průměrná minimální teplota byla 5 až 10 °C během vegetačního období. [ESITKEN, Ahmet a kol., 2010]

Tři kmeny PGPB (*Pseudomonas* BA-8, *Bacillus* OSU-142 a *Bacillus* M-3) byly získané z Yeditepe University, specifikované jako bakterie podporující růst rostlin a potenciální biologický kontrolní agens proti širokému spektru bakteriálních a houbových patogenů, které způsobují významné ekonomické problémy v zemědělství. Bakterie byly kultivované na živném agaru (NA) a udržované v živném médiu (NB) s 15 % glycerolem. Jedna kolonie se přenesla do 500 ml baněk s obsahem NB a kultivovala se aerobně v baňkách na rotační třepačce (150 ot. /min.) po dobu 48 hodin při 27 °C. Bakteriální suspenze se potom zředila destilovanou vodou na výslednou koncentraci 109 CFU ml⁻¹ a suspenze se použila na ošetření rostlin jahod. Aplikace *Bacillus* M3 byla provedena za pomoci máčecí metody, při které byly kořeny rostlin naočkované bakteriálními suspenzemi s koncentrací 109 CFU ml⁻¹ asi 30 minut před výsadbou. Květinové a listové rostlinné části se postříkali bakteriální suspenzí (109 CFU ml⁻¹). *Pseudomonas* BA-8 a *Bacillus* OSU-142 byl aplikován samotný anebo společně zálivkou v 15denních intervalech během vegetačního období (červen až říjen). Kontrolní rostliny byly postříkané sterilní vodou a ponořené do sterilní vody. Na zavlažování během experimentálního období se použila podzemní voda dobré kvality. [ESITKEN, Ahmet a kol., 2010]

Výsledky v této studii ukázaly, že bakteriální ošetření významně ovlivnilo výnosnost ovoce, obsah vitamínu C a počet plodů na rostlině. Významné zvýšení výtěžku se dosáhlo s *Bacillus* M3 (569,5 g / rostlina), *Pseudomonas* BA-8 (532,6 g / rostlina), u kombinace BA-8 + OSU-142 (570,6 g / rostlina), u kombinace M3 + BA-8 (642,1 g / rostlina) a ošetření kombinace M3 + OSU-142 (555,4 g / rostlina) v porovnání s kontrolou (481,9 g / rostlina). Nárůst výtěžku byl cca 33,2 %. Kontrolní vzorky měly nejvyšší obsah vitamínu C, ale mezi kontrolou a bakteriální aplikací nebyl statisticky významný rozdíl, s výjimkou M3 + BA-8 + OSU-142. Krom toho neexistovaly statistické rozdíly mezi kontrolními a bakteriálními

aplikacemi, pokud jde o plochu listu. Bakteriální aplikace významně ovlivnili obsah živin v půdě.

Pozitivní účinek bakterií (zvýšení výnosu a růstu rostlin) používaných v této studii při pěstování jahod připisují autoři schopnosti těchto bakterií podporovat v rostlinách tvorbu auxinu a cytokininu, N_2 – fixaci, solubilizaci fosfátů a produkci antimikrobiálních látek. [ESITKEN, Ahmet a kol., 2010]

1.3 Hlavní kategorie rostlinných biostimulantů

V současnosti je využíváno pro stimulaci růstu mnoha přípravků na organické bázi jako jsou hydrolyzáty nebo, výluhy z řas. Organické biostimulační sloučeniny klasifikujeme do třech hlavních skupin na základě jejich zdroje a složení: huminové látky, extrakty z mořských řas a výrobky obsahující aminokyseliny. Poslední skupina pozůstává z volných aminokyselin a polypeptidů získaných chemickou či enzymatickou hydrolýzou zemědělských vedlejších produktů živočišného i rostlinného původu nebo z vyhrazených plodin biomasy. [COLLA, Giuseppe a kol., 2014, KOPRNA, Radoslav a kol., 2017].

Huminové látky

Huminové látky (HS) jsou všeobecně známe jako látky podporující růst rostlin, hlavně změnami v architektuře kořenů a dynamice růstu, které vedou k zvětšení velikosti kořenů, rozvětvení anebo vyšší hustotě vlasů kořenů s větší plochou povrchu. Byly také pozorované změny profilu vylučování látek z kořenů, jako i primárního a sekundárního metabolismu, avšak vše závisí od podmínek prostředí, typu rostliny a její ontogenezi. [BULGARI, R. a kol., 2014]

HS získané alkalickou hydrolýzou kompostovaných organických odpadů, které prokazatelně zvyšují produktivitu rostlin se věnovali ve studii Balieriho a kol. Výzkumníci testovali hydrolyzáty získané alkalickým zpracováním nekompostovaných rostlinných zbytků na růst fazole (*Phaseolus vulgaris*). Cílem jejich studie bylo připravit, charakterizovat a aplikovat v zahradnictví rozpustné a nerozpustné frakce získané alkalickou hydrolýzou odpadní biomasy rostlin rajčete. Hydrolyzát byl připraven v poloprovozním zařízení ze zbytků rostlin

rajčete získaných na konci sklizně v práškové formě (velikost částic <0,5 mm). Získány byly dvě frakce, a to vodou rozpustná a nerozpustná, které byly dále testovány. Rostliny fazole byly pěstovány na rašelinovém a pískovém substrátu. Jako kontrolu použili autoři rostlinný prášek z rajčat. Jako hodnotící kritéria, mimo jiné, autoři zvolili růst fazolových rostlin a koncentraci chlorofylu v listech. Pozornost také věnovali zhodnocení metabolismu rostlinného dusíku. V rámci práce provedli analýzu vzniklého hydrolyzátu. Rozpustná frakce hydrolyzátu obsahovala aminokyselinové, peptidové a hemicelulózy skupiny. Nerozpustná frakce hydrolyzátu se skládala hlavně z nerozpustných polysacharidů. Z výsledků jejich práce vyplývá, že obě frakce rostlinného hydrolyzátu (rozpustná i nerozpustná) stimulovaly metabolismus rostlin, a to zejména asimilaci dusíku. [BAGLIERI, Andrea a kol., 2014]

Extraktů mořských řas

Látky extrahované z mořských řas (Seaweed concentrates – SWC) si v současnosti získávají velkou přízeň jako organické přírodní biostimulanty rostlin. Samotné mořské řasy jsou bohatým zdrojem několika chemických látek, jako jsou vitaminy, karotenoidy, fycobiliprotein, polyoly, polysacharidy, mastné kyseliny atd. V oblasti zemědělství a zahradnictví bylo prokázáno, že mořské řasy stimulují růst rostlin, díky přítomnosti fytohormonů auxinů, cytokininů, gibberellinů a jiných regulátorů růstu. [Abd El-Baky a kol., 2008]. Nejvýznamnější příznivý účinek je podpora zakořenění a zlepšený růst a výnos. Mezi další pozitivní reakce patří zvýšená adsorpce a mobilizace živin, zvýšený obsah chlorofylu, zvýšená trvanlivost ovoce, zvýšená odolnost proti mrazu, napadnutí hmyzem či patogenem a vyšší odolnost vůči abiotickému stresu, jako je sucho a stres z vysokého obsahu solí. SWC taky zlepšují další biochemické složky, jako jsou koncentrace karotenoidů, cukru a proteinu. Aktivní složky v SWC se liší v závislosti od použitého druhu mořských řas a také od metody extrakce.

Ve vědecké práci Georginy D. Arthur a kolektivu byly na test zakořenění ořezků mungo fazole (*Vigna radiata*) použity řasy *Ecklonia maxima* (Osbeck) Papenfuss, získané ze západního pobřeží Jižní Afriky, a zpracované na kapalný produkt SWC, který je na trh dodáván pod značkou Kelpak[®]. Příznivé účinky Kelpaku jsou určeny pro širokou škálu rostlin včetně zeleniny, okrasných rostlin, stromů a jednoklíčnolistých plodin, jako také pro

odřezky. Biologický test na zakořenění mungo fazole (*Vigna radiata*) byl vybrán pro tuto studiu, aby se otestovala schopnost Kelpaku urychlovat růst kořene za různých podmínek jako je pH půdy a chemická povaha vody používané k zavlažování, protože pH a tvrdost vody mohou také ovlivnit absorpci aktivních složek SWC. Příjem kterékoliv sloučeniny závisí od rostlinných druhů, a samozřejmě také od okolních podmínek rostlin. Semena mungo fazole (*Vigna mungo L.*) byly povrchově sterilizované roztokem chlornanu sodného (3,5 %) po dobu 20 minut, důkladně opláchnuté a poté namočené 6 hodin do vody z vodovodu. Semena se zasejí a nechají se klíčit v růstové komoře při teplotě 26 °C. Kelpak® byl ředěn pufrů (pH 4,5: 6,5: 8,5), které sloužili jako kontroly v biologickém testu. Dalším ošetřujícím roztokem byl roztok vápenatých iontů, který byl připraven z chloridu vápenatého ($\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) o koncentraci 200 mg / l a 400 mg / l v destilované vodě. Testovací roztoky (20 ml) se umístili do láhve so čtyřmi lahvičkami pro každý roztok. Pět odřezků mungo fazole, o výšce 12 cm, se vložili do každé lahvičky (n = 20) a nechalo se 6 hodin při 26 °C. Po tomto 6hodinovém intervalu byly stonky odřezků opláchnuté vodou, aby se odstranil zbytkový roztok, a přenesené do čistých láhví obsahujících 20 ml vody z vodovodu. Odřezky byly ponechané po dobu 10 dní při teplotě 26 °C. V případě potřeby se na udržení původního objemu přidala do láhví voda. Počet kořenů na každém odřezku bol spočítán po 10 dnech a po opakovaném biologickém testu byl pro každý roztok vypočítán střední počet kořenů a standardní chyba. Všechna ošetření Kelpakem, který byl aplikován v 6hodinových intervalech, bez ohledu na pH (pH 4,5, 6,5 a 8,5) anebo koncentraci vápníku (200 mg / l a 400 mg / l), měly pozitivní vliv na zakořenění odřezků mungo fazole, počet kořenů narůstal se zvyšující se koncentrací Kelpaku až o 20 %. U některých vzorků nejvyšší koncentrace Kelpaku (50% roztok Kelpaku) měla za následek mírnou inhibici zakořenění v porovnání s přídávkem 20% roztoku Kelpaku. Tato studie prokázala, že vysoké koncentrace vápenatých iontů po aplikaci testovaného produktu nevykazovali negativní vplyv na kořenovou aktivitu při pH 4,5 a pH 6,5, zatím co v alkalických podmínkách (pH 8,5) vyšší koncentrace Kelpaku podporovali zakořenění, z čeho vyplývá, že vápník hraje důležitou roli při absorpci SWC rostlinnými buňkami. [ARTHUR, Georgina D. a kol., 2013]

Hydrolyzáty proteinů, aminů a peptidů

Bílkovinné hydrolyzáty (Protein hydrolysate – PH) jsou významnou skupinou rostlinných biostimulantů, jejichž podstatou je směs peptidů a aminokyselin, kterým byla v posledních letech věnována větší pozornost z důvodu jejich pozitivních účinků na užitkovost plodin. Jsou vyráběny enzymatickou anebo chemickou hydrolýzou proteinů ze živočišných anebo rostlinných surovin. Vyrábějí se především chemickou cestou (se silnými kyselinami nebo zásadami) anebo enzymatickou hydrolýzou proteinů obsažených v agroprůmyslových vedlejších produktech živočišného původu (kůže, vnitřnosti, peří, krev) anebo rostlinného původu (rostlinné vedlejší produkty) a v biomase specializovaných struktur (semena, seno). PH získané z vedlejších produktů agroprůmyslu uvádějí trvale udržitelné řešení problému zneškodňování odpadů, čímž je jejich výroba pozoruhodná z environmentálního a ekonomického hlediska. [COLLA, Giuseppe a kol., 2015]

Základní surovinou pro výrobu rostlinných hydrolyzátů jsou nejčastěji vyšší rostliny, jejich části včetně semen, listů a kořenů z rodu *Amaryllidaceae*, *Brassicaceae*, *Ericaceae*, *Fabaceae*, *Fagaceae*, *Moringaceae*, *Plantaginaceae*, *Poaceae*, *Rosaceae*, *Solanaceae*, *Theaceae*, *Vitaceae IU*, mohou to být také odpadní produkty z potravinářské výroby nebo odpadní biomasa ze zemědělství. [YAKHIN Oleg I a kol., 2017]

Vývoj nových hydrolyzátů rostlinných proteinů s vysokou biostimulační aktivitou rostlin se stal objektem zájmu mnohých výzkumu. Enzymatická hydrolýza (systém LISIVEG[®]), byla nedávno vyvinutá v Itálii za vzniku bílkovinného hydrolyzátu získaného z rostlin, který obsahuje vysokou koncentraci aminokyselin a rozpustných peptidů. Tento produkt byl testován v rámci výzkumu Giuseppe Collu a kolektivu, ve kterém byl zkoumán jeho biostimulační účinek – aktivitu podobnou hormonům, jako je absorpce dusíku a zvýšení růstu za pomoci dvou laboratorních biologických testů (test rychlosti klíčení kukuřice, kořenový test s odřezky z rajčat). Provedeny byly dva základní pokusy. V prvním pokuse byl testován bílkovinný hydrolyzát ve srovnání s regulátorem růstu IAA a jejich vliv na kořenový systém kukuřice. Ve druhém pokusu byly k testování vybrány rostliny rajčete.

Pokus 1: Semena kukuřice (*Zea mays L.*) se povrchově sterilizovali s roztokem chlornanu sodného (2 %), následně promyté destilovanou vodou. Takto připravená semena kukuřice byla vysazena do plastových nádob, které byly umístěny do růstové komory (24 °C). Sazenice kukuřice byly pěstované ve tmě po dobu sedmi dnů, do doby, až byly kořínky

dlouhé 2 až 3 cm. Odstranili se apikální 3 až 4 mm kořínky a ze zbylé části se dořezal segment délky 2 cm. Tyto části byly umístěné do 10 cm Petriho misek s obsahem 20 ml šesti testovacích roztoků: čtyři zvyšující se koncentrace (0,375; 0,75; 1,5 a 3 ml/l) rostlinného proteinového hydrolyzátu, 1,75 mg/l kyseliny inodol-3octovej (IAA) destilované vody (kontrola). Proteinový hydrolyzát obsahoval 35,5 % organických látek, 5 % celkového dusíku a 27 % aminokyselin a rozpustných peptidů.

Pokus 2: aktivita hydrolyzátu rostlinného původu, která je podobná auxinu, zvyšuje schopnosti podporovat iniciaci vzniku náhodných kořenů v odřezcích z rajčat. Z tohoto důvodu autoři práce zvolili právě IAA jako srovnávací látku. Semena rajčat byla povrchově sterilizované chlornanem 2 %. Po vyklíčení semen při záливce vodou se semenná rajčat vyseli do vlhkého substrátu na bázi rašeliny do klíčícího podnosu. Růstová komora byla naprogramovaná tak, aby udržovala 12hodinovou fotoperiodu s konstantní teplotou 23 °C den / 18 °C v noci a 65% relativní vlhkosti. Intenzita světla byla zabezpečena zářivkami. Po 35 dnech byly sazenice rajčat ve stádiu třech pravých listů řezané na spodku stonku, které byly ponořené na 5 minut do roztoku obsahujícího 6 ml/l rostlinného proteinového hydrolyzátu Trainer, zatím co destilovaná voda byla použita jako kontrola. Poté byly odřezky zasazené a uzavřené do průhledných plexisklových boxů obsahujících 8 cm vlhkého perlitu. Po 8 dnech od výsadby se odřezky z rajčat rozdělili na výhonky a kořeny. Rostlinné tkaniva se sušili v sušárně s nuceným oběhem vzduchu při 80 °C během 72 hodin na stanovení suché biomasy. Pro studium kořenové morfologie se vybralo pět odřezků na experimentální jednotku. Kořeny se opatrně promyly destilovanou vodou a byla určena morfologie kořenového systému. Následně byly stanovené hodnoty: celková délka kořenů (mm), střední průměr kořenů (mm) a celková plocha povrchu kořenů (cm²).

Výsledky experimentu č. 1 ukázaly, že testované koncentrace produktu bílkovinného hydrolyzátu významně ($p \leq 0,05$) ovlivnili rychlost prodloužení kukuřičných kořenů po 48 hodinách inkubace ve tmě. V této studii se prokázalo že, použití 1,75 mg/l⁻¹ IAA vedlo k zvýšení rychlosti prodlužování koleoptilu⁴ o 7,2 % v porovnání s kontrolou. Ukázalo se, že kukuřice ošetřená bílkovinným hydrolyzátem měla zvýšení rychlosti prodloužení koleoptilu v porovnání s kontrolou, v závislosti na dávce, porovnatelné s účinky IAA, protože nebyly pozorované žádné významné rozdíly mezi čtyřmi testovanými koncentracemi a ošetřením IAA. Tyto výsledky potvrdily silnou aktivitu rostlinného hydrolyzátu podobnou IAA.

⁴ koleoptil – blanitý obal (první list) zárodku jednoděložných rostlin, chránící prvotní vzrostný vrchol rostliny.

Auxinový účinek rostlinného proteinového hydrolyzátu byl pozorován také v experimentu zkoumajícím zakořenění odřezků z rajčat. Výhonek a suchá hmotnost, délka a plocha kořene rajčete byly významně vyšší o 26 % po ošetření rostlin testovaným hydrolyzátem jako u neošetřených rostlin. Aplikace proteinového hydrolyzátu rostlinného původu vyvolala nejen aktivitu podobnou auxínu a gibberellínu, ale také zvýšila absorpci dusíku a výnosnost plodin. [COLLA, Giuseppe a kol., 2014]

Z výše uvedených výsledků práce Colla a kol. [COLLA, Giuseppe a kol., 2014] a v případě extraktů mořských řas je otázkou, zdali tyto produkty zařadit do kategorie biostimulantů anebo regulátorů. Produkty s obsahem výtěžků z mořských řas jsou registrované jako pomocné rostlinné přípravky s obsahem nejen extraktů mořských řas, které obsahují také adaptogeny, důležité pro kořenovou soustavu, ale i jiné látky jako jsou algináty, aminokyseliny, fytohormony, stopové prvky a další prospěšné látky. Jsou využívány jako biostimulátory v rostlinné výrobě, které nenahrazují regulátory růstu a hnojiva, ale zvyšují jejich účinnost. [Marcela Vetchá, 2013]. Tyto látky podporují růst rostliny za přídavku menšího množství a koncentrace extraktu, což je rozhodujícím faktorem. Svým složením jsou důležité látky, které ovlivňují metabolismus v rostlinách a tím výrazně zvyšují růst a výnos plodin. Extrakty jsou bioaktivní, zlepšují celkový kořenový systém a další sloučeniny v extraktu, čím se zvýší příjem živin a růst celé rostliny. [Khan a kol., 2009] Z tohoto hlediska bych na základě literární studie konstatovala, že produkty z extraktů mořských řas jsou biostimulantem.

Příkladem je regulace růstu rostlin v podzimním období, a snaha zamezit její přerůstání, čím se omezí riziko vymrznutí. Biostimulant vyroben z hnědých mořských řas podpoří rozvoj těch částí rostlin, jejichž růst není inhibován přirozeně se vyskytujícím fytohormonem. [Adam Nawrath a Petra Hašková, 2015]

Tímto způsobem, lze snížit používání minerálních hnojiv bez zanedbání výživy rostlin, a zvýšit příjem živin biostimulací pomocí přípravků vyrobených na bázi extraktů z mořských řas, huminových kyselin, prospěšných mikroorganismů, ale i dalších směsí aminokyselin a peptidů získaných chemickou a enzymatickou hydrolyzou bílkovin z vedlejších produktů zemědělství, jak z rostlinných zdrojů (zbytky rostlin), tak ze živočišných odpadů ve formě (kolagenu, keratinu). [Du Jardin P., 2015]

2 CHARAKTERIZACE BÍLKOVINOVÉHO HYDROLYZÁTŮ

V současnosti je na trhu více jak 90 % PH získaných chemickou nebo enzymatickou hydrolyzou proteinů obsažených v zemědělsko-průmyslových vedlejších produktech živočišného původu (např. kolagen z vedlejších produktů kůže, peří v Evropě, Indii a Číně; vedlejší produkty rybolovu v Spojených státech). Produkce PH připravených z rostlinné biomasy je méně častá. [COLLA, Giuseppe a kol., 2015]

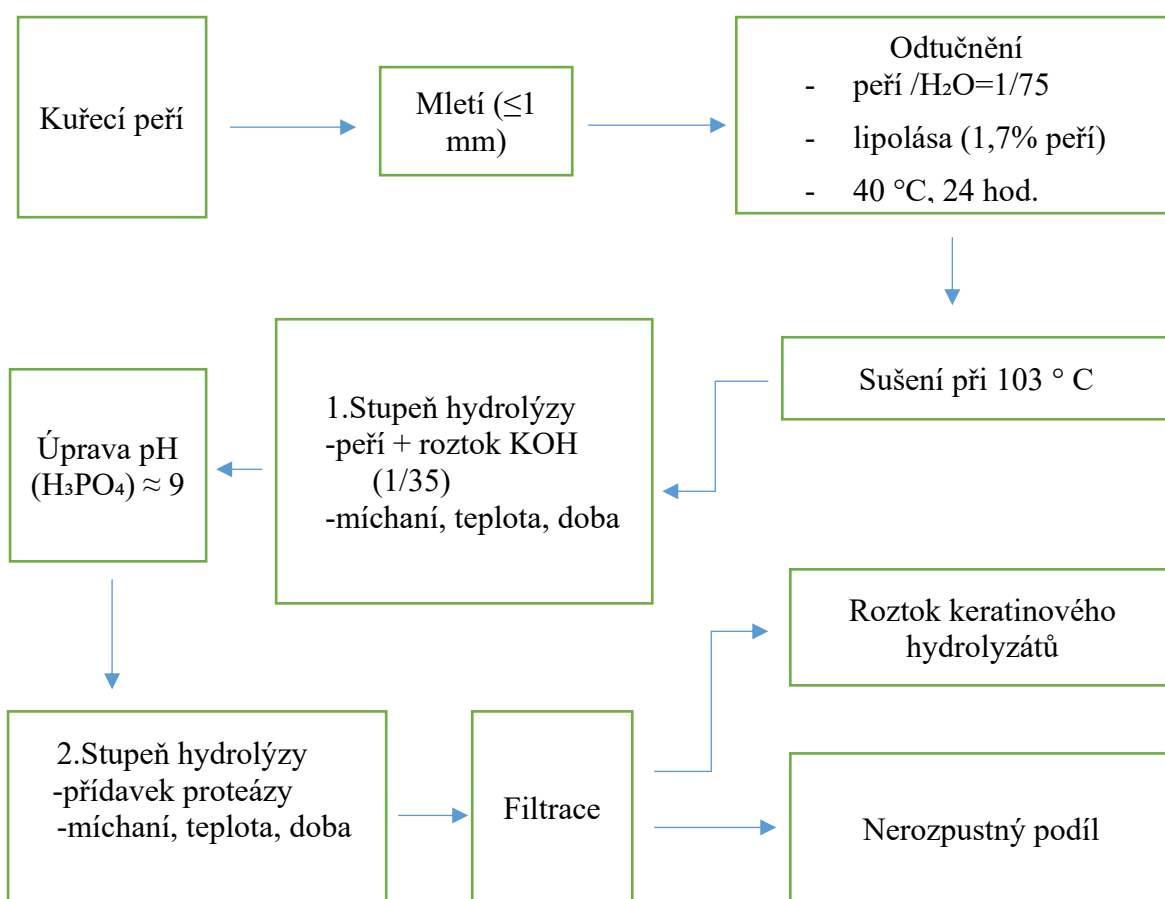
Každoročně se nahromadí miliardy tun peří obsahující keratin a chrupavky s vysokým obsahem kolagenu, které jsou odpadní surovinou z drůbežářské výroby. Likvidace těchto materiálů se v současné době řeší anaerobní fermentací na bioplyn. Jiné způsoby likvidace těchto odpadů za pomoci spalování nebo kompostování jsou problematické, neboť tento odpad špatně hoří a při kompostování se velice pomalu rozkládá. Takovouto likvidací zůstávají cenné látky obsažené v peří naprosto nevyužity. Vařením slepičího peří v autoklávu na 110 °C a za přítomnosti oxidu uhličitého (tlaková hydrolyza) dochází ke vzniku amoniaku neboli čpavku. Jedná se o hnojivo a potravinářskou látku, která když se zahřeje na 60 °C, amoniak se z látky uvolní a z něho pak lehce vzniká další výrobou močovina, kterou lze využít jako hnojivo. Díky této metodě jsou bílkoviny přeměněny na peptidy a aminokyseliny za pomoci tlakové hydrolyzy, která je v souladu s předpisy EU o vedlejších produktech živočišného původu. Aplikace těchto směsí aminokyselin a peptidů na rostliny může zvýšit odolnost proti stresu, účinnost fotosyntézy, funkci průduchů, utváření plodu a obsah aminokyselin a fytohormonů, chelatační účinek a syntézu proteinů. [Eva Baldassarre Švecová a kol., 2018, Jiří Hanika, 2018]

Keratinový bílkovinový hydrolyzát

Keratin se vyznačuje vysokým obsahem cystinu, kyseliny glutamové a serinu, je bohatý na síru obsaženou v aminokyselinových zbytcích cysteinu. Obsahuje cenné nutrienty pro záživky a ochranu před stresem rostlin, proto keratinové hydrolyzáty mají širokou škálu možností pro využití. Při aplikaci konkrétního typu je nezbytné znát údaje o složení keratinových hydrolyzátů, jejich vlastnostech (např. rozpustnost, tepelná stabilita) a molekulové hmotnosti. K získání rozpustného keratinu (keratinových hydrolyzátů) je nutné použít vysokých koncentrací roztoků kyselin či zásad spolu s vysokou teplotou, případně

tlaku. Zpracování keratinu tímto způsobem má za důsledek snížení obsahu některých aminokyselin (methionin, lysin, tryptophan). V poslední době se využívá enzymová hydrolýza, při které nejsou používány vysoké koncentrace agresivních chemikálií a celý proces probíhá za podstatně nižších teplot a atmosférického tlaku. Zjednodušené schéma procesu zpracování kuřecího peří na vodou rozpustný hydrolyzát je uvedeno na obr.3. [Pavel Mokrejš a kol., 2014, Jiří Hanika, 2018]

Keratinové hydrolyzáty se používají např. v zemědělství (dusíkatá hnojiva, růstové stimulatory, složky krmných směsí), v lékařství (tkáňové inženýrství) či v kosmetice (přípravky péče o vlasy a pokožku). [Pavel Mokrejš a kol., 2014]

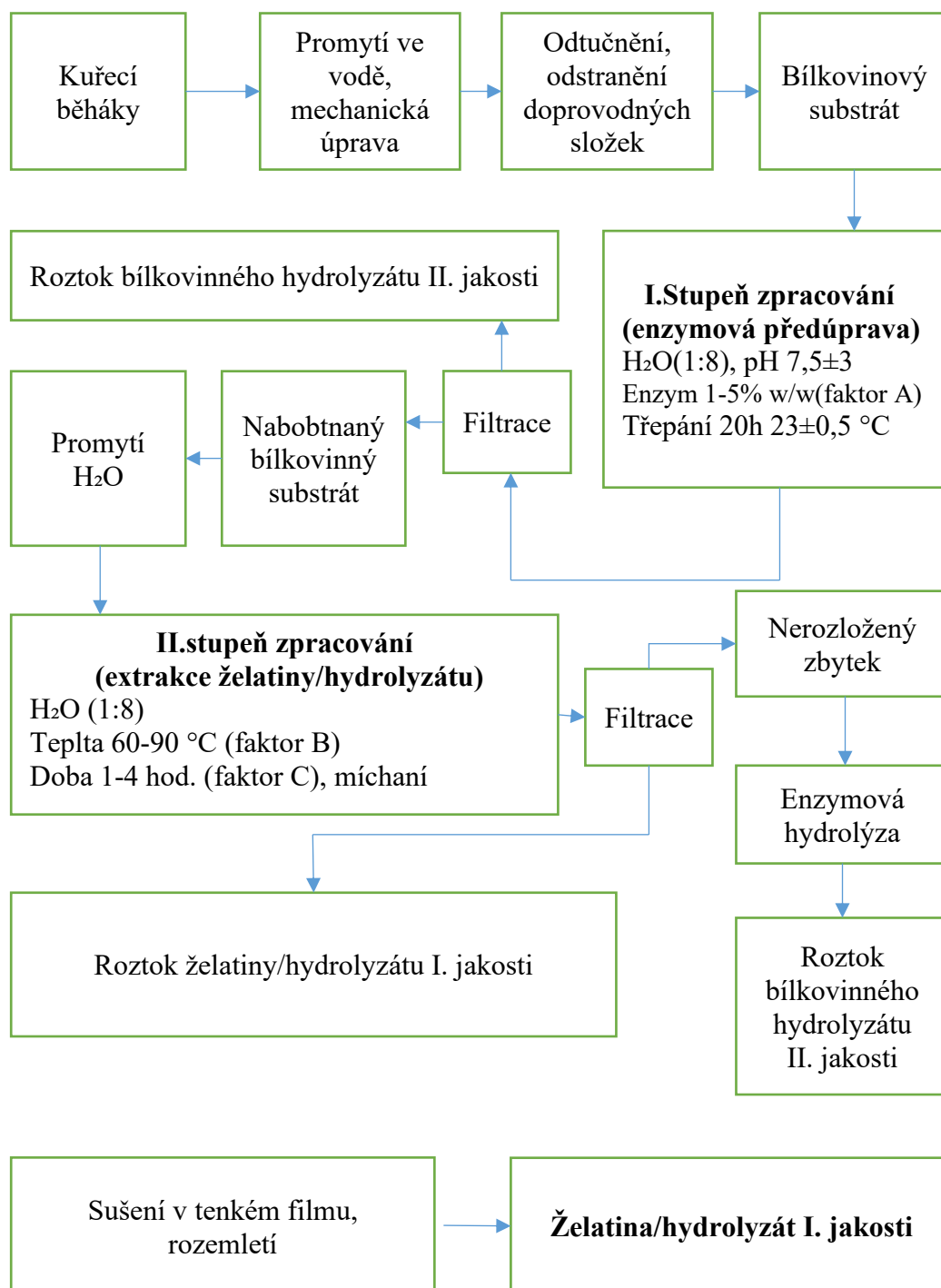


Obrázek 3. Schéma zpracování kuřecího peří na keratinový hydrolyzát [Pavel Mokrejš a kol., 2014]

Kolagenový bílkovinový hydrolyzát

Kolagen je hydrofilní makromolekula se strukturou tří-šroubovice, vykazuje vynikající hydrofilní schopnost díky svým hydrofilním skupinám, jako jsou karboxylové skupiny, aminoskupiny, hydroxylové skupiny a amidové skupiny. Na výrobu kolagenních hydrolyzátů lze použít jakékoliv tkáň bohaté na kolagen. Hydrolyzáty nacházejí, v závislosti na své čistotě, uplatnění např. jako potravinové doplňky, funkční přísady v kosmetických formulacích či v lékařských aplikacích. V zemědělství se hojně používají jako součást biodegradovatelných polymerů, nicméně některé materiály jako např. super absorpční polymery mají sice nízkou cenu a vysokou gelovou pevnost, avšak nelze je použít jako hnojiva s pozvolným uvolňováním. [Shuangfeng Xu Xin Li a kol., 2018]

Poměrně zajímavým vedlejším produktem masného průmyslu pro výrobu kolagenního hydrolyzátu se ukazují kuřecí běháky (přibližně 5 % hmotnosti drůbeže). Vzhledem k vysokému podílu bílkovin, zejména kolagenu, je lze zpracovat na vysoce kvalitní produkty, např. na želatiny či hydrolyzáty viz. obr. 4. [Pavel Mokrejš a kol., 2019]



Obrázek 4. Schéma přípravy želatin/hydrolyzátů z kuřecích běháků [Pavel Mokrejš a kol., 2019]

2.1 Vliv hydrolyzátů živočišného původu na rostliny

Pozorované účinky proteinových hydrolyzátů živočišného původu na rostliny:

- nárůst biomasy (rostliny či plodů);
- zvýšení hladiny sekundárních metabolitů (vit. C, fenolické l.);
- zvýšení příjmu živin (N, K, mikroživiny jako Fe, Zn, Cu) ale i snížení (Fe) význam chelatace;
- zvýšení intenzity fotosyntézy (např. díky zvýšení koncentrace fotosyntetických pigmentů);
- regulace transpirace (otevření průduchů);
- aktivita podobná fytohormonům (auxin, giberelin.);
- zvýšení odolnosti rostlin vůči stresu (teplota, sucho, škůdci);
- zvýšení mikrobiální aktivity (CFU, enzym. aktivity, změny populace půdních bakterií i epifytů). [Jiří Hanika, 2018]

Botanický ústav AV ČR uvedl ve svých vědeckých publikacích výsledky projektu BIOSTISYM [Eva Baldassarre Švecová a kol., 2018] kde zkoumali biostimulační účinky proteinového hydrolyzátu z peří, poskytnutého Ústavem chemických procesů AV ČR. Ve dvouletém projektu BIOSTISYM se zaměřili na pšenici ozimou, protože při pěstování této zemědělsky významné plodiny jsou běžně aplikovány vysoké dávky agrochemikálií pro zaručení odpovídajícího výnosu. Použitím biostimulantů by se mohla částečně snížit aplikace těchto chemických látek u této plodiny za zachování zdravého půdního ekosystému. Nejdříve výkumníci ověřili biostimulační účinek proteinového hydrolyzátu v květináčovém pokusu ve fóliovníku, kde se prokázalo, že hydrolyzát pozitivně ovlivnil růst rostlin v závislosti na doplňku výživy fosforu. Negativní účinek na kolonizaci kořenů pšenice mykorhizními houbami nebyl výzkumníky prokázán. V práci Švecové a kol. z Botanického ústavu AV ČR je uvedeno, že u polních plodin jako je pšenice je nutné účinnost pomocných rostlinných přípravků testovat v podmínkách jim vlastních. Z tohoto důvodu byly autory provedeny polní pokusy, v průběhu, kterých bylo zjištěno, že při aplikaci hydrolyzátu na

začátku sloupkování došlo k 5% navýšení výnosu oproti kontrolnímu vzorku neošetřeným hydrolyzátem. Mimoto po čtrnácti dnech po aplikaci proteinového hydrolyzátu autoři zaznamenali značné navýšení množství vyprodukované nadzemní biomasy, výšky rostlin a obsahu chlorofylu v listech. Autoři se domnívají, že ovlivnění těchto růstových parametrů rostlin pšenice v raném vývojovém stadiu má relaci se zvýšením výnosu. Ani v polních podmínkách aplikace hydrolyzátu nijak negativně neovlivnila kolonizaci kořenů pšenice mykorhizními houbami, naopak aplikace hydrolyzátu pozitivně ovlivnila počet vezikul, zásobních orgánů arbuskulárně mykorhizních hub. Švecová a kol. se domnívají, že by aplikací proteinového hydrolyzátu na rostlinu mohla být nepřímo ovlivněná struktura mikrobiálních společenstev na kořenech rostlin. Přesný mechanismus ovlivnění arbuskulárně mykorhizních hub však nebyl dosud objasněn. [Eva Baldassarre Švecová a kol., 2018]

Vědecký výzkum Sudhira K a kol. byl zaměřen na výrobu, vlastnosti a ověření účinku hydrolyzátu z kuřecího peří na klíčení semen a růst rostlin Cizrny beraní (*Cicer arietinum*). Do květináče se dalo 1,0 kg čerstvě odebrané půdy a vlhkost půdy byla upravena na 55 %. Hydrolyzát kuřecího peří byl připraven enzymatickou hydrolyzou pomocí β -keratinázy za přítomnosti nanočástic oxidu železato-železitého. Hydrolyzát z kuřecího peří byl do půdy aplikován v následujících dávkách 10 %, 20 % a 30 % (obj./hmotn.) a květináče se udržovali 28 dní při teplotě 28 ± 2 °C. Vzorky půdy bez přidaného hydrolyzátu z kuřecího peří sloužili jako kontrola. Dalším porovnávacím vzorkem byl květináč, do kterého byl aplikovaný kravský hnůj, velmi oblíbené organické hnojivo v eko-zemědělství. Následně po třech dnech od prvního přidání hydrolyzátu byla provedena druhá aplikace keratinového hydrolyzátu. Počáteční klíčivost semen při teplotě 28 °C byla stanovená jako $82,0 \pm 4$ %. Růst rostlin byl hodnocený v různých časových intervalech na základě měření výšky výhonku (cm), počtu větví a vlhké hmotnosti biomasy (g) rostlin do 28 dní. Přídavek hydrolyzátu z peří do půdy měl příznivý účinek na klíčení semen a růst rostliny. Klíčivost semen ve vzorcích s aplikovaným hydrolyzátem byla vyšší v porovnání s kontrolním vzorkem. Dále se prokázalo zvýšení růstu rostlin na výšku, zvýšení čerstvé biomasy (vlhké hmotnosti) a to v následujícím pořadí vzorků: S 30 % > S 20 % > S 10 % \geq S 0. [RAI, Sudhir K a kol., 2015].

V obsáhlé vědecké studii Lauri Corte a kolektivu bylo vybráno sedm bílkovinných hydrolyzátů získaných z rozdílných stupňů zpracování kůže, a vyrobených dvěma postupy hydrolýzy (chemická anebo enzymatická hydrolýza). Popis sedmi bílkovinných hydrolyzátů použitých ve studii, hydrolytický proces a obsah dusíku jsou uvedené v tab.1.

Tabulka 1: Přehled bílkovinných hydrolyzátů použitých ve studii Lauri Corte a kolektivu získaných zpracováním vedlejších produktů z výroby kůže. [CORTE, Laura a kol., 2014]

Označení vzorku bílkovinného hydrolyzátu	Stupeň zpracování / metoda	Obsah - N %
F1	čistý kolagen získaný alkalickou hydrolýzou a rafinací v bikarbonátovém pufru, tepelně zkoncentrován	10
F2	směs aminokyselin získaná alkalickou hydrolýzou	26
F3	dvoustupňová chemická extrakce kyselinou poté alkalickými roztoky	23
F4	přímou parou při 90 °C po dobu 180 minut, filtrace, zahuštění kapalné frakce	29,8
F5	alkalickou hydrolýzou při 45 °C po dobu 80 minut, filtrace a vakuová koncentrace	25,2
F6	enzymatická hydrolýza v alkalickém prostředí	24,7
F7	enzymatická a tepelná hydrolýza	24,2

Účinek různých typů proteinových hydrolyzátů na růst kořenů byl pozorován Corte a kol. na semenech kukuřice (*Zea mays*), které byly předem předklíčeny při teplotě 25 °C na vlhkém filtračním papíru v termostatické komoře během 72 hodin, tj. po dobu, než se dosáhla délka kořenů přibližně 20–25 mm. Testovány byly čtyři aplikační dávky pro každý proteinový hydrolyzát - 0,1, 1, 10 a 1 000 ppm (hmotn. /obj.). Jako kontrola byla použita semena kukuřice ošetřená pouze destilovanou vodou. Semena se inkubovala při 25 °C v termostatické komoře. Účinek aplikace HP se vyhodnotil tak, že při každé dávce se vypočítal rozdíl (A, mm) v délce kořenů mezi ošetřenými a neošetřenými semeny. V testu růstu kořenů semen kukuřice (*Z. mays*) byl prokázán zvýšený růst u vzorku s obsahem N od 10 % N a

24,2 % N ve všech koncentracích. Naopak semena ošetřená PH s obsahem s vyšším obsahem N (29,8 %) ve všech koncentracích vykazovala nejnižší růstu kořenů. [CORTE, Laura a kol., 2014]. Zároveň autoři ve své práci potvrdili bezpečnost HP, protože žádný z výrobků neměl fyto toxické anebo genotoxické účinky. [CORTE, Laura a kol., 2014]

Výzkum Lisiecké a kolektivu z Univerzity přírodních věd v Marcelinu, který dokumentuje výsledek působení biostimulantů na bázi hydrolyzátu živočišných bílkovin na růst a produktivitu mateřských rostlin jahod. Studie trvala jeden rok, a byla sestavena ze dvou experimentů provedených v nevyhříváném skleníku. Rostliny jahod (*Fragaria vesca*) byly vysazeny do černých polypropylenových sáčků 20 × 85 cm, naplněné rašelinovým substrátem. Do každého sáčku byly vysazeny tři rostliny a umístěné na okapech ve skleníku ve výšce 165 cm. Povrch půdy ve skleníku byl potažen bílou plastovou fólií, pro maximální využití světla. Rostliny byly zavlažovány a hnojeny kapkovým systémem v přesně definovaných časových intervalech. Mateřské rostliny jahod byly vysázeny ve druhé dekádě dubna 2006 a oddenky s dceřinými rostlinami byly od nich ve druhé dekádě oddělené. Byla změřena délka a průměr oddenků, zaznamenán počet listů a hmotnost dceřiných rostlin. Ve studii byl použit biostimulant na bázi hydrolyzátu hemoglobinu. Vodní roztok (1 %) biostimulantu byl aplikován ke kořenům a na listy rostlin celkem 6krát, rostliny bez aplikace biostimulantu byly určeny jako kontrolní vzorek. Experiment byl proveden ve 4 replikacích, data statisticky vyhodnocena pomocí metody analýzy rozptylu a vyhodnocení rozdílů pomocí Newman-Keulsova testu při 0,05 hladiny významnosti. Studie ukázala, že biostimulant založený na živočišném hydrolyzátu hemoglobinu neměl příznivý vliv na množství a kvalitu jahodových oddenků a dceřiných rostlin. Ve studii je uvedeno, že po aplikaci biostimulátoru naopak významně poklesla hmotnost dceřiných rostlin v porovnání s kontrolou. Někteří vědci také uvedli ve svých studiích, že biostimulanty ne vždy prokázaly zlepšený růst rostlin. [Lisiecka, J. a kol., 2011]

3 SHRUTÍ LITERÁRNÍ REŠERŠE A CÍLE PRÁCE

Na základě literární studie může být konstatováno, že proteinové hydrolyzáty se díky svým biostimulačním účinkům na testované rostliny jeví jako perspektivní pomocné rostlinné přípravky, čím by se mohly používat v rámci inovativních pěstitelských technologií, kde by doplnily nebo částečně nahradily tradiční hnojiva. To by vedlo ke snížení zátěže životního prostředí agrochemikáliemi. K tomu přispívá i fakt, že některé typy bílkovinných hydrolyzátů nemají negativní vliv na symbiotické mikroorganismy a jsou vhodné i pro ekologické pěstování. Nicméně nelze opomenout skutečnost, že existuje i několik studií ve kterých se uvádí, že aplikace komerčních proteinových hydrolyzátů především živočišného původu na listy (formou závlivky) může způsobit fytotoxicitu a útlum růstu rostlin. Zároveň v posledních letech roste obava z používání živočišných bílkovinných hydrolyzátů z hlediska bezpečnosti potravin, co dokazuje zákaz aplikace bílkovinných hydrolyzátů živočišných bílkovin na jedlé části plodin v ekologickém zemědělství (evropské nařízení č. 354/2014). Z toho vyplývá nutnost testování účinků nově vyvíjených proteinových hydrolyzátů na růst rostlin.

Cílem této práce je vyhodnocení účinku dvou různých bílkovinných hydrolyzátů živočišného původu na vybrané druhy rostlin.

Dílčí cíle:

- test klíčivosti na Petriho miskách: s řeřichou setou (*Lepidium sativum*), rajčetem tyčkovým (*Solanum lycopersicum L.*), paprikou (*Capsicum annuum*) a okurkou nakladačkou (*Cucumis sativus*);
- metoda měření inhibice růstu kořene u ječmene setého (*Hordeum vulgare*)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 METODIKA

4.1 Přístroje a pomůcky

- analytické váhy Sartorius, Německo;
- filtrační papír Munktell (grade 1290, plošná hmotnost papíru 84 g/m², filtrační rychlost 100 s, záchyt částic 3–5 μm);
- Petriho misky plastové okrouhlé o průměru 85 mm;
- hliněné nádoby s průměrem 15,5 cm a výškou 12,5 cm, Deroma květináč standard, terakota;
- expandovaný AGRO PERLIT LP 200 o velikosti částic 1,0 mm, výrobce LB MINERALS, a.s. Košice;
- přístroj na měření vlhkosti a světelné intenzity Combi-Tester TFA Nr.48.1000;
- běžné laboratorní sklo a pomůcky.;

4.2 Zkoušená látka

Zkoušenými látkami byly v této práci keratinový bílkovinový hydrolyzát připravený z kuřecího peří a kolagenový bílkovinový hydrolyzát připravený z kuřecích běháků. Oba typy hydrolyzátů byly laboratorně připraveny na ústavu inženýrství polymerů, FT UTB ve Zlíně. Základní charakteristika obou hydrolyzátů je uvedena v tab. 2. Podrobnější charakteristiky nebyly stanoveny z důvodů dočasného omezení výuky na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně v souvislosti s výskytem nemoci COVID-19.

Tabulka 2: Elementární analýza proteinových hydrolyzátů

	keratinový hydrolyzát, sušina 94,9 %					kolagenový hydrolyzát, sušina 88,9 %				
	%			průměr	SD*	%			průměr	SD*
Uhlík	43,66	43,43	-----	43,55	0,1626	50,41	49,91	50,28	50,20	0,2594
Dusík	12,75	12,68	-----	12,72	0,0495	16,24	16,30	16,32	16,29	0,0416
Síra	1,48	1,22	-----	1,35	0,1838	-----				

*SD-směrodatná odchylka

4.3 Rostlinný materiál

- Řeřicha setá (*Lepidium sativum*), odrůda crinkly, dodavatel: Lidl Česká republika v.o.s., Praha, není chemicky ošetřeno
- Rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum L.*), odrůda: poloraný tyčkový hybrid, dodavatel: Microterm color, s.r.o, Březce, Štěpánov, není chemicky ošetřeno
- Paprika (*Capsicum annuum*), odrůda: santana F1, dodavatel: Moravoseed Slovakia, s.r.o, M.R.Štefánika 32, Nové Zámky
- Okurka nakladačka (*Cucumis sativus*), odrůda: Restina (Mildow resistant F1 hybrid), dodavatel: Lidl Česká republika v.o.s., Praha, není chemicky ošetřeno
- Ječmen setý (*Hordeum vulgare*), odrůda: krmná ozimní, dodavatel: Agrolens spol.s.r.o., Čenkovce – Zlaté Klasy, Registrační číslo: SK 300 54, není chemicky ošetřeno

4.4 Test klíčivosti na Petriho miskách rostlin řeřichy seté (*Lepidium sativum*), okurky nakladačky (*Cucumis sativus*), rajčete tyčkového (*Solanum lycopersicum L.*) a papriky (*Capsicum annuum*)

V rámci diplomové práce byla použita kontaktní metoda dle ČSN EN 16086-2. Jedná se o postup, kdy většina substrátů a pomocných půdních látek jsou testované na Petriho miskách spolu se semeny, která jsou ve fyzickém kontaktu se zkoušeným materiálem. Semena rostlin jsou vystavena testovanému materiálu za řízených podmínek po dobu několika hodin (72 hod). Klíčení a růst mladých kořenů se měří a porovnává s kontrolním vzorkem (pitná převařená voda). [ČSN EN 16086-2]

- Příprava pracovního roztoku keratinového, resp. kolagenového hydrolyzátu.

Keratinový hydrolyzát obsahuje 12,72 % dusíku, kolagenový hydrolyzát obsahuje 16,29 % dusíku viz. tab.2, což představuje v 1000 mg/l hydrolyzátu koncentraci N – 0,1272 g/l keratinového a 0,1629 g/l kolagenovém hydrolyzátu. Pro přípravu vhodné koncentrace pracovních roztoků hydrolyzátů se vypočítala teoretická navážka do 200 ml odměrné baňky, což představuje 0,2g hydrolyzátu a doplnilo baňku po rysku destilovanou vodou. Skutečná koncentrace v pracovním roztoku je uvedena v tabulce 3 a 4. Pracovní roztoky se nechali odstát nejméně 6 hodin pro dokonalé rozpuštění látek v roztoku (zejména keratinový hydrolyzát), ze kterých byla poté připravena ředící řada od 100 mg/l do 600 mg/l viz. tabulka 5 u testu prvního a tabulka 6 u testu druhého.

Tabulka 3: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro řeřichu setou a okurku nakladačku.

Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>)	c N [g/l]	navážka do 200 ml [g]	skutečná navážka [g]	přepočít c N [g/l]
test I.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19852	0,1263
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,20021	0,1631
test II.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19598	0,1246
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,19693	0,1604

Tabulka 4: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro řeřichu setou a okurku nakladačku.

Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>)	c N [g/l]	navážka do 200 ml [g]	skutečná navážka [g]	přepočít c N [g/l]
test I.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19852	0,1263
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,20021	0,1631
test II.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19598	0,1246
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,19693	0,1604

Tabulka 5: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro ředichu setů a okurku nakladačku prvního testu.

test I.					
Keratinový hydrolyzát			Kolagenový hydrolyzát		
c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]	c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]
100	5	12,63	100	5	16,31
200	10	25,26	200	10	32,62
300	15	37,89	300	15	48,93
400	20	50,52	400	20	65,24
500	25	63,15	500	25	81,55
600	30	75,78	600	30	97,86

Tabulka 6: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro ředichu setou a okurku nakladačku druhého testu.

test II.					
Keratinový hydrolyzát			Kolagenový hydrolyzát		
c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]	c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]
100	5	12,46	100	5	16,04
200	10	24,92	200	10	32,08
300	15	37,38	300	15	48,12
400	20	49,84	400	20	64,16
500	25	62,30	500	25	80,20
600	30	74,76	600	30	96,24

Tabulka 7: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku.

Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	c N [g/l]	navážka do 200 ml [g]	skutečná navážka [g]	přepočtená c N [g/l]
test I.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,20302	0,1291
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,20231	0,1648
test II.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19459	0,1238
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,19996	0,1629

Tabulka 8: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku.

Paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	c N [g/l]	navážka do 200 ml [g]	skutečná navážka [g]	přepočet c N [g/l]
test I.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,20302	0,1291
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,20231	0,1648
test II.				
Keratinový hydrolyzát	0,1272	0,2	0,19459	0,1238
Kolagenový hydrolyzát	0,1629	0,2	0,19996	0,1629

Tabulka 9: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku prvního testu.

test I.					
Keratinový hydrolyzát			Kolagenový hydrolyzát		
c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]	c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]
100	5	12,91	100	5	16,48
200	10	25,82	200	10	32,96
300	15	38,73	300	15	49,44
400	20	51,64	400	20	65,92
500	25	64,55	500	25	82,40
600	30	77,46	600	30	98,88

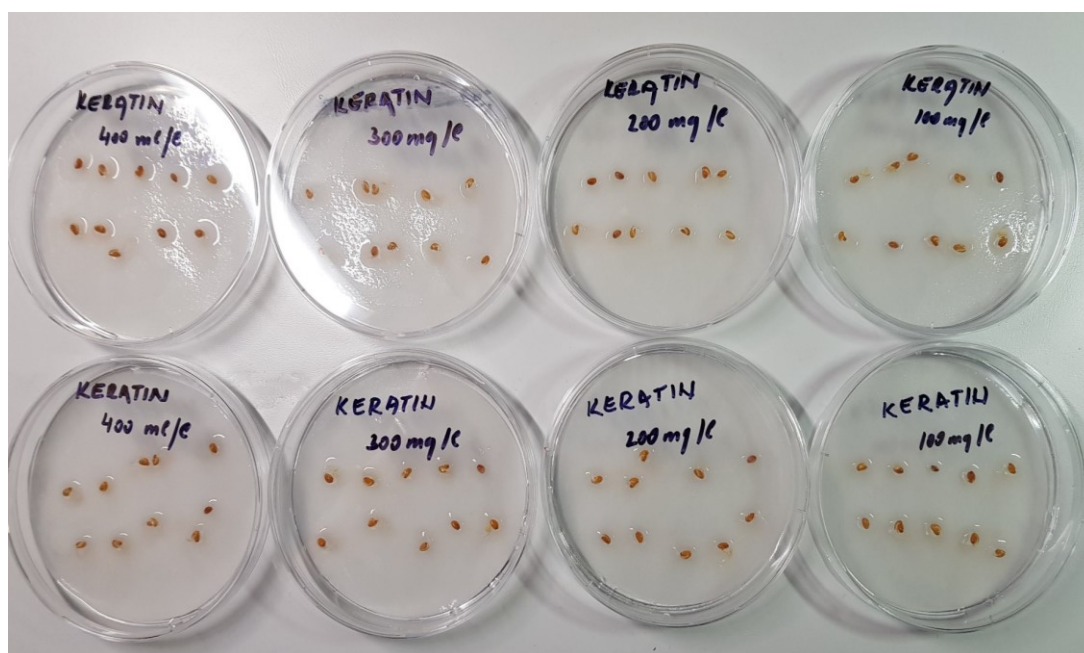
Tabulka 10: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku druhého testu.

test II.					
Keratinový hydrolyzát			Kolagenový hydrolyzát		
c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]	c [mg/l]	[ml] do 50 ml	c N [mg/l]
100	5	12,38	100	5	16,29
200	10	24,76	200	10	32,58
300	15	37,14	300	15	48,87
400	20	49,52	400	20	65,16
500	25	61,90	500	25	81,45
600	30	74,28	600	30	97,74

- Postup práce

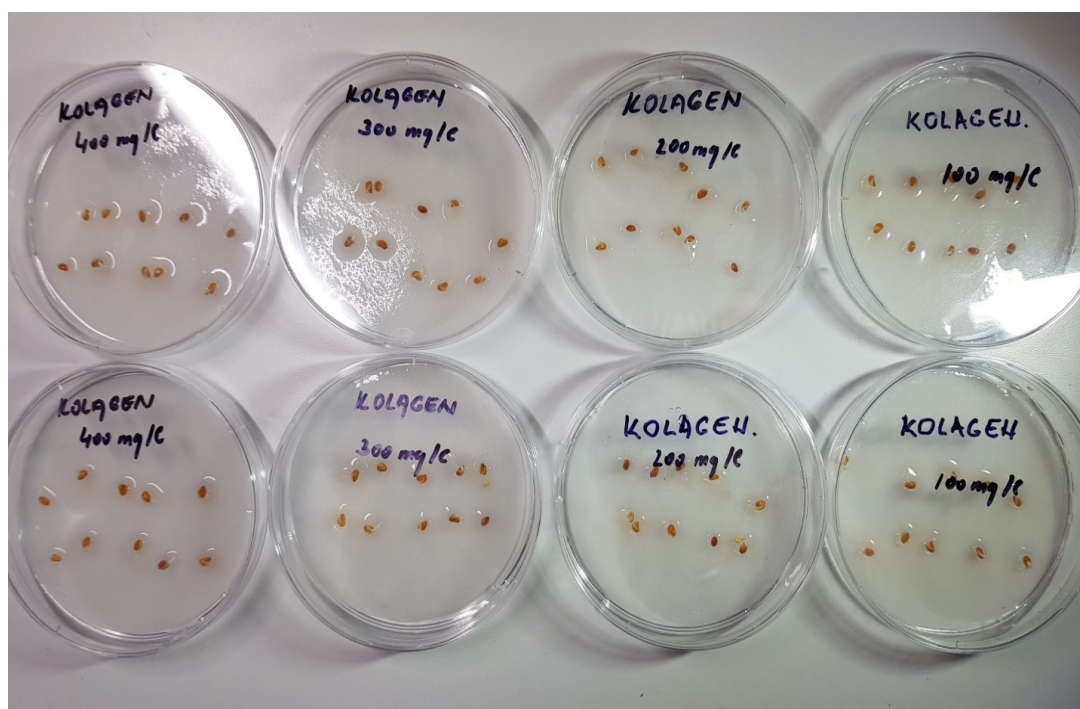
Dle modifikovaného testu ČSN EN 16086-2 byl na dno Petriho misky (PM) o průměru 85 mm položen filtrační papír a byl aplikován roztok keratinového hydrolyzátu o objemu 3ml z každé koncentrace jednotlivě (100 mg/l, 200 mg/l, 300 mg/l, 400 mg/l, 500 mg/l, 600 mg/l) ve dvou replikách, stejným způsobem byl aplikován na PM kolagenový hydrolyzát o objemu 3ml, poté se na filtrační papír rovnoměrně uložilo 10 semen řeřichy seté. Kontrolní vzorek se připravil s 3 ml pitné převařené vody také ve dvou replikách. Takto připravené Petriho misky uzavřené víčky byly inkubovány ve vodorovné poloze, v temnu při pokojové teplotě⁵ (25±5) °C po dobu 72 hodin. Test byl realizován dvakrát.

Stejným způsobem se postupovalo při testech klíčivosti na PM u rajčete tyčkového (*Solanum lycopersicum* L.), papriky (*Capsicum annuum*) a okurky nakladačky (*Cucumis sativus*), u okurky se inkubovalo 5 semen z důvodu jejich velikosti. [ČSN EN 16086-2]



Obrázek 5: Příprava testu klíčivosti na Petriho miskách řeřichy seté (*Lepidium sativum*) na keratinovém hydrolyzátu. [Brezinová, 2020]

⁵ Tyto podmínky byly zvoleny z důvodů vládního opatření dočasného omezení výuky na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně v souvislosti s výskytem nemoci COVID-19.



Obrázek 6: Příprava testu klíčivosti na Periho miskách řeřichy seté (*Lepidium sativum*) na kolagenovém hydrolyzátu a kontrolní vzorek. [Brezinová, 2020]



Obrázek 7: Příprava testu klíčivosti na Periho miskách papriky (*Capsicum annuum*) na kolagenovém hydrolyzátu. [Brezinová, 2020]

Vyhodnocení parametrů:

Vyhodnocení testu inhibice růstu kořene na PM bylo provedeno měřením délky kořene testovaných rostlin s přesností 1 mm po dobu inkubace 72 hodin od zahájení testu. Byl vypočítán koeficient rozptylu pro klíčivost podle vzorečku (2), koeficient rozptylu pro délku kořene zkoušeného vzorku a kontrolního vzorku podle vzorečku (4), průměrná klíčivost a průměrná délku kořene podle vzorečků (1) (3). [ČSN EN 16086-2]

- Průměrná klíčivost a koeficient rozptylu pro klíčivost

(1)

$$ARG = \frac{GR1 + GR2 + \dots}{x}$$

kde

ARG – klíčivost [%]

GR – počet vzklíčených semen

x – celkový počet semen

(2)

$$CVG = \frac{\sqrt{\frac{\sum(GR - ARG)^2}{2}}}{ARG} * 100$$

kde

CVG – koeficient rozptylu pro klíčení [%]

- Průměrná délka kořene a koeficient rozptylu pro délku kořene

$$ARLP = \frac{RLP1 + RLP2 + \dots}{x} \quad (3)$$

kde

ARLP – průměrná délka kořene [cm]

x – celkový počet semen

$$CVR = \frac{\sqrt{\frac{\sum(RLP - ARLP)^2}{2}}}{ARLP} * 100 \quad (4)$$

kde

CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene [%]

4.5 Metoda měření inhibice růstu kořenů u ječmene setého (*Hordeum vulgare*)

Norma ČSN EN ISO 11269 popisuje metodu stanovení účinků chemických látek obsažených v testovaném vzorku na růst kořene suchozemských rostlin. Metoda je používána pro zkoušení půd, půdních materiálů, kompostu, kalů, odpadů ale i chemických látek záměrně přidaných do půdy. Při použití této metody se porovnává délka kořene suchozemských rostlin ve zkoušené půdě nebo v řadě ředění s kontrolním vzorkem. Jako zkušební rostliny jsou doporučeny ječmen setý (*Hordeum vulgare* L.), oves (*Avena sativa* L.) a pšenice (*Triticum aestivum* L.), jsou to rostliny, které tolerují vlastnosti zkoušeného vzorku. [ČSN EN ISO 11269-1]

- Půda

Orná půda získaná z oblasti Severozápadního Slovenska (Kysuce), na pastvině každoročně využívané ke kosení. Podle portálu [Pôdny portál SK] je v této oblasti půda specifikována do půdního typu kambizem (94 %). Fyzikálně-chemické vlastnosti půdy nebyly stanoveny z důvodů dočasného omezení výuky na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně v souvislosti s výskytem nemoci COVID-19.

- Příprava pracovního roztoku keratinového a kolagenového hydrolyzátu

Aby bylo dosaženo koncentrace dusíku v pracovním roztoku hydrolyzátů přibližně 200mg/l bylo výpočtem stanoveno, že tato přibližná koncentrace je v 1500 mg/l hydrolyzátu, což představuje koncentraci N – 190,8 mg/l keratinového hydrolyzátu a 244,4 mg/l kolagenovém hydrolyzátu viz. tab. 10. Pro přípravu požadované koncentrace pracovního roztoku obou hydrolyzátů se vypočítala teoretická navážka do 50 ml odměrné baňky, což představuje 0,075 g keratinového hydrolyzátů a 0,075 g kolagenového hydrolyzátu. Poté byly odměrné baňky doplněny destilovanou vodou, celkem byly připraveny tři pracovní roztoky od každého testovaného hydrolyzátu a číselně označeny I., II., III. Skutečné koncentrace pracovních roztoků je uvedena v tabulce 11. Pracovní roztoky se nechali odstát nejméně 6 hodin pro dokonalé rozpuštění látek v roztoku (zejména keratinový hydrolyzát).

Tabulka 11: Příprava pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky

Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>)	c N [g/l]	c S [g/l]	navážka do 50 ml [g]	č.	skutečná navážka [g]	přepočet c N [g/l]	přepočet c S [g/l]				
test I.											
Keratinový hydrolyzát	0,1908	0,0203	0,075	1.	0,07467	0,1900	0,0202				
Kolagenový hydrolyzát	0,2444	x	0,075		0,07415	0,2416					
				2.	0,07517	0,1912	0,0203				
					0,07506	0,2446					
				3.	0,07505	0,1909	0,0203				
					0,07443	0,2425					
				test II.							
				Keratinový hydrolyzát	0,1908	0,0203	0,075	1.	0,0749	0,1905	0,0203
Kolagenový hydrolyzát	0,2444	x	0,075	0,07507	0,2446						
				2.	0,07556	0,1922	0,0205				
					0,07529	0,2453					
				3.	0,07563	0,1924	0,0205				
					0,07578	0,2469					
test III.											
Keratinový hydrolyzát	0,1908	0,0203	0,075	1.	0,07565	0,1925	0,0205				
Kolagenový hydrolyzát	0,2444	x	0,075		0,07509	0,2447					
				2.	0,07525	0,1914	0,0204				
					0,07500	0,2444					
				3.	0,07521	0,1913	0,0204				
					0,07512	0,2448					

- Postup

V tomto testu byly použité hliněné nádoby s průměrem 15,5 cm a výškou 12,5 cm, které se před zahájením testu vložili do vodní lázni destilované vody, aby udrželi vláhu. V případě, že by se tak nestalo, květináč vezme vláhu z hlíny, co je nežádoucí. Na dno nádoby byl položen filtrační papír, aby se zabránilo přerůstání kořenů přes otvor nádoby, poté byly naplněny půdou 20 mm pod horní okraj nádoby bez mechanického stlačení půdy. Do každé nádoby se vyselo 10 semen ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.) a zakrylo vrstvou 10 mm

půdy a další 10 mm vrstvou perlitu (obr.8) ve třech replikách označeny I., II., III., poté byly vloženy do igelitových sáčků, aby se zabezpečila ideální vlhkost (efekt skleníku). Na takto zasazené rostliny ječmene setého byl aplikován roztok hydrolyzátu formou zálivky. Jako kontrolní vzorek se provedl stejný postup s pitnou převařenou vodou také ve třech replikách číselně označeny stejně jako testované vzorky. Rotace mezi rostlinami se uskutečňovala každý den. Inkubace probíhala za pokojové teploty, která se pohybovala od 20,0 (v nočních hodinách) do 28,0 ° C (v denních hodinách) a osvětlení od 4221 lx do 8904 lx den, vlhkost v rozmezí 39 % až 45 %. Testy byly opakovány třikrát: I. test: aplikace roztoku hydrolyzátu hned po zasetí, II. test: aplikace roztoku hydrolyzátu 24 hodin po zasetí a III. test: aplikace roztoku hydrolyzátu po vzklíčení semen.



Obrázek 8: Příprava testu inhibice růstu kořene ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.).

[Brezinová, 2020]



Obrázek 9: Vyklíčená semena po 10 dnech. [Brezinová, 2020]

Vyhodnocení parametrů:

Po uplynutí 14dnů proběhlo vyhodnocení počtu vyklíčených semen (obr.4). Nádoby se opatrně převrátili ve dlaních a obsah nádoby byl ponořen do nádob s destilovanou vodou, aby se oddělila hlína od kořenů a zároveň kořeny nebyly poškozené. Poté byly pokládány na ubrousek a nechali se mírně vysušit (obr.5), změřila se délka nejdelšího kořene každé rostliny a stanovila se průměrná délka kořenů pro všechny zkoušené vzorky i pro kontrolní vzorek podle rovnice (4). Průměrná délka kořene zkoušených vzorků se porovnávala s průměrnou délkou kořene kontrolního vzorku. Dále byla vypočítaná průměrná klíčivost (1), koeficient rozptylu pro klíčivost podle rovnice (2), koeficient rozptylu pro délku kořene zkoušeného vzorku a kontrolního vzorku podle rovnice (5). [ČSN EN 16086-2]. Výsledky byly zaznamenány do tabulek (tab.6). Následně byla oddělená biomasa od kořenů a zvážená její hmotnost na analytických váhách (Sartorius, Německo) s přesností čtyř desetín.



Obrázek 10: Vyklíčená semena v den ukončení experimentu. Z aplikace perlitu na povrch půdy se upustilo, z důvodu následné obtížnosti kontroly vlhkosti v nádobě. [Brezinová, 2020]



Obrázek 11: Měření délky kořenů po 14 dnech, kolagenový hydrolyzát (vlevo), keratinový hydrolyzát (uprostřed), kontrolní vzorek – pitná převařená voda (vpravo). [Brezinová, 2020]

- Průměrná klíčivost a koeficient rozptylu pro klíčivost

(1)

$$ARG = \frac{GR1 + GR2 + \dots}{x} * 100$$

kde

ARG – klíčivost [%]

GR – počet vzklíčených semen

x – celkový počet semen

(2)

$$CVG = \frac{\sqrt{\frac{\sum(GR - ARG)^2}{2}}}{ARG} * 100$$

kde

CVG – koeficient rozptylu pro klíčení [%]

- Průměrná délka kořene a koeficient rozptylu pro délku kořene

$$ARLP = \frac{RLP1 + RLP2 + \dots}{x}$$

(4)

kde

ARLP – průměrná délka kořene [mm]

x – celkový počet semen

$$CVR = \sqrt{\frac{\sum(RLP - ARLP)^2}{2}} \cdot 100$$

(5)

kde

CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene [%]

5 DISKUZE VÝSLEDKŮ

V této kapitole jsou vyhodnocené výsledky testů účinku hydrolyzátů na vybrané vyšší rostliny, které byly statisticky zpracované a prezentované formou grafů a tabulek. Jako kontrola byla použita pitná převařená voda bez obsahu testovaných hydrolyzátů a bez živin. Testy byly základní, tj. screeningové, od kterých se bude vyvíjet další výzkum. Tato práce obsahuje menší rozsah experimentů, než bylo původně plánováno z důvodů vládního opatření dočasného omezení výuky na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně v souvislosti s výskytem nemoci COVID-19. Tato skutečnost je zohledněna v cílech práce (kap. 3)

5.1 Test klíčivosti na Petriho miskách

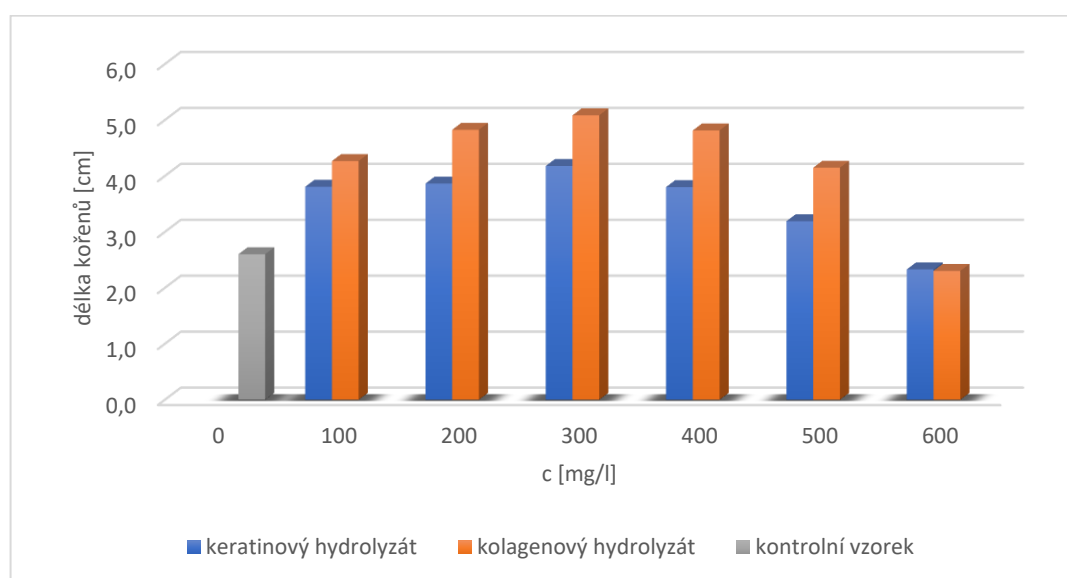
Cílem pokusu bylo získat poznatky o účinku bílkovinných hydrolyzátů na klíčivost semen vybraných druhů rostlin, neboť jednou z možných aplikací těchto látek je výroba tzv. výsevných pásek. Tyto materiály jsou obvykle na bázi syntetických polymerů, které jsou špatně biologicky rozložitelné a představují tak zátěž pro životní prostředí. Bílkovinné hydrolyzáty mohou být použity pro přípravu směsných polymerních materiálů čímž dojde nejen ke snížení emisí syntetických polymerů do životního prostředí, ale zároveň také ke snížení používání syntetických hnojiv, neboť bílkovinné hydrolyzáty mají cca 15 % obsah organicky vázaného dusíku.

V rámci těchto experimentů bylo testováno šest koncentrací keratinového a kolagenového hydrolyzátu.

5.1.1 Řeřicha setá (*Lepidium sativum*)

Po 72hodinové inkubaci byl stanoven počet vzklíčených semen a změřena délka kořenů. Test byl proveden celkem dva krát. V tabulkách 12 a 13 byly zaznamenány počty vyklíčených semen na konci pokusu. Průměrná klíčivost u obou testovaných hydrolyzátů se pohybovala v rozmezí od 80 % do 95 %. Nejlepší klíčivost (95 %) byla u semen řeřichy ošetřených keratinovým hydrolyzátem s koncentrací 600 mg/l a semena ošetřená kolagenovým hydrolyzátem měla nejlepší klíčivost (95 %) s koncentrací 400 mg/l. Méně úspěšnou klíčivost měla semena řeřichy ošetřená keratinovým hydrolyzátem s koncentrací

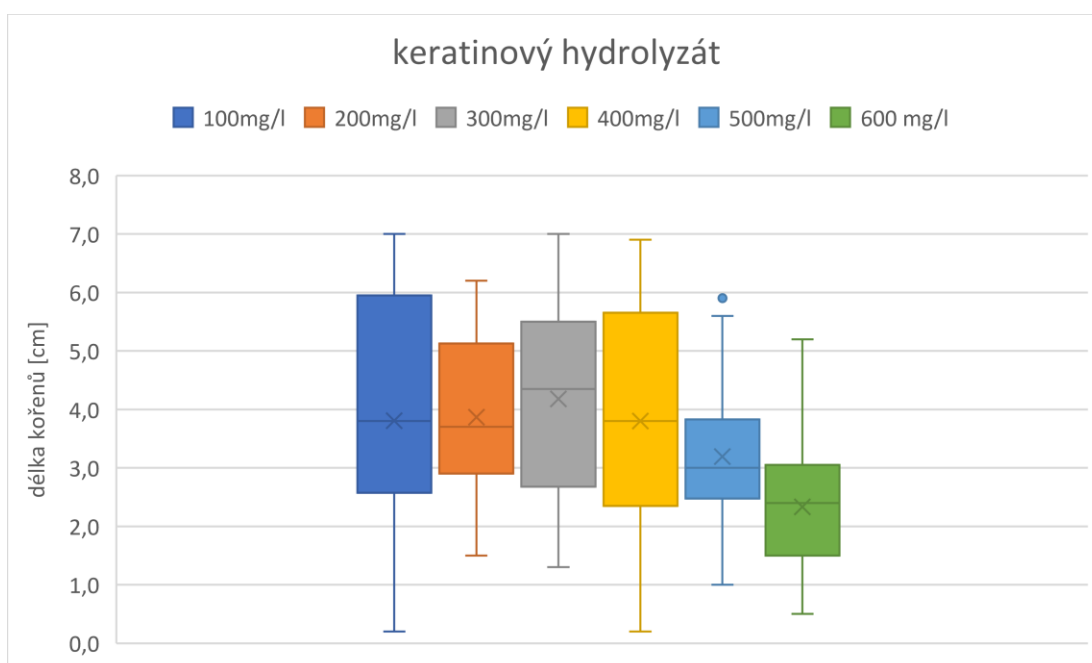
100 mg/l a po aplikaci kolagenového hydrolyzátu s koncentrací rovněž 100 mg/l. Nejvyšší hodnoty délky kořenů bylo dosaženo pro koncentraci hydrolyzátu keratinového 300 mg/l což odpovídá obsahu dusíku 37,89 mg/l v prvním testu a 37,38 mg/l v druhém testu (přepočítáno na skutečnou navážku). U kolagenového hydrolyzátu bylo dosaženo nejdelších kořenů rovněž pro koncentraci 300 mg/l což odpovídá koncentraci dusíku 48,93 mg/l u prvního testu a 48,12 mg/l u druhého testu (přepočítáno na skutečnou navážku). Při porovnání s kontrolou – převařenou pitnou vodou (bez přítomnosti testovaných hydrolyzátů a bez živin) je patrný 37,2 % nárůst u keratinového hydrolyzátu a 48,4 % nárůst u kolagenového hydrolyzátu. Na obrázku 12 je vidět klesající účinnost hydrolyzátů na délku kořenů v závislosti se zvyšující se koncentrací. Při vzájemném porovnání hydrolyzátů v rámci koncentrací s nejvyšší účinností na délku kořene došlo při aplikaci kolagenového hydrolyzátu k 17,8% nárůstu v porovnání s keratinovým hydrolyzátem. Toto navýšení by mohlo být přisuzováno vyššímu obsahu dusíku v kolagenovém hydrolyzátu. Cca 1,5% obsah síry v keratinovém hydrolyzátu neměl výrazný vliv na klíčivost ve srovnání s kolagenovým hydrolyzátem neobsahujícím síru.



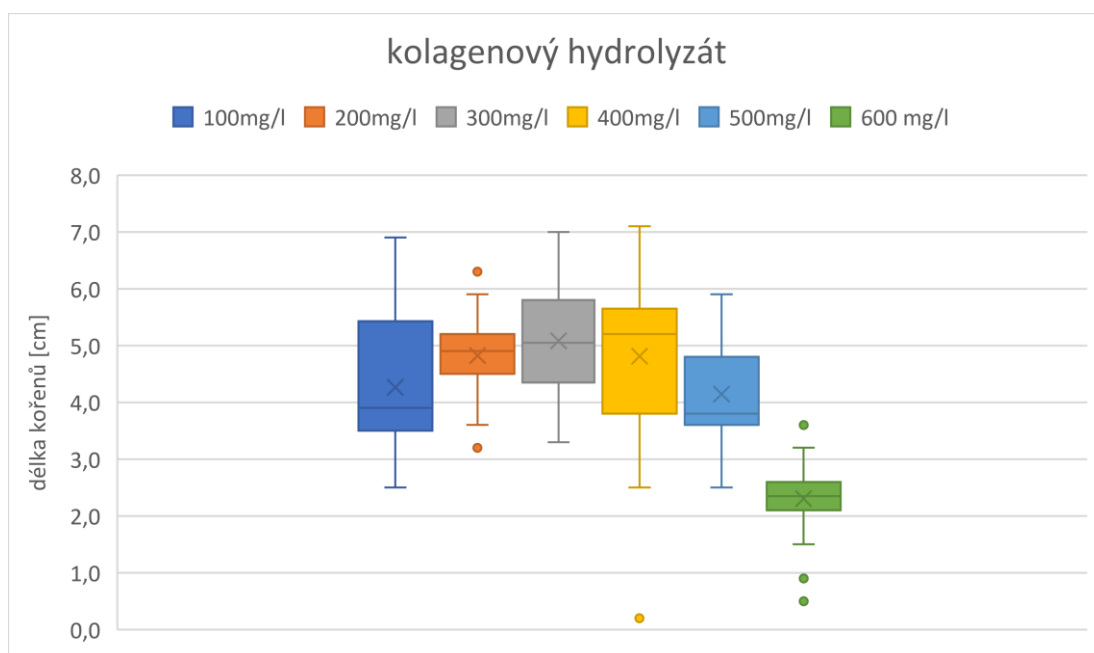
Obrázek 12: Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene řeřichy seté pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.

Na obrázku č.13 a č.14 jsou naměřená data statisticky zpracovaná a prezentovaná formou krabicového diagramu (*Box-Plot*). Diagram zobrazuje odlehle hodnoty (tečky mimo čtverec),

keré by mohly zkreslit standardně statisticky vypočítaná data. Někdy jsou pro vznik odlehlých hodnot objektivní technicko – provozní důvody (vč. lidského faktoru). Nicméně v testu klíčivosti mohou být zapříčiněny nižší vitalitou některých semen, odrůdou rostlin nebo chemickou úpravou semen (moření). Další informací, kterou diagram znázorňuje je medián (vodorovná čára ve čtverci), poloha mediánu rozděluje hodnoty a určuje jejich asymetrii, čím dále je hodnota od mediánu, tím má větší odchylku. V neposlední řadě z obrázku 13 a obrázku 14 lze určit průměr hodnot (\bar{x}) a rozptyl, co je prostor mezi chybovými úsečkami a čím menší je jejich vzdálenost, tedy mezi horním a dolním kvartilem, tím je rozptyl dat menší. Hodnoty naměřené u keratinového hydrolyzátu lze vyhodnotit jako způsobilé, avšak hodnoty naměřené u kolagenového hydrolyzátu jsou zatížené chybou, způsobenou odlehlými hodnotami. Na základě informací získaných z obrázku 12 a statistického zpracování dat, lze spíše hovořit o jistém trendu, tj. s rostoucí koncentrací aplikovaného roztoku hydrolyzátu dochází ke snižování pozitivního účinku na klíčivost řeřichy seté.



Obrázek 13: Hodnoty délky kořenů u rostlin řeřichy seté ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.



Obrázek 14: Hodnoty délky kořenů u rostlin řeřichy seté ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.

Tabulka 12: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řeřichy seté po ošetření keratinovým hydrolyzátem.

Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>)	keratinový hydrolyzáte											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	6,40	3,70	5,40	5,20	1,30	5,70	5,90	5,70	3,00	5,90	3,80	2,60
	6,40	6,00	5,90	5,40	7,00	6,20	5,50	5,20	3,90	5,60	3,20	3,50
	7,00	6,20	4,70	3,00	7,00	4,80	3,00	5,50	2,40	4,80	5,20	2,10
	6,00	5,80	3,80	4,40	2,50	6,20	6,50	5,70	1,70	5,60	2,20	1,90
	2,20	4,20	4,80	2,50	5,60	6,20	6,20	5,50	2,50	5,30	3,80	2,80
	5,50	3,80	4,20	2,90	5,20	5,20	5,90	4,90	3,80	5,10	3,80	2,50
	3,90	3,20	6,20	3,50	5,00	5,70	5,90	4,80	1,00	2,00	2,50	2,40
	0,20	3,80	4,90	4,20	5,00	5,10	3,80	3,80	2,00	3,20	0,50	2,60
10 semen/PM			5,30	5,90	4,30	4,40	6,90	5,90		2,90	2,20	2,40
											3,50	2,10
	3,70	3,80	4,60	1,50	4,90	4,00	3,50	0,30	2,00	1,00	1,50	2,50
	6,00	3,60	1,50	3,20	2,90	3,60	3,60	0,50	3,50	2,50	3,20	1,40
	6,20	2,90	5,20	2,90	3,00	3,20	3,54	0,20	3,00	2,20	1,40	1,50
	5,80	3,50	2,50	2,50	3,20	2,50	3,20	1,60	2,60	3,10	1,20	1,50
	4,20	2,80	2,80	2,60	2,50	1,50	3,60	1,20	2,80	3,00	0,80	2,00
	0,20	0,50	3,80	3,10	1,50	2,20	3,90	3,60	2,60	3,50	2,50	2,10
0,50	0,90	2,50	3,00	2,50	2,60	2,50	3,80	2,50	3,90	1,90	1,00	
0,40	2,50	3,60	5,20	3,60	6,00	0,20	2,20	3,20	3,80	2,60	3,10	
		3,50	2,90	3,20	5,10	0,50	2,30		2,60	0,50	3,50	
										0,50	2,9	
počet vyklíčených semen	16	16	18	18	18	18	18	18	16	18	18	20
ARLP – průměrná délka kořene	3,806		3,864		4,178		3,801		3,191		2,330	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	4,42		1,58		2,44		3,98		1,44		1,07	
ARG – průměrná klíčivost [%]	80		90		90		90		85		95	
CVG – koeficient rozptylu pro klíčivost	32,00		8,00		8,00		8,00		18,00		2,00	
Směrodatná odchylka	2,09		1,27		1,61		2,00		1,26		1,03	

Tabulka 13: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řeřichy seté po ošetření kolagenovým hydrolyzátem.

Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>)	kolagenový hydrolyzát											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	6,20	3,50	5,60	5,30	4,30	5,70	5,90	5,20	4,80	5,90	2,60	2,30
	6,20	3,60	5,90	5,10	7,00	6,20	5,50	5,30	4,60	5,60	3,10	2,60
	6,90	3,80	5,20	3,20	7,00	4,80	3,00	5,90	3,60	4,80	3,20	2,30
	6,00	5,80	4,90	4,60	4,60	6,20	6,50	4,50	3,60	5,60	3,60	2,90
	5,20	4,30	4,20	3,60	5,60	6,20	6,20	4,60	3,80	5,30	3,10	2,90
	5,50	4,30	5,20	3,90	5,20	5,20	6,30	3,80	3,80	5,10	3,60	2,50
	3,90	3,50	6,30	4,20	5,00	5,70	7,10	3,20	5,20	4,60	2,60	2,40
	5,10	2,90	5,20	4,50	5,00	5,10	4,80	5,30	5,80	4,50	2,50	2,40
10 semen/PM			5,60	5,20	4,80	5,80	6,80	5,90		4,30		
	3,60	3,50	5,20	5,60	4,90	5,20	5,50	5,50	3,60	3,90	2,20	2,10
	5,90	4,20	3,20	5,20	3,90	5,10	5,60	3,60	3,60	3,50	2,00	2,00
	5,60	4,80	5,20	4,90	3,80	4,90	4,50	2,50	4,20	3,60	2,30	1,50
	2,50	3,60	4,20	4,50	4,50	7,00	5,20	2,80	4,80	3,10	2,10	2,30
	4,30	3,20	4,80	4,60	4,90	3,60	5,20	3,60	2,80	3,00	0,90	0,50
	2,50	3,50	4,80	5,20	6,20	3,60	4,90	0,20	2,50	3,50	2,50	0,60
	2,90	3,90	4,20	4,90	3,30	3,90	5,50	3,80	3,60	3,60	2,60	0,90
2,60	3,20	4,60	5,30	3,50	6,00	5,20	3,20	3,80	3,80	2,30	2,30	
		4,50	5,10	3,50	5,80	5,10	4,20		3,20			
						5,2						
počet vyklíčených semen	16	16	18	18	18	18	18	20	16	18	16	16
ARLP – průměrná délka kořene [cm]	4,266		4,825		5,083		4,813		4,147		2,303	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	1,46		0,48		1,10		1,94		0,74		0,61	
ARG – průměrná klíčivost [%]	80		90		90		95		85		80	
CVG – koeficient rozptylu pro klíčivost	32		8		8		2		18		32	
směrodatná odchylka	1,23		0,69		1,03		1,37		0,90		0,75	

Tabulka 14: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řeřichy seté – kontrolní vzorek

Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>)	kontrolní vzorek	
	test I.	test II.
10 semen/PM	3,40	2,50
	3,50	2,40
	3,20	2,70
	3,60	1,40
	3,60	1,90
	3,20	1,30
	3,10	2,50
	2,90	2,60
	2,80	3,10
	2,60	2,60
10 semen/PM	2,50	2,60
	2,80	2,30
	2,50	2,00
	3,10	0,50
	2,00	0,90
	2,20	2,10
	2,60	2,50
	3,10	2,90
	3,50	3,10
	3,50	3,30
počet vyklíčených semen	20	20
ARLP – průměrná délka kořene	2,623	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,52	
ARG – průměrná klíčivost [%]	100	
CVG – koeficient rozptylu pro klíčivost	0	
směrodatná odchylka	0,72	

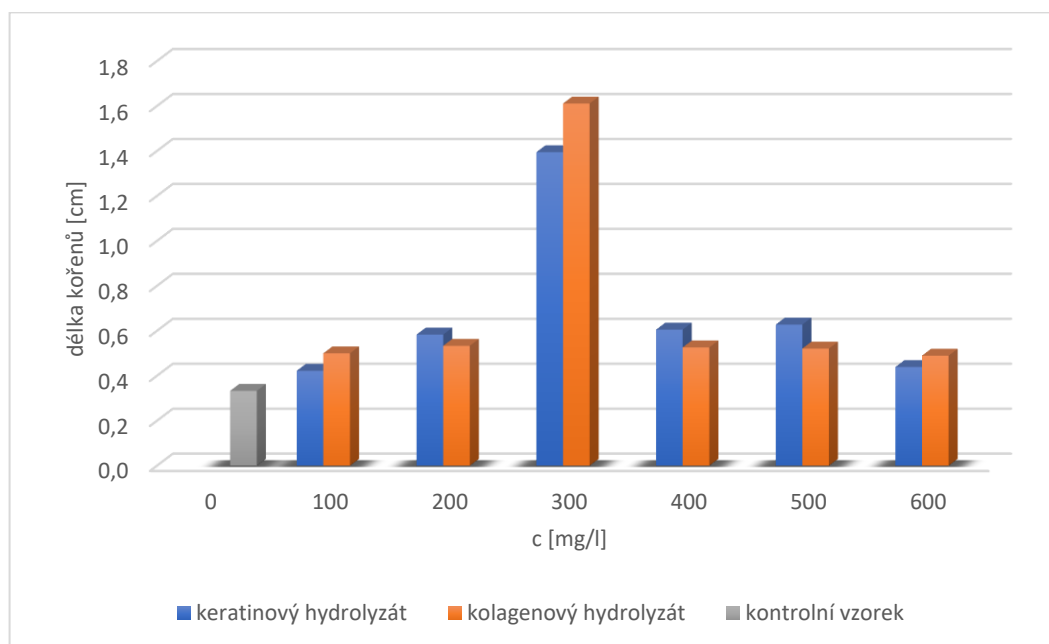
5.1.2 Rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum* L.)

Stejným způsobem, jak u testu klíčivosti řeřichy seté byl po 72hodinové inkubaci stanoven počet vyklíčených semen a změřena délka kořenů rajčat tyčkových (*Solanum lycopersicum* L.) Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 14 pro keratinový hydrolyzát a v tabulce 15 pro kolagenový hydrolyzát. Test byl proveden celkem dvakrát. Opět se potvrdilo, že koncentrace 300 mg/l je nejvíce prospěšná pro klíčení semen a délku kořenů, avšak v případě rajčete tyčkového s velkým rozdílem mezi aplikovanými koncentracemi viz. obrázek 15.

Průměrná klíčivost u obou testovaných hydrolyzátů se pohybovala v rozmezí od 90 % do 95 %. Nejlepší klíčivost (95 %) byla u semen rajčete ošetřených keratinovým hydrolyzátem s koncentrací 300 mg/l a 400 mg/l a semena ošetřená kolagenovým hydrolyzátem měla nejlepší klíčivost (95 %) pro koncentrací 400 mg/l a 500 mg/l. Méně vyklíčených semen (90 %) bylo po aplikaci keratinovým hydrolyzátem pro koncentraci 100 mg/l, 600 mg/l a po aplikaci kolagenového hydrolyzátu pro koncentraci 100 mg/l.

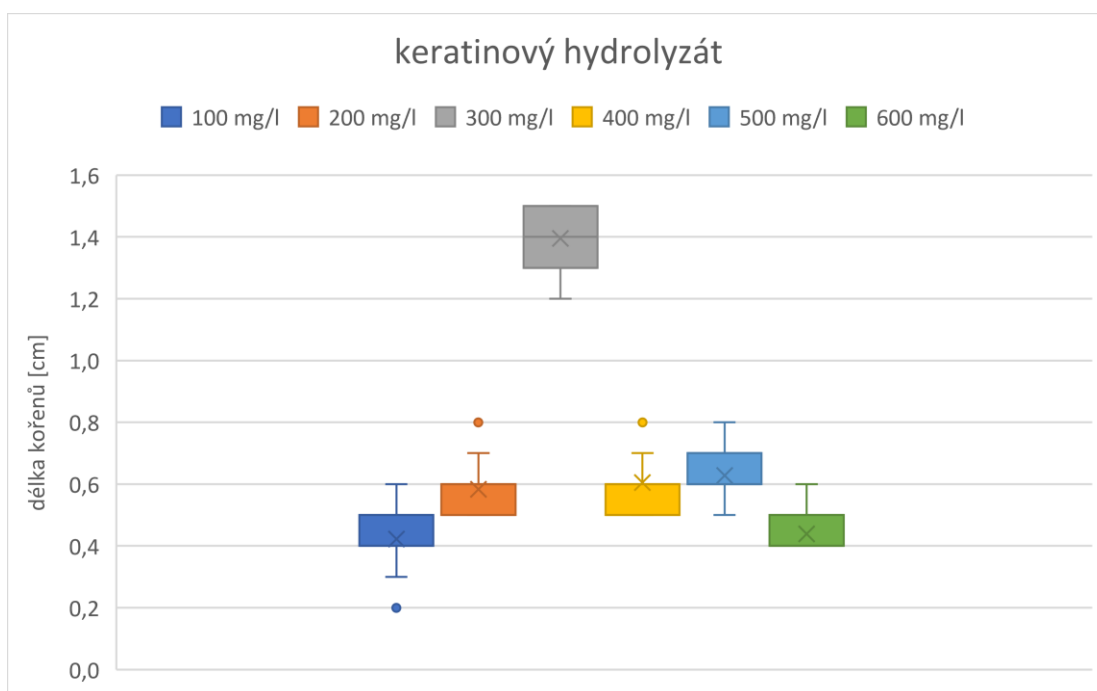
Nejvyšších hodnot délky kořenů bylo dosaženo pro koncentraci hydrolyzátu keratinového 300 mg/l což odpovídá obsahu dusíku 38,73 mg/l v prvním testu a 37,14 mg/l v druhém testu (přepočítáno na skutečnou navážku). Nejdelsích kořenů po ošetření kolagenového hydrolyzátu bylo dosaženo rovněž pro koncentraci 300 mg/l což odpovídá obsahu dusíku 49,44 mg/l u prvního testu a 48,87 mg/l u druhého testu (přepočítáno na skutečnou navážku).

Při porovnání obou hydrolyzátů s koncentrací s nejvyšší účinností má hodnota délky kořenů po ošetření kolagenového hydrolyzátu nárůst o 13,4 % v porovnání s keratinovým hydrolyzátem. Při porovnání s kontrolou – převařenou pitnou vodou (bez přítomnosti testovaných hydrolyzátů a živin) je vysoký 76,3 % nárůst u keratinového hydrolyzátu a 79,32 % nárůst u kolagenového hydrolyzátu viz. obrázek 15.

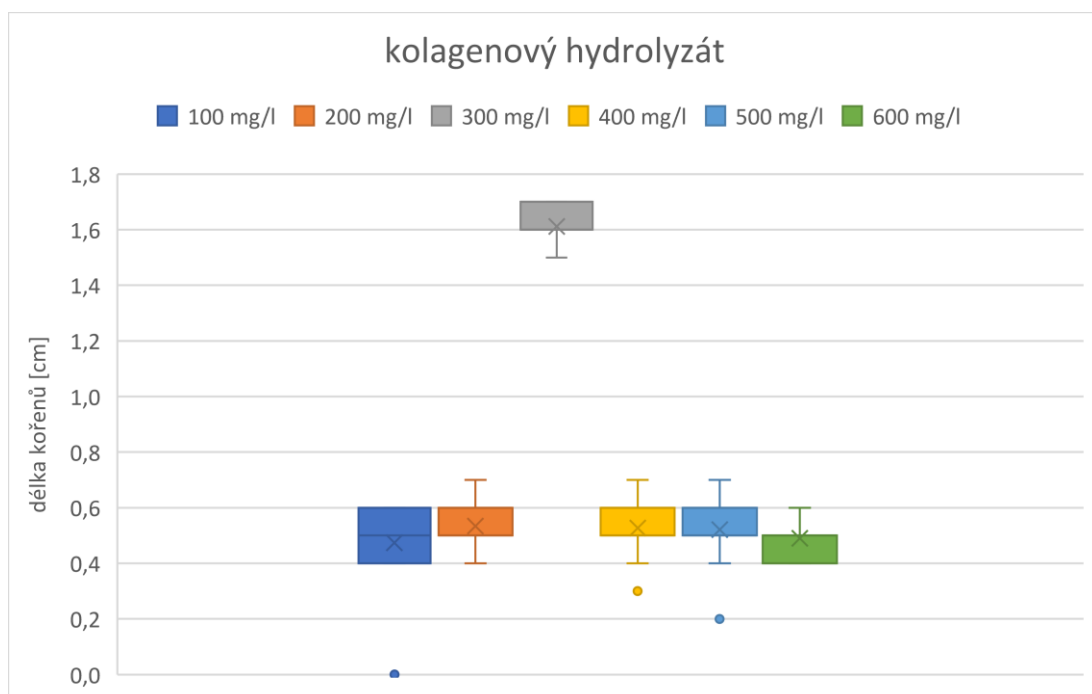


Obrázek 15: Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene rajčete tyčkového pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.

Příliš nízká koncentrace, nebo naopak zvyšující se koncentrace hydrolyzátu pod a nad 300 mg/l s obsahem dusíku 77,46 mg/l pro nejvyšší koncentraci 600 mg/l a 12,91 mg/l pro nejnižší koncentraci 100 mg/l keratinového hydrolyzátu a také u kolagenového hydrolyzátu s obsahem dusíku 98,88 mg/l pro nejvyšší koncentraci 600 mg/l a 16,48 mg/l pro nejnižší koncentraci 100 mg/l, má za následek snížení účinnosti klíčení a délku kořenů. Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 9. Tak jako u řerichy seté i v tomto případě byla naměřená data statisticky zpracovaná a prezentovaná formou krabicového diagramu – Box-Plotu (obr. 16, 17). Z údajů prezentovaných na obr. 16 a 17 lze říci, že u obou proteinových hydrolyzátů je rozptyl dat minimální, dá se tedy říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé a získané výsledky jsou statisticky významné. Na základě informací získaných z obr. 15 a statistického zpracování dat, lze říci, že pro klíčivost rajčete je důležité znát optimální aplikační dávku, neboť nižší či vyšší koncentrace roztoků hydrolyzátů nemají prakticky žádný efekt.



Obrázek 16: Hodnoty délky kořenů u rostlin rajčete tyčkového ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.



Obrázek 17: Hodnoty délky kořenů u rostlin rajčete tyčkového ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.

Tabulka 15: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém po ošetření keratinovým hydrolyzátem.

Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	keratinový hydrolyzátem											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	0,40	0,50	0,60	0,60	1,40	1,40	0,80	0,50	0,60	0,60	0,50	0,40
	0,40	0,50	0,60	0,60	1,40	1,40	0,80	0,60	0,60	0,60	0,50	0,50
	0,50	0,50	0,80	0,50	1,50	1,40	0,50	0,60	0,60	0,60	0,40	0,40
	0,50	0,30	0,60	0,70	1,50	1,30	0,70	0,60	0,70	0,70	0,40	0,40
	0,40	0,20	0,50	0,60	1,50	1,40	0,70	0,60	0,70	0,70	0,50	0,40
	0,60	0,30	0,60	0,50	1,50	1,50	0,60	0,60	0,50	0,70	0,40	0,60
	0,50	0,40	0,50	0,50	1,30	1,30	0,60	0,50	0,50	0,80	0,50	0,40
	0,40	0,40	0,50	0,60	1,40	1,30	0,60	0,60	0,60	0,60	0,40	0,40
	0,40	0,40	0,60	0,60	1,30	1,50	0,60	0,50	0,60	0,60	0,40	0,40
					1,20		0,50					
10 semen/PM	0,40	0,50	0,60	0,60	1,40	1,40	0,80	0,50	0,60	0,60	0,50	0,40
	0,40	0,50	0,60	0,60	1,40	1,40	0,80	0,60	0,60	0,60	0,50	0,50
	0,50	0,50	0,80	0,50	1,50	1,40	0,50	0,60	0,60	0,60	0,40	0,40
	0,50	0,30	0,60	0,70	1,50	1,30	0,70	0,60	0,70	0,70	0,40	0,40
	0,40	0,20	0,50	0,60	1,50	1,40	0,70	0,60	0,70	0,70	0,50	0,40
	0,60	0,30	0,60	0,50	1,50	1,50	0,60	0,60	0,50	0,70	0,40	0,60
	0,50	0,40	0,50	0,50	1,30	1,30	0,60	0,50	0,50	0,80	0,50	0,40
	0,40	0,40	0,50	0,60	1,40	1,30	0,60	0,60	0,60	0,60	0,40	0,40
	0,40	0,40	0,60	0,60	1,30	1,50	0,60	0,50	0,60	0,60	0,40	0,40
					1,20		0,50					
počet vyklíčených semen	18	18	18	18	20	18	20	18	18	18	18	18
<i>ARLP</i> – průměrná délka kořene	0,422		0,583		1,395		0,605		0,628		0,439	
<i>CVR</i> – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,01		0,01		0,01		0,01		0,01		0,00	
<i>ARG</i> – průměrná klíčivost [%]	90		90		95		95		90		90	
<i>CVG</i> – koeficient rozptylu pro klíčivost	8,00		8,00		2,00		2,00		8,00		8,00	
směrodatná odchylka	0,09		0,08		0,09		0,09		0,07		0,06	

Tabulka 16: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém po ošetření kolagenovým hydrolyzátem.

Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum L.</i>)	kolagenový hydrolyzátem											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	0,60	0,50	0,70	0,50	1,70	1,70	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,50
	0,60	0,40	0,60	0,50	1,70	1,60	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	0,60	0,40	0,70	0,60	1,60	1,70	0,60	0,50	0,40	0,50	0,60	0,50
	0,50	0,40	0,50	0,60	1,60	1,50	0,50	0,60	0,60	0,60	0,40	0,60
	0,40	0,50	0,50	0,60	1,60	1,50	0,50	0,40	0,50	0,40	0,40	0,50
	0,50	0,60	0,40	0,50	1,70	1,60	0,50	0,50	0,70	0,60	0,50	0,40
	0,50	0,60	0,40	0,50	1,70	1,60	0,60	0,50	0,70	0,50	0,50	0,50
	0,50	0,50	0,50	0,60	1,50	1,50	0,50	0,30	0,60	0,40	0,40	0,50
	0,50	0,40	0,40	0,50	1,60	1,60	0,50	0,60	0,50	0,20	0,40	0,50
10 semen/PM	0,60	0,50	0,70	0,50	1,70	1,70	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,50
	0,60	0,40	0,60	0,50	1,70	1,60	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	0,60	0,40	0,70	0,60	1,60	1,70	0,60	0,50	0,40	0,50	0,60	0,50
	0,50	0,40	0,50	0,60	1,60	1,50	0,50	0,60	0,60	0,60	0,40	0,60
	0,40	0,50	0,50	0,60	1,60	1,50	0,50	0,40	0,50	0,40	0,40	0,50
	0,50	0,60	0,40	0,50	1,70	1,60	0,50	0,50	0,70	0,60	0,50	0,40
	0,50	0,60	0,40	0,50	1,70	1,60	0,60	0,50	0,70	0,50	0,50	0,50
	0,50	0,50	0,50	0,60	1,50	1,50	0,50	0,30	0,60	0,40	0,40	0,50
	0,50	0,40	0,40	0,50	1,60	1,60	0,50	0,60	0,50	0,20	0,40	0,50
počet vyklíčených semen	18	18	18	18	18	20	18	20	18	20	18	
ARLP – průměrná délka kořene	0,500		0,533		1,611		0,526		0,521		0,489	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,01		0,01		0,01		0,01		0,01		0,00	
ARG – průměrná klíčivost [%]	90		90		90		95		95		95	
CVG – koeficient rozptylu pro klíčivost	8,00		8,00		8,00		2,000		2,000		2,00	
směrodatná odchylka	0,08		0,09		0,07		0,09		0,12		0,06	

Tabulka 17: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém – kontrolní vzorek

Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	kontrolní vzorek	
10 semen/PM	I.test	II.test
	0,40	0,30
	0,30	0,40
	0,40	0,40
	0,20	0,30
	0,20	0,40
	0,30	0,30
	0,50	0,40
	0,30	0,30
	0,20	0,40
10 semen/PM	0,40	0,30
	0,30	0,40
	0,40	0,40
	0,20	0,30
	0,20	0,40
	0,30	0,30
	0,50	0,40
	0,30	0,30
	0,20	0,40
	počet vyklíčených semen	18
ARLP – průměrná délka kořene	0,333	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,01	
ARG – průměrná klíčivost [%]	190	
CVG – koeficient rozptylu pro klíčivost	2,00	
směrodatná odchylka	0,08	

5.1.3 Paprika (*Capsicum annuum*)

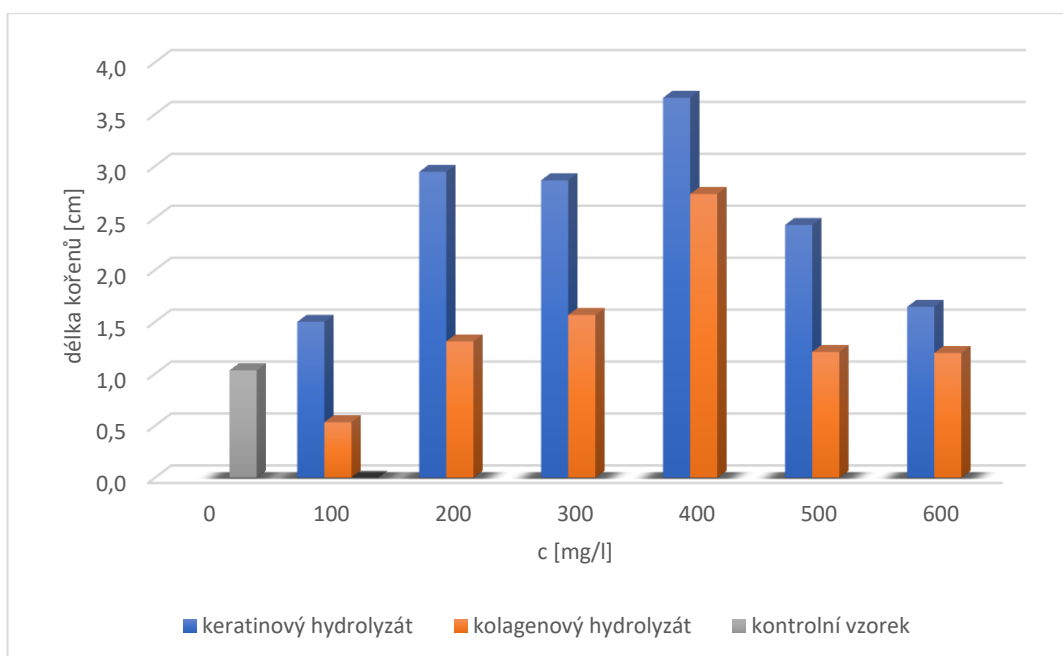
U testu klíčivosti papriky jsem zvolila delší čas pro klíčení (7 dnů), 72hodinová inkubace byla pro vyklíčení semen nedostačující. Po sedmi dnech byl stanoven počet vyklíčených semen a změřena délka kořenů papriky (*Capsicum annuum*) viz tabulka 18 pro keratinový hydrolyzát a tabulka 19 pro kolagenový hydrolyzát. Test byl proveden celkem dva krát. Výsledky ukázaly, že koncentrace 400 mg/l je nevíce prospěšná pro rychlost klíčení semen a délku kořene jak v případě keratinového, tak i kolagenového hydrolyzátu viz. obrázek 18.

Průměrná klíčivost semen po aplikaci testovaných hydrolyzátů se pohybovala v rozmezí od 90 % do 95 %. Nejlepší klíčivost (95 %) byla u semen papriky ošetřených keratinovým hydrolyzátem s koncentrací 300 mg/l a 400 mg/l a semena ošetřená kolagenovým hydrolyzátem měla nejlepší klíčivost (95 %) pro koncentraci 400 mg/l, 500 mg/l a 600mg/l. Méně vyklíčených semen (90 %) bylo po aplikaci keratinovým hydrolyzátem o nižší koncentraci 100-300 mg/l, nebo naopak vyšších koncentrací 500-600 mg/l. Po aplikaci kolagenového hydrolyzátu pro koncentraci 100-300 mg/l byla klíčivost 90 %.

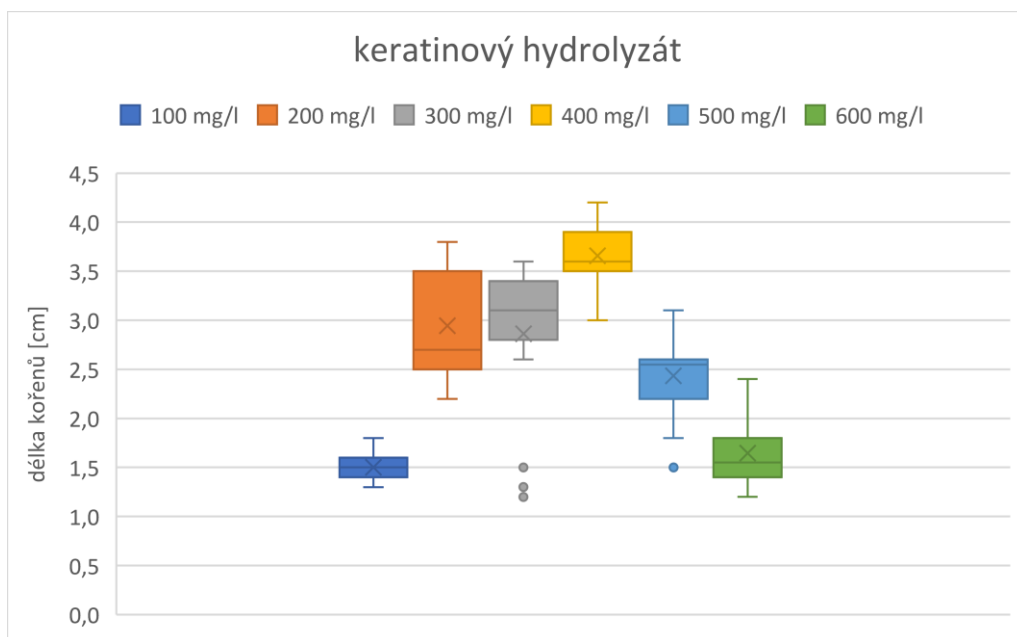
Nejvyšších hodnot délky kořenů bylo dosaženo pro koncentraci hydrolyzátu keratinového 400 mg/l což odpovídá obsahu dusíku 51,64 mg/l v prvním testu a 49,52 mg/l v druhém testu (přepočítáno na skutečnou navážku). Nejdělsích kořenů po ošetření kolagenového hydrolyzátu bylo dosaženo rovněž pro koncentraci 400 mg/ l což odpovídá koncentraci dusíku 65,92 mg/l u prvního testu a 65,16 mg/l u druhého testu (přepočítáno na skutečnou navážku).

Při porovnání účinků obou hydrolyzátů na klíčivost a délku kořene papriky bylo stanoveno, že koncentrace 400 mg/l roztoku keratinového hydrolyzátu vede k 25,31% nárůstu délky kořene v porovnání s nejúčinnější dávkou kolagenového hydrolyzátu (400 mg/l). Při porovnání s kontrolou – převařenou pitnou vodou (bez přítomnosti testovaných hydrolyzátů a živin) je nárůst dokonce až 71,8 % oproti keratinovému hydrolyzátu a 62,2 % oproti kolagenového hydrolyzátu viz. obrázek 18. Z údajů prezentovaných na obr.19 a 20 lze říci, že u obou proteinových hydrolyzátů je rozptyl dat minimální, dá se tedy říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé a získané výsledky jsou statisticky významné.

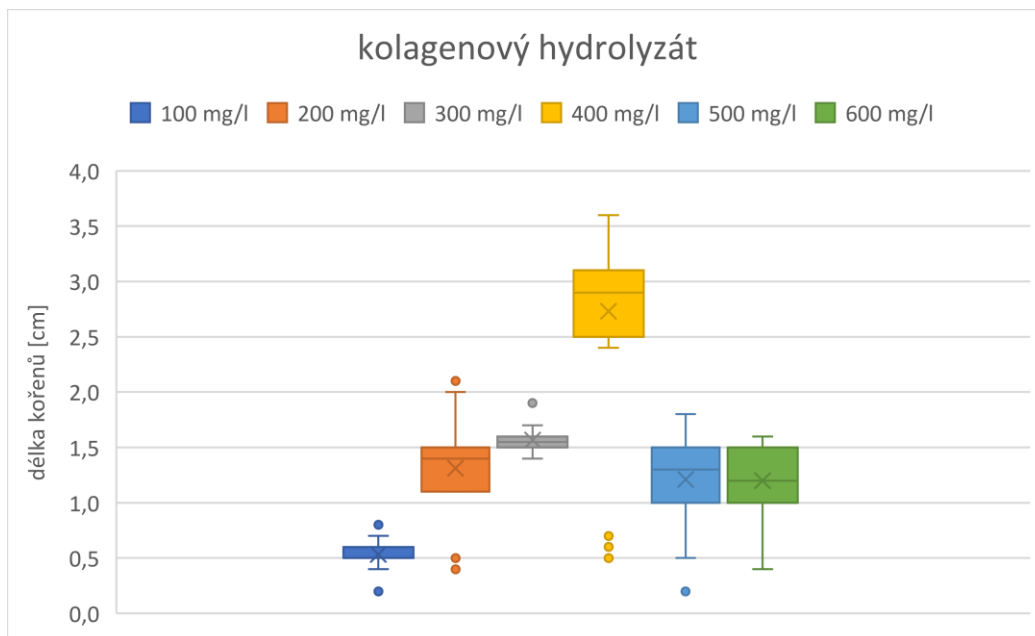
Tento statisticky významný rozdíl mezi účinky keratinového a kolagenového hydrolyzátu může být přisuzován cca 1,5% obsahu síry. Výsledky získané v rámci tohoto testu jsou tak v souladu, s již publikovanými pracemi. Např. v bakalářské práci Petra Jakšíka, uplatnění síry ve výživě zeleniny, byly uvedeny výsledky experimentu účinků hnojiv síranu draselného a komerčního prostředku Pregibs H, které zvýšili výnos plodů v porovnání s kontrolou o 10 %. [Peter Jakšík, 2006].



Obrázek 18: Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene papriky pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.



Obrázek 19: Hodnoty délky kořenů u rostlin papriky ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.



Obrázek 20: Hodnoty délky kořenů u rostlin papriky ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.

Tabulka 18: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky po ošetření keratinovým hydrolyzátem.

Paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	keratinový hydrolyzát											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	1,50	1,40	2,50	3,40	3,50	3,60	4,10	4,20	3,10	2,50	1,50	1,50
	1,40	1,30	2,20	3,20	3,40	3,50	3,90	3,80	2,50	2,80	1,60	1,30
	1,60	1,30	2,50	3,50	3,20	3,20	4,00	4,00	2,90	1,50	1,40	1,50
	1,50	1,30	2,40	3,50	3,10	3,10	3,80	3,80	2,60	2,40	1,40	1,60
	1,60	1,60	3,50	2,40	3,10	3,20	3,00	3,50	2,60	2,10	1,80	1,60
	1,80	1,50	3,80	2,80	2,90	3,50	3,20	3,40	2,80	1,90	1,60	1,50
	1,60	1,60	3,60	2,50	2,80	2,90	3,50	3,60	2,30	1,80	1,20	1,30
	1,60	1,60	3,60	2,40	2,60	2,80	3,60	3,50	2,20	2,60	2,10	1,90
	1,40	1,40	2,60	2,60	1,30	1,50	3,60	3,50	2,60	2,60	2,40	2,40
					1,20		3,50					
10 semen/PM	1,50	1,40	2,50	3,40	3,50	3,60	4,10	4,20	3,10	2,50	1,50	1,50
	1,40	1,30	2,20	3,20	3,40	3,50	3,90	3,80	2,50	2,80	1,60	1,30
	1,60	1,30	2,50	3,50	3,20	3,20	4,00	4,00	2,90	1,50	1,40	1,50
	1,50	1,30	2,40	3,50	3,10	3,10	3,80	3,80	2,60	2,40	1,40	1,60
	1,60	1,60	3,50	2,40	3,10	3,20	3,00	3,50	2,60	2,10	1,80	1,60
	1,80	1,50	3,80	2,80	2,90	3,50	3,20	3,40	2,80	1,90	1,60	1,50
	1,60	1,60	3,60	2,50	2,80	2,90	3,50	3,60	2,30	1,80	1,20	1,30
	1,60	1,60	3,60	2,40	2,60	2,80	3,60	3,50	2,20	2,60	2,10	1,90
	1,40	1,40	2,60	2,60	1,30	1,50	3,60	3,50	2,60	2,60	2,40	2,40
					1,20		3,50					
počet vyklíčených semen	18	18	18	18	20	18	20	18	18	18	18	18
ARLP – průměrná délka kořene	1,500		2,944		2,863		3,658		2,433		1,644	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,02		0,30		0,53		0,08		0,16		0,12	
ARG – průměrná klíčivost [%]	90		90		95		95		90		90	
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	8,00		8,00		2,00		2,00		8,00		8,00	
směrodatná odchylka	0,14		0,54		0,72		0,30		0,40		0,35	

Tabulka 19: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky po ošetření kolagenovým hydrolyzátem.

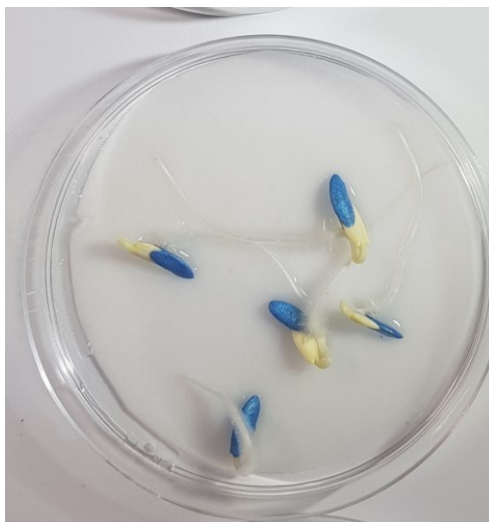
Paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	kolagenový hydrolyzát											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
10 semen/PM	0,50	0,40	1,10	0,50	1,50	1,40	3,50	3,00	1,50	1,50	1,50	1,40
	0,50	0,50	1,10	1,20	1,90	1,60	2,80	3,20	1,20	1,60	1,20	1,20
	0,70	0,50	1,20	1,30	1,60	1,50	2,50	3,20	1,40	1,50	1,00	1,20
	0,60	0,60	1,50	1,60	1,70	1,50	2,40	3,60	1,00	1,40	1,00	1,20
	0,80	0,40	1,40	1,50	1,50	1,50	2,80	3,10	1,00	1,40	1,20	1,20
	0,20	0,60	2,00	1,40	1,50	1,50	2,60	3,10	1,10	1,30	1,50	1,60
	0,50	0,60	2,10	1,50	1,70	1,60	2,40	3,10	1,50	1,20	1,60	1,60
	0,60	0,70	1,90	1,40	1,60	1,40	2,90	2,90	0,90	1,80	1,50	1,50
	0,50	0,40	0,40	0,50	1,60	1,60	0,50	0,60	0,50	0,20	0,40	0,50
10 semen/PM	0,50	0,40	1,10	0,50	1,50	1,40	3,50	3,00	1,50	1,50	1,50	1,40
	0,50	0,50	1,10	1,20	1,90	1,60	2,80	3,20	1,20	1,60	1,20	1,20
	0,70	0,50	1,20	1,30	1,60	1,50	2,50	3,20	1,40	1,50	1,00	1,20
	0,60	0,60	1,50	1,60	1,70	1,50	2,40	3,60	1,00	1,40	1,00	1,20
	0,80	0,40	1,40	1,50	1,50	1,50	2,80	3,10	1,00	1,40	1,20	1,20
	0,20	0,60	2,00	1,40	1,50	1,50	2,60	3,10	1,10	1,30	1,50	1,60
	0,50	0,60	2,10	1,50	1,70	1,60	2,40	3,10	1,50	1,20	1,60	1,60
	0,60	0,70	1,90	1,40	1,60	1,40	2,90	2,90	0,90	1,80	1,50	1,50
	0,50	0,40	0,40	0,50	1,60	1,60	2,50	2,60	0,50	1,20	0,40	0,50
počet vyklíčených semen	18	18	18	18	18	18	20	18	20	18	20	18
ARLP – průměrná délka kořene	0,533		1,311		1,567		2,732		1,211		1,200	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,02		0,22		0,01		0,52		0,15		0,14	
ARG – průměrná klíčivost [%]	90		90		90		95		95		95	
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	8,00		8,00		8,00		2,000		2,000		2,00	
směrodatná odchylka	0,14		0,47		0,12		0,72		0,38		0,37	

Tabulka 20: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky – kontrolní vzorek

Paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	kontrolní vzorek	
	test I.	test II.
10 semen/PM	1,50	0,80
	1,20	0,50
	1,40	1,10
	1,20	0,50
	1,20	0,50
	1,50	0,90
	1,40	0,40
	1,30	0,90
	1,30	0,90
	10 semen/PM	1,50
1,20		0,50
1,40		1,10
1,20		0,50
1,20		0,50
1,50		0,90
1,40		0,40
1,30		0,90
1,50		0,90
počet vyklíčených semen		18
ARLP – průměrná délka kořene	1,033	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,14	
ARG – průměrná klíčivost [%]	90	
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	8	
směrodatná odchylka	0,37	

5.1.4 Okurka nakladačka (*Cucumis sativus*)

V prvním pokusu byla použita namořená semena okurky nakladačky (*Cucumis sativus*) (obr. 21), což způsobilo že hodnoty druhého testu byly zcela odlišné, a tudíž výsledky prvního testu nebyly ověřené. Mořidlo je chemická látka (přesná specifikace nebyla na obalu uvedena), která mohla interagovat s bílkovinným hydrolyzátem, a to byl důsledek toho, že hodnoty pro každou koncentraci byly rozdílné v obou provedených pokusech. Jednou byla prospěšná koncentrace 100 mg/l a u druhého testu zase 400 mg/l s vysokými až 90 % rozdíly mezi semeny této koncentrace (0,5 cm a 4,5cm).

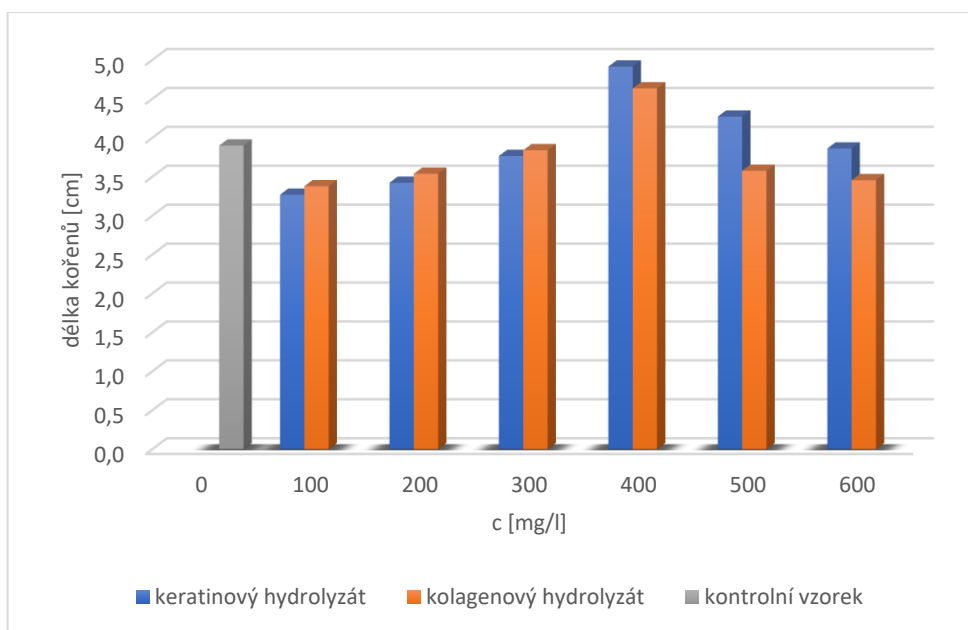


Obrázek 21: Namořená semena okurky nakladačky (*Cucumis sativus*)

Pro další test byla vybrána jiná odrůda okurky nakladačky (*Cucumis sativus*), která již nebyla namořená, po 72hodinové inkubaci byla spočítána vzklíčená semena a změřena délka kořenů, hodnoty byly statisticky zpracované viz. tabulka 21 pro keratinový hydrolyzát a tabulka 22 pro kolagenový hydrolyzát. Průměrná klíčivost u obou testovaných hydrolyzátů se pohybovala v rozmezí od 80 % do 100 %. Výsledky ukázaly, že nejpozitivnější účinek na klíčivost semen okurky je po ošetření keratinovým hydrolyzátem koncentrací 400 mg/l a to 100 % a po ošetření kolagenovým hydrolyzátem koncentrací 300 mg/l a 400 mg/l také 100 %. Méně pozitivní účinek pro klíčivost semen 80 % byla u obou bílkovinných hydrolyzátů pro koncentraci 600 mg /l.

Nejvyšších hodnot délky kořenů bylo dosaženo pro koncentraci hydrolyzátu keratinového 400 mg/l což odpovídá obsahu dusíku 50,52 mg/l v prvním testu a 49,84 mg/l v druhém testu (přepočítáno na skutečnou navážku). Nejdelších kořenů po ošetření kolagenového hydrolyzátu bylo dosaženo rovněž pro koncentraci 400 mg/l což odpovídá koncentraci dusíku 65,24 mg/l u prvního testu a 64,16 mg/l u druhého testu (přepočítáno na skutečnou navážku).

V tomto testu byl keratinový hydrolyzát nejúčinnější, což by mohlo být opět přisuzováno obsahu 1,5% obsahu síry. Při porovnání s nejlepším výsledkem obou hydrolyzátů (400 mg/l) mají hodnoty délky kořenů keratinového hydrolyzátu nárůst o 5,7 % v porovnání s kolagenovým hydrolyzátem. Při porovnání s kontrolou – převařenou pitnou vodou (bez přítomnosti testovaných hydrolyzátů) je nárůst 21,2 % u keratinového hydrolyzátu a 16,40 % nárůst u kolagenového hydrolyzátů viz. obrázek 22.



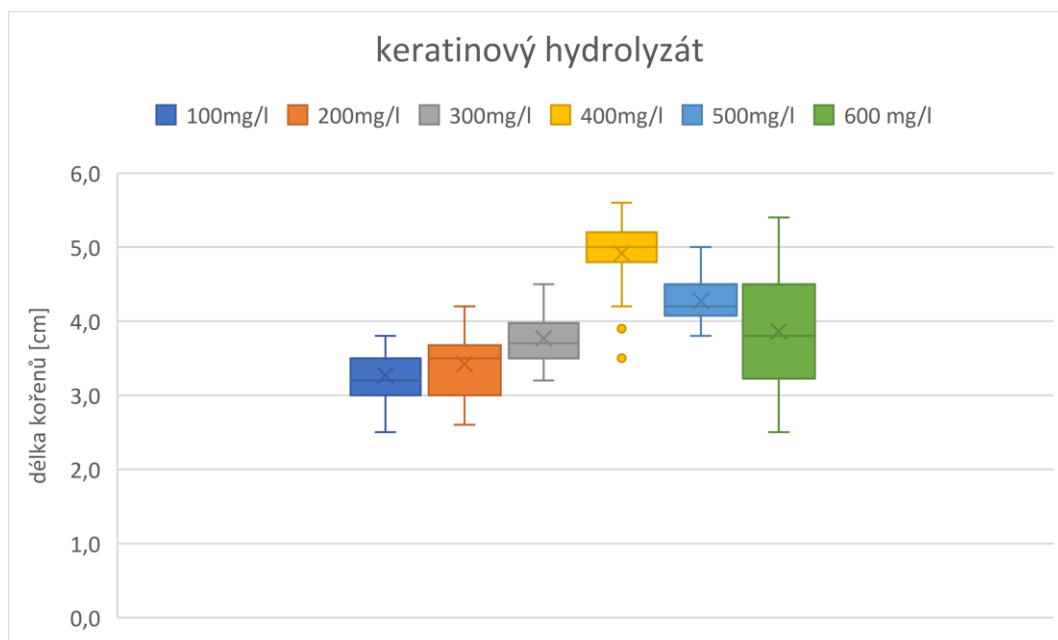
Obrázek 22: Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene okurky nakladačky(nemořené) pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.

Opět se potvrdilo, že příliš nízká koncentrace, nebo naopak zvyšující se koncentrace pod a nad 400 mg/l s obsahem dusíku 75,78 mg/l pro nejvyšší koncentraci (600 mg/l) a 12,63 mg/l pro nejnižší koncentraci (100 mg/l) keratinového hydrolyzátu a také u kolagenového hydrolyzátu s obsahem dusíku 97,86 mg/l pro nejvyšší koncentraci (600 mg/l) a 16,31 mg/l

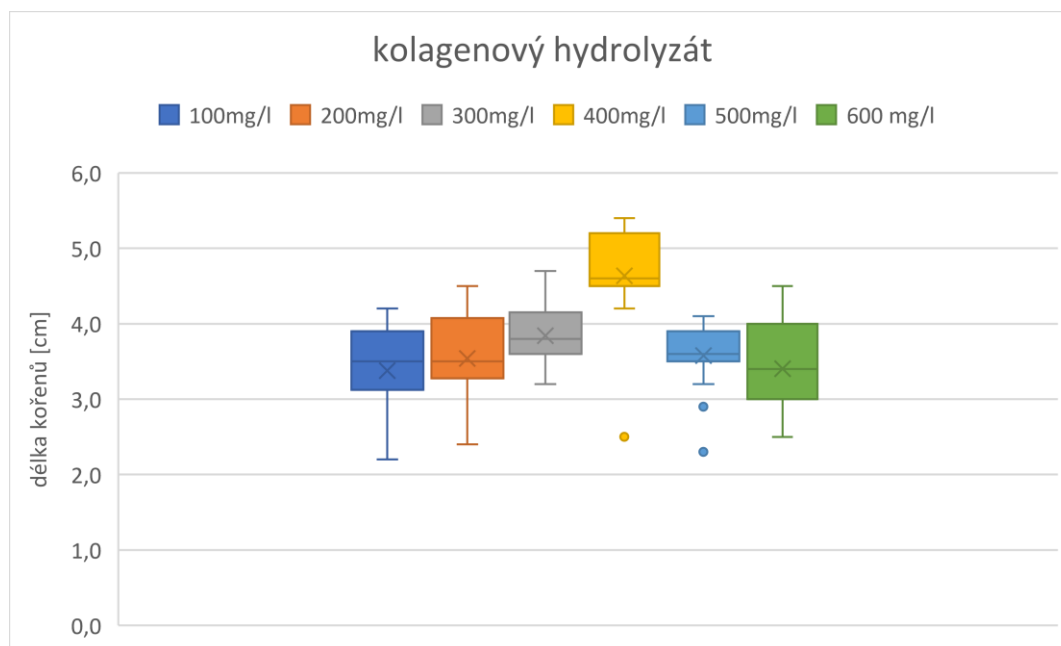
pro nejnižší koncentraci (100 mg/l), má za následek snížení účinnosti na klíčení a délce kořenů. Přesné hodnoty objemů dusíku každé koncentrace jsou uvedeny v tabulce 3 v experimentální části. Z údajů prezentovaných na obr.24 a 25 lze říci, že u obou proteinových hydrolyzátů je rozptyl dat minimální, dá se tedy říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé a získané výsledky jsou statisticky významné. V tomto testu byly kořeny nejen nejdélsí, ale vizuálně působily mohutně, vitálně a měly spoustu postranních kořínků.



Obrázek 23: Fotografie – porovnání délky kořene okurky nakladačky (nemořené) při aplikaci optimální koncentrace keratinového a kolagenového hydrolyzátu.



Obrázek 24: Hodnoty délky kořenů u rostlin okurky nakladačky ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.



Obrázek 25: Hodnoty délky kořenů u rostlin okurky nakladačky ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.

Tabulka 21: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky po ošetření keratinovým hydrolyzátem.

Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>)	keratinový hydrolyzát											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
5 semen/PM	3,00	3,20	3,50	3,00	3,50	3,50	4,20	5,10	4,00	4,30	4,50	3,70
	3,00	3,00	3,50	4,00	3,30	4,50	5,20	4,90	4,20	4,20	4,50	5,40
	2,50	2,90	3,50	3,00	4,50	3,50	5,00	5,30	4,40	3,90	4,40	4,00
	3,40	3,40	3,00	3,50	3,80	3,80	5,20	5,00	4,40	5,00	4,50	3,30
	3,50		3,50		4,50		4,90	4,60	4,20			
5 semen/PM	3,20	3,80	3,40	3,20	3,90	4,20	5,20	3,90	4,20	4,50	3,20	2,90
	3,00	3,60	4,20	2,60	3,90	3,60	4,90	3,50	4,50	4,50	3,50	4,90
	3,50	3,20	3,60	3,90	3,50	3,20	5,50	4,80	3,90	4,20	3,40	2,50
	3,70	3,50	3,10	4,20	3,20	3,50	4,80	5,50	4,60	4,10	3,20	3,90
	3,80	2,90	2,90		3,90		5,60	5,20	3,80			
počet vyklíčených semen	10	9	10	8	10	8	10	10	10	8	8	8
<i>ARLP</i> – průměrná délka kořene	3,268		3,422		3,767		4,915		4,272		3,863	
<i>CVR</i> – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,13		0,22		0,20		0,28		0,09		0,68	
<i>ARG</i> – průměrná klíčivost [%]	95		90		90		100		90		80	
<i>CVG</i> – koeficientu rozptylu pro klíčivost	0,50		2,00		2,00		0,00		2,00		8,00	
směrodatná odchylka	0,35		0,45		0,43		0,53		0,29		0,79	

Tabulka 22: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky po ošetření kolagenovým hydrolyzátem.

Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>)	kolagenový hydrolyzát											
	100 mg/l		200 mg/l		300 mg/l		400 mg/l		500 mg/l		600 mg/l	
	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.	test I.	test II.
5 semen/PM	2,30	3,20	4,20	4,20	4,20	4,20	4,50	4,50	3,70	3,60	4,50	4,00
	2,20	3,20	3,20	3,70	4,70	3,70	5,40	4,60	3,90	3,50	3,40	2,50
	3,90	4,20	3,50	2,40	4,00	3,20	5,20	4,30	4,00	3,50	4,50	3,50
	3,40	3,90	4,50	2,90	3,50	3,50	4,50	5,30	3,90	3,20	3,00	3,00
	3,50				3,70	3,70	4,90	4,20		3,80	3,50	
5 semen/PM	3,90	2,50	4,20	3,50	3,90	4,20	4,60	4,60	3,60	3,70	2,50	3,10
	2,90	3,60	3,50	3,60	3,90	3,60	5,30	4,20	2,30	4,10	3,40	4,50
	3,20	3,90	2,60	3,60	3,50	3,80	5,20	2,50	2,90	3,50	4,10	3,40
	3,70	3,50	3,50	3,50	4,20	3,80	4,50	4,60	3,50	4,10	3,20	3,60
	3,80				3,90	3,60	4,60	5,20				2,50
počet vyklíčených semen	10	8	8	8	10	10	10	10	8	9	8	9
ARLP – průměrná délka kořene	3,378		3,538		3,840		4,635		3,576		3,456	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,30		0,31		0,11		0,45		0,23		0,39	
ARG – průměrná klíčivost [%]	90		80		100		100		85		85	
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	2,00		8,00		0,000		0,000		4,50		4,50	
směrodatná odchylka	0,58		0,58		0,34		0,63		0,45		0,66	

Tabulka 23: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky – kontrolní vzorek

Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>)	kontrolní vzorek	
	test I.	test II.
5 semen/PM	3,80	3,00
	2,50	4,90
	3,90	4,60
	4,50	4,00
	3,90	4,60
5 semen/PM	4,20	4,20
	2,90	3,90
	3,60	4,50
	2,90	4,50
	4,60	2,50
počet vyklíčených semen	10	10
ARLP – průměrná délka kořene	3,875	
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene	0,57	
ARG – průměrná klíčivost [%]	100	
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	0	
směrodatná odchylka	0,75	

5.1.5 Porovnání výsledků testu klíčivosti pro různé rostliny

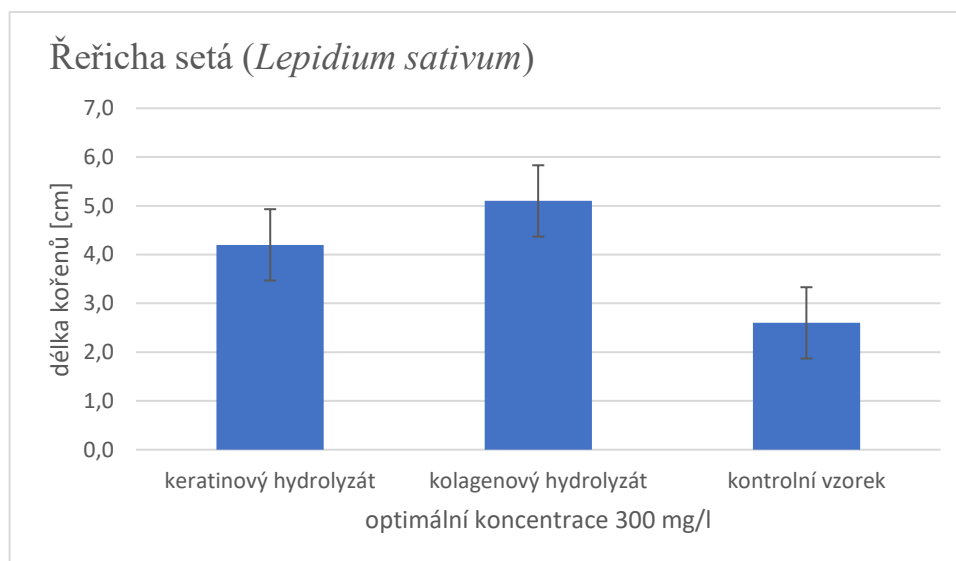
Tabulka 24: Optimální koncentrace testovaných bílkovinných hydrolyzátů.

Rostlina	Kolagenový hydrolyzát		Keratinový hydrolyzát		
	optimální koncentrace [mg/l]	obsah N [mg/l]	optimální koncentrace [mg/l]	obsah N [mg/l]	obsah S [mg/l]
Řeřicha setá (<i>Lepidium sativum</i>)	300	48,93	300	37,89	0,004
Rajče tyčkové (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	300	49,44	300	38,73	0,004
Paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	400	65,92	400	51,64	0,005
Okurka nakladačka (<i>Cucumis sativus</i>)	400	65,24	400	50,52	0,005

U řeřichy seté a rajčete tyčkového byla výsledná optimální koncentrace stanovena na 300 mg/l, což představuje v keratinovém hydrolyzátu obsah dusíku cca 38 mg/l, obsah síry 0,004 mg/l a v kolagenovém hydrolyzátu cca obsah dusíku 49 mg/l.

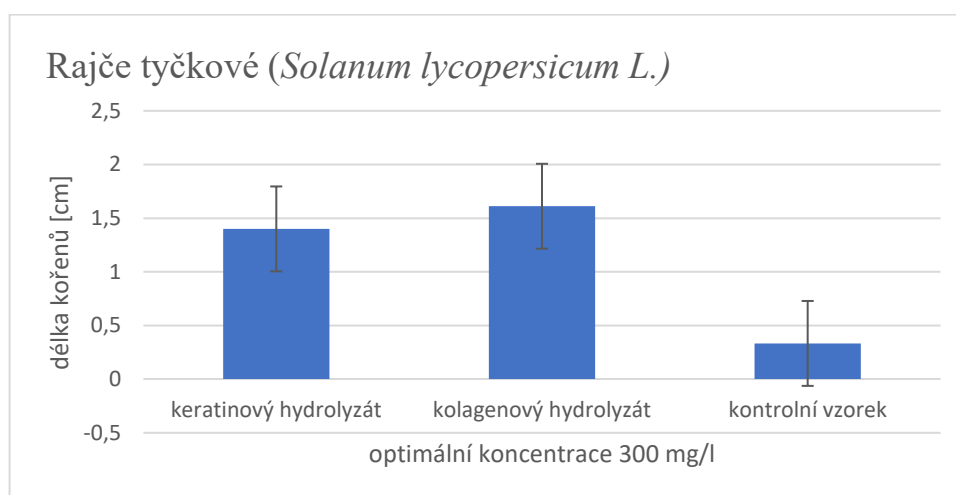
V testu klíčivosti okurky nakladačky a papriky byla stanovena optimální koncentrace 400 mg/l, což představuje obsah dusíku o něco vyšší cca 65 mg/l kolagenového hydrolyzátu a obsah dusíku cca 51 mg/l spolu s obsahem síry 0,05 mg/l keratinového hydrolyzátu.

Z toho vyplývá, že pravděpodobně rozhodujícím faktor pro účinnost klíčení a růstu kořene nebude pouze obsah dusíku, ale pravděpodobně i chemické složení samotného hydrolyzátu.



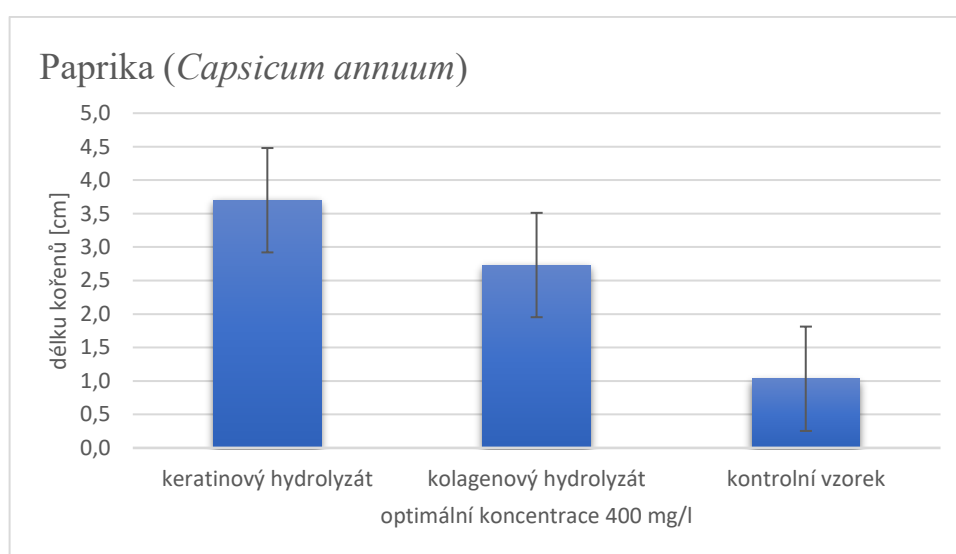
Obrázek 26: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr \pm směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – *Řeřicha setá*

Na obrázku 26 je znázorněné porovnání kontrolního vzorku – převařená pitná voda bez přídavku bílkovinných hydrolyzátů s optimální koncentrací obou hydrolyzátů aplikovaných na řeřichu setou. Je zřejmé, že obsah dusíku byl rozhodujícím faktorem, kolagenový hydrolyzát má 17 % nárůst a keratinový hydrolyzát 53,5% nárůst v porovnání s kontrolním vzorkem.



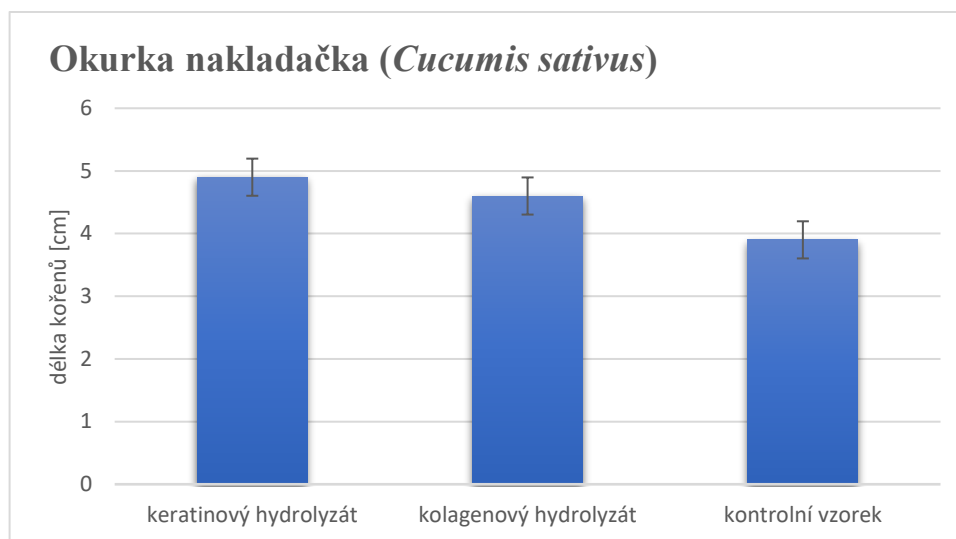
Obrázek 27: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr \pm směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – *Rajče tyčkové*

Semena rajčete tyčkového ošetřena testovanými hydrolyzáty měla viditelné rozdíly v délce kořenů v porovnání s kontrolním vzorkem – převařená pitná voda bez přídavku bílkovinných hydrolyzátů. Kolagenový hydrolyzát má 79,5 % nárůst a keratinový hydrolyzát má 76,4% nárůst v porovnání s kontrolním vzorkem.



Obrázek 28: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr \pm směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Paprika

Na obrázku 28 je vidět velký rozdíl mezi kontrolním vzorkem a semeny papriky ošetřené testovanými hydrolyzáty. Kolagenový hydrolyzát měl 62,2 % nárůst a keratinový hydrolyzát měl 72 % nárůst v porovnání s kontrolním vzorkem. V tomto testu byl keratinový hydrolyzát účinnější na délku kořenů v porovnání s kolagenovým hydrolyzátem.



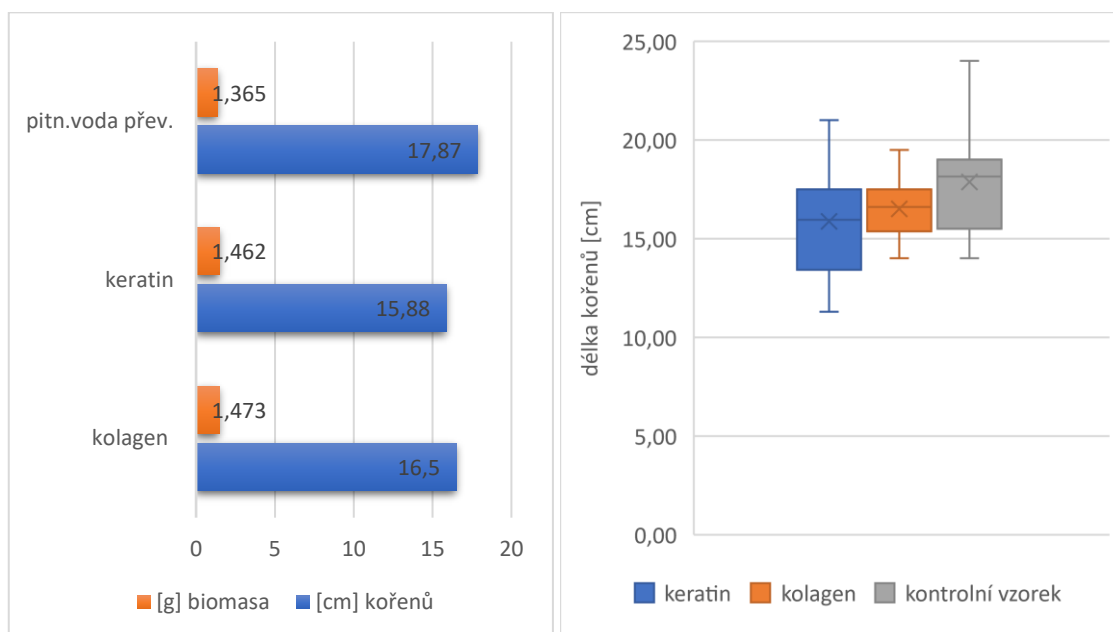
Obrázek 29: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr \pm směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Okurka nakladačka

V posledním testu klíčivosti byla testována semena okurky nakladačky a grafické znázornění na obrázku 29. Udává výsledek aplikace optimální koncentrace, kde je vidět, že mezi testovanými hydrolyzáty je zanedbatelný rozdíl, kdežto v porovnání s kontrolním vzorkem je 20 % nárůst.

5.2 Inhibice růstu kořene

V tomto experimentu byla sledována účinnost bílkovinných hydrolyzátů na růst kořene ječmenu setého (*Hordeum vulgare*), o předem určené koncentrace 1500 mg/l hydrolyzátu, aby byla dosažena koncentrace dusíku přibližně 200mg/l, která byla aplikována v odlišné fázi růstu. Tato koncentrace byla zvolena na základě postupu uvedeného v ČSN EN ISO 11269-1 pro tzv. živný roztok zajišťující optimální podmínky pro růst rostlin. Přesná koncentrace dusíku obou hydrolyzátů je uvedena v tabulce 11 v experimentální části. U prvního testu byly hydrolyzáty aplikovány formou zálivky hned po zasetí (50ml), pak bylo zavlažováno po dobu 14 dnů jenom pitnou převařenou vodou. Výsledky po uplynutí 14 dnů ukázaly, že testované proteinové hydrolyzáty neměly na délku kořenů téměř žádný vliv, dokonce byly v porovnání s kontrolním vzorkem, - zavlažovaný pitnou převařenou vodou o

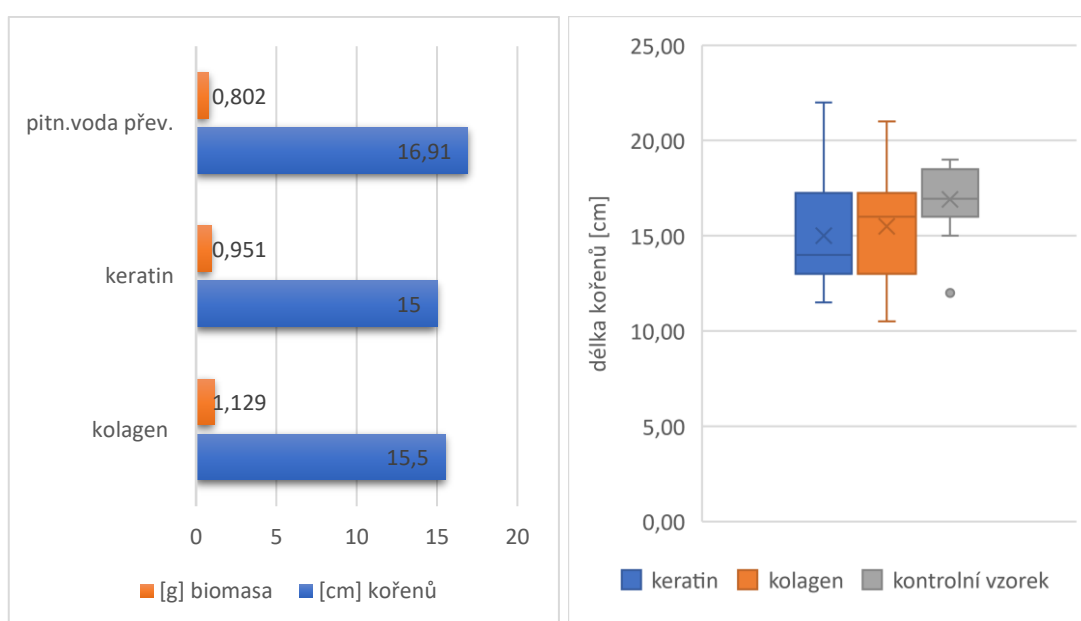
12 % kratší. Avšak výsledky tohoto testu ukázaly, že proteinové hydrolyzáty mají pozitivní účinek na objem biomasy. Na obrázku 25 je vidět, že kontrolní vzorek měl o 7,5 % menší biomasu, rostlina se soustředila v růstu spíše do výšky a vzorky ošetřené proteinovými hydrolyzáty měly listy kratší a širší. Mezi keratinovým a kolagenovým hydrolyzátem v objemu biomasy nebyly téměř žádné rozdíly, avšak kořeny ječmene setého (*Hordeum vulgare*) ošetřené kolagenovým hydrolyzátem byly o 3 % delší v porovnání s keratinovým hydrolyzátem. Z údajů prezentovaných na obrázku 30 (vpravo) lze říci, že u obou proteinových hydrolyzáatů je rozptyl dat minimální, tedy dá se říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé. Nicméně rozdíly mezi naměřenými daty (délka kořenů) jsou statisticky nevýznamné.



Obrázek 30: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzáatů hned po zasetí (vlevo), výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo)

Vzhledem k tomu, že bílkovinné hydrolyzáty patří do skupiny v půdě snadno biologicky rozložitelných látek, je velká pravděpodobnost, že v době klíčení ječmene setého došlo k jejich biologickému rozkladu, a tudíž nemohly být rostlinou plnohodnotně využity. Z tohoto důvodu bylo ve druhém testu přistoupeno k odlišnému postupu. Testované hydrolyzáty byly aplikovány formou závlivky až 24 hodin po zasetí (50 ml) poté byly vyklíčené rostliny po dobu 14 dnů zavlažovány jenom pitnou převařenou vodou. Výsledky

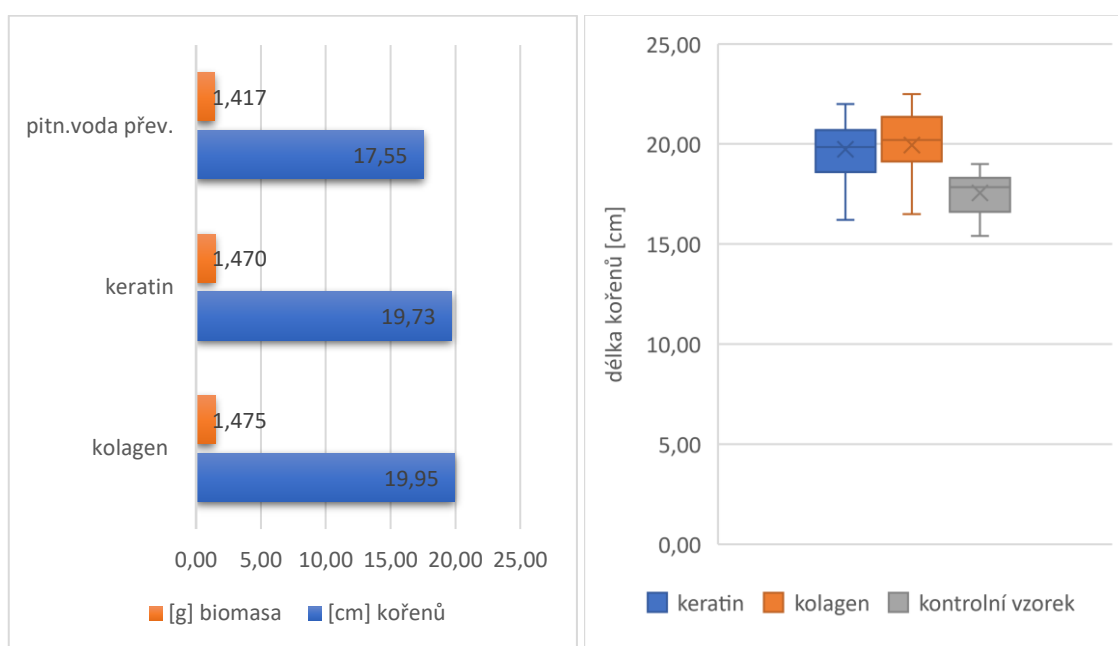
po uplynutí 14 dnů ukázaly, že testované proteinové hydrolyzáty opět neměly na inhibici kořene žádný vliv, naměřené hodnoty délky kořenů a hmotnost biomasy jsou uvedené v tab. 26 a byly téměř stejné jako u prvního testu inhibice kořenů po aplikaci zkoumaných vzorků hydrolyzátů hned po zasetí. Z údajů prezentovaných na obrázku 31 (vpravo) lze říci, že u obou proteinových hydrolyzátů je rozptyl dat minimální, tedy dá se říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé. Nicméně rozdíly mezi naměřenými daty (délka kořenů) jsou statisticky nevýznamné.



Obrázek 31: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzátů 24 hod. po zasetí (vlevo), výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo)

U třetího testu byly bílkovinné hydrolyzáty aplikovány formou zálivky až po vzklíčení semen (velikost rostliny cca 1 cm). Výsledky po uplynutí 14 dnů (obr. 27) ukázaly, že testované proteinové hydrolyzáty měly prokazatelně prospěšný účinek na délku kořenů a hmotnost biomasy, dokonce byly v porovnání s kontrolním vzorkem, zavlažovaným pitnou převařenou vodou o 12% delší a biomasa o 4 % objemnější. Mezi testovanými proteinovými hydrolyzáty nebyl hmatatelný rozdíl v délce kořenů a hmotnosti biomasy. Z údajů prezentovaných na obrázku 32 (vpravo) lze říci, že u obou proteinových hydrolyzátů je rozptyl dat minimální, tedy dá se říci, že naměřené hodnoty jsou způsobilé a získané

výsledky jsou statisticky významné. Lze tedy konstatovat, že testovaná koncentrace obou hydrolyzátů, a tedy i jejich obsah dusíku byla pro růst ječmene setého dostačující, akorát je rozhodující, ve které fázi vývoje rostliny se hydrolyzát aplikuje, aby byl maximálně využit jeho potenciál, než dojde k jeho biologickému rozkladu v půdním prostředí. Je nezbytné provést ještě řadu dalších testů případně zvolit jiné koncentrace bílkovinných hydrolyzátů, nebo jiný způsob aplikace (pravidelné zalévání hydrolyzátem konkrétní koncentrace a objemu).



Obrázek 32: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzátů po vyklíčení (vlevo) výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo)

Tabulka 25: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – hned po zasetí.

Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>)	keratin				kolagen				kontrolní vzorek			
	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]
aplikace hydrolyzátů hned po zasetí	16,50	16,50	15,50	1,4840	15,00	15,50	14,00	1,4477	15,00	17,50	15,50	1,2681
	15,50	11,30	12,30	1,3991	17,00	17,00	16,70	1,4496	14,00	16,50	19,00	1,6549
	17,00	13,20	16,50	1,5029	19,00	14,50	19,50	1,5212	18,30	18,00	24,00	1,1710
	20,00	14,60	19,00		16,50	17,50	17,50		18,30	19,00	15,50	
	19,00	13,00	15,00		16,50	15,50	16,50		19,00	18,50	18,00	
	21,00	13,50	16,40		16,90	14,00	17,90		19,50	21,00	15,00	
počet vyklíčených semen	8	10	10		8	10	10		8	10	10	
<i>ARLP</i> – průměrná délka kořene a průměrná hmotnost biomasy	15,88			1,46	16,50			1,47	17,87			1,36
<i>CVR</i> – koeficient rozptylu pro délku kořene a hmotnosti biomasy	7,23			0,00	2,39			0,00	5,84			0,07
<i>ARG</i> – průměrná klíčivost [%]	93				93				93			
<i>CVG</i> – koeficientu rozptylu pro klíčivost	2,00				2,00				2,00			
směrodatná odchylka	2,69			0,06	1,55			0,04	2,42			0,26

Tabulka 26: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – 24 hodin po zasetí

Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>)	keratin				kolagen				kontrolní vzorek			
	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]
aplikace hydrolyzátů po												
24 hod. po zasetí	17,00	12,00	14,00	0,9558	16,00	17,00	17,00	0,9181	19,00	16,00	17,50	0,8829
	12,50	22,00	14,00	0,9015	17,00	12,00	15,00	1,3257	16,00	19,00	16,90	0,7547
	13,00	18,50	15,50	0,9964	21,00	10,50	13,50	1,1430	16,00	16,00	17,00	0,7678
	21,00	13,00	11,50		19,50	16,00	18,00		18,50	18,00	16,50	
	14,00	14,00	14,00		18,00	13,00	13,00		19,00	15,00	12,00	
	13,00	18,00	13,00		14,00	16,50	12,00		18,50	17,50	16,00	
počet vyklíčených semen	10	10	8		10	8	10		10	10	8	
<i>ARLP</i> – průměrná délka kořene a průměrná hmotnost biomasy	15,00			0,95	15,50			1,13	16,91			0,80
<i>CVR</i> – koeficient rozptylu pro délku kořene a hmotnosti biomasy	9,35			0,00	7,97			0,04	3,07			0,00
<i>ARG</i> – průměrná klíčivost [%]	93				93				93			
<i>CVG</i> – koeficientu rozptylu pro klíčivost	2,00				2,00				2,00			
směrodatná odchylka	3,06			0,05	2,82			0,20	1,75			0,07

Tabulka 27: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – po vyklíčení.

Ječmen setý (<i>Hordeum vulgare</i>)	keratin				kolagen				kontrolní vzorek			
	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]	V1 [cm]	V2 [cm]	V3 [cm]	biomasa [g]
aplikace hydrolyzátů po vzklíčení semen	20,60	19,80	21,30	1,4856	22,30	20,50	21,60	1,4523	19,00	16,50	18,30	1,3968
	21,30	20,50	20,50	1,4237	19,30	18,60	20,50	1,4512	18,00	17,50	19,00	1,4547
	16,20	18,30	19,80	1,5014	16,50	20,50	19,50	1,5201	18,00	17,80	18,40	1,3985
	22,00	19,50	18,60		22,50	19,50	17,50		17,60	16,60	17,90	
	21,00	18,60	19,90		20,50	21,30	21,50		16,60	18,30	18,00	
	19,20	17,50	20,50		19,30	17,80	19,90		15,40	17,60	15,40	
počet vyklíčených semen	8	10	10		8	10	10		8	10	10	
ARLP – průměrná délka kořene a průměrná hmotnost biomasy	19,73			1,47	19,95			1,47	17,55			1,42
CVR – koeficient rozptylu pro délku kořene a hmotnosti biomasy	2,16			0,00	2,69			0,00	1,12			0,00
ARG – průměrná klíčivost [%]	93				93				93			
CVG – koeficientu rozptylu pro klíčivost	2,00				2,00				2,00			
směrodatná odchylka	1,47			0,04	1,64			0,04	1,06			0,03

ZÁVĚR

V rámci diplomové práce byl zkoumán vliv bílkovinných hydrolyzátů na růst a vývoj vyšších rostlin při aplikaci různých koncentrací zkoušených hydrolyzátů. Testy byly základní a výsledky určují směr dalšího výzkumu.

Výsledky prokázaly prospěšné účinky na klíčivost a délku kořenů a také do jaké míry je koncentrace proteinových hydrolyzátů účinná anebo ne-účinná pro růst rostliny v porovnání s kontrolním vzorkem. V experimentu klíčení na Petriho miskách byly testovány různé koncentrace hydrolyzátů. Z výsledků těchto testů byla stanovená optimální koncentrace prospěšná pro klíčivost a rychlejší růst kořene. Řeřicha setá a rajče tyčkové dosáhli nejvyšších hodnot klíčivosti a délky kořenů pro koncentraci 300 mg/l s obsahem dusíku 38 ± 1 mg/l v keratinovém hydrolyzátu a s obsahem dusíku 48 ± 1 mg/l v kolagenovém hydrolyzátu. Okurka nakladačka a paprika dosáhli nejvyšších hodnot klíčivosti a délky kořenů pro koncentraci 400 mg/l s obsahem dusíku 50 ± 1 mg/l v keratinovém hydrolyzátu a s obsahem dusíku 65 ± 1 mg/l v kolagenovém hydrolyzátu. V porovnání optimálních hodnot s kontrolním vzorkem byl nárůst zřetelný. Hodnoty délky kořenů mezi kolagenovým a keratinovým hydrolyzátem nebyly statisticky významné v testu řeřichy seté, rajčete tyčkového a okurky nakladačky, i přesto lze vysledovat jistý trend, kdy pozitivnější účinek byl zaznamenán pro aplikaci kolagenového hydrolyzátu. Na druhou stranu v testu se semeny papriky jsou zřetelné rozdíly, již statisticky významné, s vyšším výnosem u keratinového hydrolyzátu.

V experimentu inhibice růstu kořene byl testován účinek bílkovinných hydrolyzátů na ječmen setý, po aplikaci testovaných vzorků – hydrolyzátů formou závlivky do půdy. Na rozdíl od testu klíčivosti byla určena jedna koncentrace obou hydrolyzátů, avšak jejich aplikace byla provedena ve třech různých fázích růstu. Pozitivní účinek na růst kořenů nebyl prokázán při aplikaci hydrolyzátů hned po zasetí (test I.) ani při aplikaci testovaných hydrolyzátů 24 hodin po zasetí (test II.). V porovnání s kontrolním vzorkem měly kořeny ošetřené kolagenovým nebo keratinovým hydrolyzátem o 10,5 % menší hodnoty v prvním testu a o 11,3 % ve druhém testu. Při vzájemném srovnání účinků keratinového a kolagenového hydrolyzátu u prvního a druhého testu nebyly zaznamenány téměř žádné rozdíly v délce kořenů. Vyššího nárůstu rychlosti růstu kořenů ječmene setého bylo dosaženo, až u třetího testu, kde byl keratinový nebo kolagenový hydrolyzát aplikován až po vyklíčení semen. Hodnoty dosahovaly v porovnání s kontrolním vzorkem 12 % nárůst.

Součástí experimentu bylo i vyhodnocení objemu biomasy. V prvním testu (aplikace hned po zasetí) byl nárůst biomasy o 7,9 % u obou hydrolyzátů v porovnání s kontrolním vzorkem, ve druhém testu (aplikace 24 hodin po zasetí) byl nárůst vyšší o 15 % při aplikaci keratinového hydrolyzátu a o 29 % při aplikaci kolagenového hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem. Ve třetím testu (aplikace po vzklíčení) byl nárůst objemu biomasy o 3,4 % u obou hydrolyzátů v porovnání s kontrolním vzorkem. Z tohoto pohledu se ukázalo, že rozhodující je doba aplikace hydrolyzátů na růst rostlin ječmene setého. Při aplikaci ve fázi klíčení dochází k podpoře tvorby biomasy a při aplikaci na již vyklíčenou rostlinu dochází k podpoře kořenového systému.

Stručně řečeno, tato studie prokázala prospěšné účinky bílkovinných hydrolyzátů na růstové parametry řeřichy seté, rajčete tyčkového, okurky nakladačky, papriky a ječmene setého. Ze získaných výsledků se ukazuje, dle očekávání, že obsah dusíku v testovaných hydrolyzátech je rozhodující. Je však nezbytné provést ještě řadu testů, abychom mohli bezpečně konstatovat, že kolagenový a keratinový hydrolyzát má biostimulační účinek, což bylo prokázáno už v několika doposud publikovaných studiích. Závěrem mohu tedy konstatovat, že proteinové hydrolyzáty se jeví jako perspektivní pomocné rostlinné přípravky, které by se mohly používat v rámci inovativních pěstitelských technologií. V zemědělství by doplnily nebo částečně nahradily tradiční hnojiva.

Závěrem by chtěla ještě ukázat, prostřednictvím fotografie, jak se daří ječmenu setému po ukončení experimentu. Byl proveden zkušební test, kde se opět aplikovali testované hydrolyzáty po vzklíčení a po 30 dnech byly rostliny zasazené do půdy na zahrádce. Rozdíl mezi rostlinami je viditelný.



Obrázek 33: Ječmen setý ošetřený testovanými hydrolyzáty po 30 dnech, zleva 2x keratinový hydrolyzát, 2x kolagenový hydrolyzát, 2x kontrolní vzorek. [Brezinová, 2020]

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

podle použité citační normy

Abd El-Baky, HH, Hussein, MM a El-Baroty, GS (2008). Výtažky z řas zlepšují antioxidační obranné schopnosti a snášenlivost pšeničných rostlin zavlažovaných mořskou vodou. AFR. J. Biochem. Res. 7, 151–164. Dostupné z: <http://www.academicjournals.org/journal/AJBR/article-abstract/82070DD10085>

AFREEN, F., S. M. A. ZOBAYED a T. KOZAI. Melatonin in Glycyrrhiza uralensis: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. Journal of Pineal Research [online]. 2006, 41(2), 108-115 [cit. 2020-04-26]. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2006.00337.x. ISSN 0742-3098. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-079X.2006.00337.x>

AFTAB, Tariq, M. Masroor A. KHAN, Mohd IDREES, M. NAEEM, Minu SINGH a Mauji RAM. Stimulation of crop productivity, photosynthesis and artemisinin production in Artemisia annua L. by triacontanol and gibberellic acid application. Journal of Plant Interactions [online]. 2010, 5(4), 273-281 [cit. 2020-03-22]. DOI: 10.1080/17429141003647137. ISSN 1742-9145. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429141003647137>

ARNAO, Marino B. a Josefa HERNÁNDEZ-RUIZ. Melatonin as a Chemical Substance or as Phytomelatonin Rich-Extracts for Use as Plant Protector and/or Biostimulant in Accordance with EC Legislation. Agronomy [online]. 2019, 9(10) [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.3390/agronomy9100570. ISSN 2073-4395. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4395/9/10/570>

ARTHUR, Georgina D. a kol. Účinky koncentráту mořských řas na podporu růstu při různých podmínkách pH a tvrdosti vody. S. Afr. j. sci. [Online]. 2013, zv. 109, č. 11-12 [citované 2020-04-11], s. 1-6. Dostupné z: http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0038-23532013000600011

BAGLIERI, Andrea, Valeria CADILI, Chiara MOZZETTI MONTERUMICI, Mara GENNARI, Silvia TABASSO, Enzo MONTONERI, Serenella NARDI a Michèle NEGRE. Fertilization of bean plants with tomato plants hydrolysates. Effect on biomass production, chlorophyll content and N assimilation. Scientia Horticulturae [online]. 2014, 176, 194-199

[cit. 2019-12-08]. DOI: 10.1016/j.scienta.2014.07.002. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423814003756>

BULGARI, R., G. COCETTA, A. TRIVELLINI, P. VERNIERI a A. FERRANTE. Biostimulants and crop responses: a review. *Biological Agriculture & Horticulture* [online]. 2014, 31(1), 1-17 [cit. 2019-12-09]. DOI: 10.1080/01448765.2014.964649. ISSN 0144-8765. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01448765.2014.964649>

COLLA, Giuseppe, Serenella NARDI, Mariateresa CARDARELLI, Andrea ERTANI, Luigi LUCINI, Renaud CANAGUIER a Youssef ROUPHAEL. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae* [online]. 2015, 196, 28-38 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.037. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301564>

COLLA, Giuseppe, Youssef ROUPHAEL, Renaud CANAGUIER, Eva SVECOVA a Mariateresa CARDARELLI. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2014, 5 [cit. 2019-12-09]. DOI: 10.3389/fpls.2014.00448. ISSN 1664462X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00448/abstract>

CORTE, Laura, Maria Teresa DELL'ABATE, Alessandro MAGINI, et al. Assessment of safety and efficiency of nitrogen organic fertilizers from animal-based protein hydrolysates- a laboratory multidisciplinary approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2014, 94(2), 235-245 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1002/jsfa.6239. ISSN 00225142. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.6239>

ČSN EN 16086-2. *Pomocné půdní látky a substráty – Stanovení odezvy rostlin*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2011.

ČSN EN ISO 11269-1. *Kvalita půdy – Stanovení účinků znečišťujících látek na půdní flóru – Metoda měření inhibice růstu kořene*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012.

DU JARDIN, Patrick. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* [online]. 2015, 196, 3-14 [cit. 2020-04-25]. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.021. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423815301850>

ESITKEN, Ahmet, Hilal E. YILDIZ, Sezai ERCISLI, M. FIGEN DONMEZ, Metin TURAN a Adem GUNES. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae* [online]. 2010, 124(1), 62-66 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.12.012. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423809005299>

Eva Baldassarre Švecová, Libor Mrnka, Christoph Schmidt, Tomáš Frantík, Jiří Hanika, Olga Šolcová, Miroslav Vosátka, Botanický ústav AV ČR, Ústav chemických procesů AV ČR. *Biostimulanty rostlin, Výzkum biostimulantů rostlin a jejich vlivu na symbiotické mikroorganismy* [online]. 2018. [cit. 2020-03-10] Dostupné z: <https://www.ibot.cas.cz/cs/biostimulanty-rostlin/>

GOMEZ-ROLDAN, Victoria, Soraya FERMAS, Philip B. BREWER, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* [online]. 2008, 455(7210), 189-194 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1038/nature07271. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature07271>

GONZÁLEZ, Alberto, Jorge CASTRO, Jeannette VERA a Alejandra MOENNE. Seaweed Oligosaccharides Stimulate Plant Growth by Enhancing Carbon and Nitrogen Assimilation, Basal Metabolism, and Cell Division. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. 2013, 32(2), 443-448 [cit. 2019-12-08]. DOI: 10.1007/s00344-012-9309-1. ISSN 0721-7595. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00344-012-9309-1>

https://www.researchgate.net/profile/Barbara_Frszczak2/publication/228438540_The_effect_of_animal_protein_hydrolysate_on_quantity_and_quality_of_strawberry_daughter_plants_cv_'Elsanta'/links/00b7d52257b4dcda46000000/The-effect-of-animal-protein-hydrolysate-on-quantity-and-quality-of-strawberry-daughter-plants-cv-Elsanta.pdf

HUSKOVA, R., et al. Voltammetric behaviour and determination of some cytokinines on mercury electrode. *Chemické listy*, 2000, 94.11. dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2471>

Ing. Adam Nawrath, Ph.D., Ing. Petra Hašková. *Specifika zakládání porostu řepky v letošním roce*, 2015. *Agromanual.cz* [29.04.2020] dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/vyziva-a-stimulace/stimulace/specifika-zakladani-porostu-repky-v-letosnim-roce>

Jiří Hanika. Ústav chemických procesů AV ČR, v. v. i., Praha, Workshop o potravinové budoucnosti, *Máte rádi kuřata?* 2018 [online] [cit. 2020-04-05] Dostupné z: https://www.potravinav21.cz/data/files/158/158_390_AV21-Potravinova-budoucnost-HanikaA.pdf

KHAN, Wajahatullah, Usha P. RAYIRATH, Sowmyalakshmi SUBRAMANIAN, et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. 2009, 28(4), 386-399 [cit. 2020-04-28]. DOI: 10.1007/s00344-009-9103-x. ISSN 0721-7595. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00344-009-9103-x>

KHAN, Zeba H., M. Masroor A. KHAN, Tariq AFTAB, M. IDREES a M. NAEEM. Influence of alginate oligosaccharides on growth, yield and alkaloid production of opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Frontiers of Agriculture in China* [online]. 2011, 5(1), 122-127 [cit. 2019-12-08]. DOI: 10.1007/s11703-010-1056-0. ISSN 1673-7334. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11703-010-1056-0>

KOPRNA, Radoslav; PLACHKÁ, Eva; HÁJKOVÁ, Miroslava. 2017. [online]. VLIV STIMULAČNÍCH PŘÍPRAVKŮ ŘADY TS NA RŮST A VÝNOS ŘEPKY V LETECH 2016 A 2017. [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: <http://konference.agrobiologie.cz/>

KRISHNA, Priti. Brassinosteroid-Mediated Stress Responses. *Journal of Plant Growth Regulation* [online]. 2003, 22(4), 289-297 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1007/s00344-003-0058-z. ISSN 0721-7595. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00344-003-0058-z>

KUNKEL, Barbara N a Christopher P HARPER. The roles of auxin during interactions between bacterial plant pathogens and their hosts. *Journal of Experimental Botany* [online]. 2018, 69(2), 245-254 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1093/jxb/erx447. ISSN 0022-0957. Dostupné z: <http://academic.oup.com/jxb/article/69/2/245/4763665>

Kutina, Josef, *Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví*, Ilustroval Otakar Procházka. Praha: SZN, 1988. 414 str.

Lisiecka, J., Knaflewski, M., Spizewski, T., Fraszczak, B., Kaluzewicz, A., & Krzesinski, W. (2011). The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv. 'Elsanta'. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 10, 31-40.

LOPES, Higino Marcos a Cleiton Mateus SOUZA. Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de sementes de mamão

(Carica papaya L.). Revista Brasileira de Sementes [online]. 2008, 30(1), 181-189 [cit. 2020-03-21]. DOI: 10.1590/S0101-31222008000100023. ISSN 0101-3122. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222008000100023&lng=pt&tlng=pt

Marcela Dvořáková., & Vaněk, T. (2015). Strigolaktony–struktura a funkce v rostlinách. Chemické listy, 109(10), 762-769. dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_10_762-769.pdf

Marcela Vetchá, Uplatnění extraktů řas a sinic v polních kulturách. Lednice, 2013. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta v Lednici, Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Robert Pokluda, Ph. D.

MARTINS, Maria Bernadete Gonçalves a Paulo Roberto de Camargo e CASTRO. Efeitos de giberelina e ethephon na anatomia de plantas de cana-de-açúcar. Pesquisa Agropecuária Brasileira [online]. 1999, 34(10), 1855-1863 [cit. 2020-03-21]. DOI: 10.1590/S0100-204X1999001000012. ISSN 0100204X. Dostupné z: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X1999001000012&lng=pt&tlng=pt

MEDVEĐOVÁ, Zuzana. *Interakcia auxínov a cytokinínov v apikálnej dominancii*. Brno: Mendelova univerzita v Brně Agronomická fakulta CEITEC MENDELU 2016. Dizertační práce. Školitel: prof. Ing. Stanislav Procházka, DrSc. Dostupné z: https://theses.cz/id/d10few/zaverecna_prace.pdf

MOKREJŠ, Pavel, et al. Optimalizace podmínek enzymové hydrolyzy kuřecího peří. Chemické listy, 2013, 107.9: 709-712. (2013), On-line získáno: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/615/615>

NIKHIL KHADILKAR, Communal news, *Regulátory rastu rastlín Rastúceho trhu* [online]. March 19,20 [cit. 2020-03-21] Dostupné z: <https://communalnews.com/sk/regul%C3%A1tory-rastu-rastl%C3%ADn-rast%C3%BAce-na-trhu/>

PATHWAYZ, *Plant Hormones*, [online]. © 2020 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: <https://www.pathwayz.org/Tree/Plain/336>

Pavel Mokrejš, Svatopluk Sukop a Ondřej Krejčí, Charakterizace keratinových hydrolyzátů připravených z kuřecího peří, Chem. Listy 108, s26–s31 (2014), On-line získáno: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_s1_s26-s31.pdf

Peter Jakšík, Uplatnění síry ve výživě zeleniny. Brno, 2006. Bakalářská práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Vedoucí bakalářské práce Ing. Tomáš Lošák, Ph. D

RAI, Sudhir K a Ashis Kumar MUKHERJEE. Optimization for production of liquid nitrogen fertilizer from the degradation of chicken feather by iron-oxide (Fe₃O₄) magnetic nanoparticles coupled β-keratinase. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology [online]. 2015, 4(4), 632-644 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1016/j.bcab.2015.07.002. ISSN 18788181. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1878818115000833>

RENGASAMY, Kannan R. R., Manoj G. KULKARNI, Wendy A. STIRK a Johannes VAN STADEN. Eckol – a new plant growth stimulant from the brown seaweed *Ecklonia maxima*. Journal of Applied Phycology (online). 2015, 27(1), 581-587 (cit. 2019-12-07). DOI: 10.1007/s10811-014-0337-z. ISSN 0921-8971. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10811-014-0337-z>

RUYTER-SPIRA, Carolien, Salim AL-BABILI, Sander VAN DER KROL a Harro BOUWMEESTER. The biology of strigolactones. Trends in Plant Science [online]. 2013, 18(2), 72-83 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.10.003. ISSN 13601385. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1360138512002300>

SALAČOVÁ, LINDA; FALTUSOVÁ, ZUZANA; OVESNÁ, J. Jaké mechanismy využívají rostliny pro obranu proti houbovým patogenům. Chemické listy, 2015, 109.8: 613-618.

Spitzer T., Bílovský J. (2017): Management of poppy (*Papaver somniferum* L.) stand height using growth regulators. Plant Protect. Sci., 53: 55–60. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/204201.pdf>

ŠISKA, Bernard; IGAZ, Dušan. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra biometeorológie a hydrológie. [online]. [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: <http://www.cbks.cz/sbornikRackova03/sections/5/Siska-Igaz.pdf>

UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE, Prírodovedecká fakulta, *Rast a vývin rastlín, Fytohormony korelacie a regeneracie* [online]. [Aktualizované: 09.05.2016] © UK 2020 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: https://fns.uniba.sk/uploads/media/6_fytohormony_korelacie_a_regeneracie.pdf

URBAN, Jaroslav; PULKRÁBEK, Josef. 2018. [online]. Navýšení výnosu a jakosti cukrové řepy pomocí listové výživy a biologicky aktivních látek. *Listy Cukrovarnické a Reparské*, 2018, 134. [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: <http://www.cukr-listy.cz/online/2018/PDF/188-194.pdf>

VERPLANCKEN Barbora. Výhody biostimulantů. *Biostimulanty Definice* [online]. 5. 10. 2011 [cit. 2020-04-07]. Dostupné z: <http://www.biostimulants.eu/2011/10/biostimulants-definition-agreed/>

VERPLANCKEN Barbora. Výhody biostimulantů. *Znalosti a inovace* [online]. 5. 10. 2011 [cit. 2020-04-07]. Dostupné z: <http://www.biostimulants.eu/benefits-of-biostimulants/knowledge-innovation/>

WANG, Kevin L.-C., Hai LI a Joseph R. ECKER. Ethylene Biosynthesis and Signaling Networks. *The Plant Cell* [online]. 2002, 14(suppl 1), S131-S151 [cit. 2020-04-04]. DOI: 10.1105/tpc.001768. ISSN 1040-4651. Dostupné z: <http://www.plantcell.org/lookup/doi/10.1105/tpc.001768>

XU, Shuangfeng, Xin LI, Yaling WANG, Zaiyin HU a Ru WANG. Characterization of slow-release collagen- g -poly(acrylic acid- co -2-acrylamido-2-methyl-1-propane sulfonic acid)-iron(III) superabsorbent polymer containing fertilizer. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2019, 136(11) [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1002/app.47178. ISSN 00218995. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.47178>

YAKHIN, Oleg I., Aleksandr A. LUBYANOV, Ildus A. YAKHIN a Patrick H. BROWN. Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2017, 7 [cit. 2019-12-07]. DOI: 10.3389/fpls.2016.02049. ISSN 1664 - 462X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2016.02049/full>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ABA	kyselina abscisová
AMF	mykorhizné houby
BBCH	(biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) označení mezinárodně používané stupnici vývojových a růstových stádií rostlin
BR	brassinosteroidy
CCC	chlormequat chloridu
CFU	jednotka tvořící kolonie (ml)
DMAPP	dimetylallyl difosfát
GA	gybereliny
GA3	kyselina gibberelová
GGPP	geranyl geranylpyrofosfát
HCP	hormony
HMBPP	1-hydroxy-2metyl- (E) -butenyl-4difosfát
HS	humínové látky
HSG	granule tepelného šoku (heat-shock granule)
IAA	kyselina indolyl-3octová
IPP	izo-pentenylpyrofosfát
MEP	metyl-D-erythrytol-4fosfát
MVA	kyselina mevalonová
NA	živný agar
NB	živný agar s obsahem 15 % glycerolu
NPK	průmyslová minerální hnojiva
PGPB	bakterie podporující růst rostlin
PGR	regulátory růstu (plant growth regulator)

PH	bílkovinový hydrolyzát (Protein hydrolysate)
PM	Petriho miska
RNA	ribonukleová kyselina
SL	strigolaktony
SWC	látky extrahované z mořských řas (Seaweed concentrates)
TIBA	2,3,5-triiodobenzoic acid
UV	ultrafialové záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1</i> Přehled základních rostlinných regulátorů růstu z kategorie fytohormonů [PATHWAYZ, 2020]	16
<i>Obrázek 2:</i> Biosyntetická dráha giberelinu a artemisininu. DMAPP, dimethylallylpyrofosfát; FPP, farnezylypyrofosfát; GGPP, geranyl geranylpyrofosfát; GPP, geranylpyrofosfát; HMBPP, 1-hydroxy-2metyl- (E) -butenyl-4difosfát; IPP, izo-pentenylpyrofosfát; MEP, metyl-D-erythrytol-4fosfát; MVA, kyselina mevalonová. [AFTAB, Tariqa kol., 2010]	22
<i>Obrázek 3.</i> Schéma zpracování kuřecího peří na keratinový hydrolyzát [Pavel Mokrejš a kol., 2014]	38
<i>Obrázek 4.</i> Schéma přípravy želatin/hydrolyzátů z kuřecích běháků [Pavel Mokrejš a kol., 2019]	40
<i>Obrázek 5:</i> Příprava testu klíčivosti na Periho miskách řeřichy seté (<i>Lepidium sativum</i>) na keratinovém hydrolyzátu. [Brezinová, 2020]	52
<i>Obrázek 6:</i> Příprava testu klíčivosti na Periho miskách řeřichy seté (<i>Lepidium sativum</i>) na kolagenovém hydrolyzátu a kontrolní vzorek. [Brezinová, 2020]	53
<i>Obrázek 7:</i> Příprava testu klíčivosti na Periho miskách papriky (<i>Capsicum annuum</i>) na kolagenovém hydrolyzátu. [Brezinová, 2020]	53
<i>Obrázek 8:</i> Příprava testu inhibice růstu kořene ječmene setého (<i>Hordeum vulgare</i> L.). [Brezinová, 2020]	58
<i>Obrázek 9:</i> Vykličaná semena po 10 dnech. [Brezinová, 2020]	58
<i>Obrázek 10:</i> Vykličaná semena v den ukončení experimentu. Z aplikace perlitu na povrch půdy se upustilo, z důvodu následné obtížnosti kontroly vlhkosti v nádobě. [Brezinová, 2020]	59
<i>Obrázek 11:</i> Měření délky kořenů po 14 dnech, kolagenový hydrolyzát (vlevo), keratinový hydrolyzát (uprostřed), kontrolní vzorek – pitná převařená voda (vpravo). [Brezinová, 2020]	60
<i>Obrázek 12:</i> Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene řeřichy seté pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.	63
<i>Obrázek 13:</i> Hodnoty délky kořenů u rostlin řeřichy seté ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.	64
<i>Obrázek 14:</i> Hodnoty délky kořenů u rostlin řeřichy seté ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.	65
<i>Obrázek 15:</i> Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene rajčete tyčkového pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.	70
<i>Obrázek 16:</i> Hodnoty délky kořenů u rostlin rajčete tyčkového ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.	71
<i>Obrázek 17:</i> Hodnoty délky kořenů u rostlin rajčete tyčkového ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostřednictvím Box-Plotu.	71
<i>Obrázek 18:</i> Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene papriky pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.	76

<i>Obrázek 19: Hodnoty délky kořenů u rostlin papriky ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostředním Box-Plotu.</i>	<i>77</i>
<i>Obrázek 20: Hodnoty délky kořenů u rostlin papriky ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostředním Box-Plotu.</i>	<i>77</i>
<i>Obrázek 21: Namořená semena okurky nakladačky (Cucumis sativus).....</i>	<i>81</i>
<i>Obrázek 22: Porovnání účinnosti bílkovinných hydrolyzátů na délku kořene okurky nakladačky(nemořené) pro koncentrace 100 až 600 mg/l s kontrolním vzorkem.....</i>	<i>82</i>
<i>Obrázek 23: Fotografie – porovnání délky kořene okurky nakladačky (nemořené) při aplikaci optimální koncentrace keratinového a kolagenového hydrolyzátu.</i>	<i>83</i>
<i>Obrázek 24: Hodnoty délky kořenů u rostlin okurky nakladačky ošetřených keratinovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostředním Box-Plotu.....</i>	<i>84</i>
<i>Obrázek 25: Hodnoty délky kořenů u rostlin okurky nakladačky ošetřených kolagenovým hydrolyzátem zpracovány a zobrazeny prostředním Box-Plotu.....</i>	<i>84</i>
<i>Obrázek 26: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr ± směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Řeřicha setá</i>	<i>89</i>
<i>Obrázek 27: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr ± směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Rajče tyčkové</i>	<i>89</i>
<i>Obrázek 28: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr ± směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Paprika.....</i>	<i>90</i>
<i>Obrázek 29: Grafické znázornění hodnot délky kořene (průměr ± směrodatná odchylka) při optimální koncentraci aplikovaného hydrolyzátu v porovnání s kontrolním vzorkem – Okurka nakladačka</i>	<i>91</i>
<i>Obrázek 30: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzátů hned po zasetí (vlevo), výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo)</i>	<i>92</i>
<i>Obrázek 31: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzátů 24 hod. po zasetí (vlevo), výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo).....</i>	<i>93</i>
<i>Obrázek 32: Grafické znázornění délky kořene a hmotnost biomasy ječmene setého po aplikaci hydrolyzátů po vyklíčení (vlevo) výsledky délky kořenů zpracované pomocí grafu Box-Plot (vpravo)</i>	<i>94</i>
<i>Obrázek 33: Ječmen setý ošetřený testovanými hydrolyzáty po 30 dnech, zleva 2x keratinový hydrolyzáte, 2 x kolagenový hydrolyzáte, 2x kontrolní vzorek. [Brezinová, 2020]</i>	<i>99</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Přehled bílkovinných hydrolyzátů použitých ve studii Lauri Corte a kolektivu získaných zpracováním vedlejších produktů z výroby kůře. [CORTE, Laura a kol., 2014]</i>	43
<i>Tabulka 2: Elementární analýza proteinových hydrolyzátů</i>	47
<i>Tabulka 3: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro řěřichu setou a okurku nakladačku</i>	49
<i>Tabulka 4: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro řěřichu setou a okurku nakladačku</i>	49
<i>Tabulka 5: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro řěřichu setů a okurku nakladačku prvního testu</i>	50
<i>Tabulka 6: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro řěřichu setou a okurku nakladačku druhého testu</i>	50
<i>Tabulka 7: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku</i>	50
<i>Tabulka 8: Příprava pracovního roztoku do 200 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku</i>	51
<i>Tabulka 9: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku prvního testu</i>	51
<i>Tabulka 10: Ředící řada pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky pro rajče tyčkové a papriku druhého testu</i>	51
<i>Tabulka 11: Příprava pracovního roztoku do 50 ml odměrné baňky</i>	57
<i>Tabulka 12: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řěřichy seté po ošetření keratinovým hydrolyzátem</i>	66
<i>Tabulka 13: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řěřichy seté po ošetření kolagenovým hydrolyzátem</i>	67
<i>Tabulka 14: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u řěřichy seté – kontrolní vzorek</i>	68
<i>Tabulka 15: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém po ošetření keratinovým hydrolyzátem</i>	72
<i>Tabulka 16: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém po ošetření kolagenovým hydrolyzátem</i>	73
<i>Tabulka 17: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u rajčeti tyčkovém – kontrolní vzorek</i>	74
<i>Tabulka 18: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky po ošetření keratinovým hydrolyzátem</i>	78
<i>Tabulka 19: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky po ošetření kolagenovým hydrolyzátem</i>	79
<i>Tabulka 20: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u papriky – kontrolní vzorek</i>	80
<i>Tabulka 21: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky po ošetření keratinovým hydrolyzátem</i>	85

<i>Tabulka 22: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky po ošetření kolagenovým hydrolyzátem.</i>	<i>86</i>
<i>Tabulka 23: Naměřené hodnoty a výsledky testu klíčivosti u okurky nakladačky – kontrolní vzorek</i>	<i>87</i>
<i>Tabulka 24: Optimální koncentrace testovaných bílkovinných hydrolyzátů.</i>	<i>88</i>
<i>Tabulka 25: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – hned po zasetí</i>	<i>95</i>
<i>Tabulka 26: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – 24 hodin po zasetí</i>	<i>96</i>
<i>Tabulka 27: Výsledky měření délky kořenů a hmotnost biomasy po aplikaci hydrolyzátů – po vyklíčení.</i>	<i>97</i>

